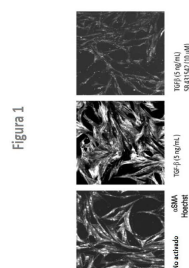


DIRECCIÓN DE NUEVAS CREACIONES

SOLICITUD FASE NACIONAL - PCT



1	Título de la Invención (200 caracteres o espacios máximos)		
INHIBIDORES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS DE FIBROSIS			
2	Datos del Solicitante / Titular		
Nombre:	THE CALIFORNIA INSTITUTE FOR BIOMEDICAL RESEARCH	Dirección Electrónica:	notificaciones@clarkemodet.com.co
Dirección:	11119 North Torrey Pines Road Suite 100,	Domicilio/País de constitución:	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA - CALIFORNIA - LA JOLLA
Identificación:			
☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☒ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE		☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT	

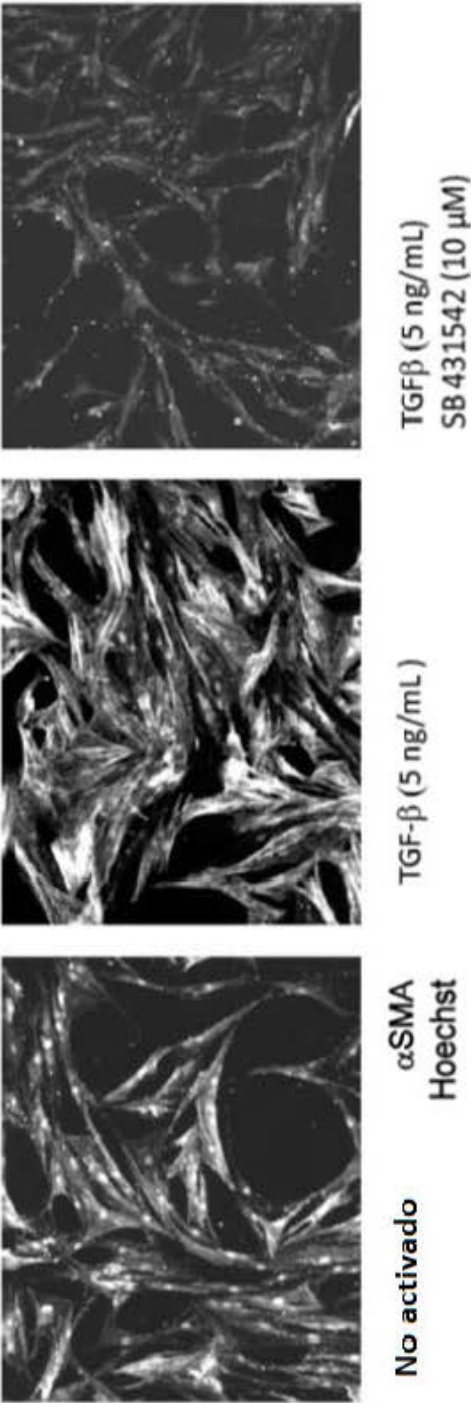
Número:1038880-																					
3	Solicitantes																				
<table><tr><td colspan="2">Apellidos - Nombres o Razón Social</td><td>Tipo</td><td>Identificación</td></tr><tr><td>1.</td><td>THE CALIFORNIA INSTITUTE FOR BIOMEDICAL RESEARCH</td><td>NN</td><td>1038880</td></tr><tr><td>2.</td><td>THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE</td><td>NN</td><td>1038881</td></tr></table>				Apellidos - Nombres o Razón Social		Tipo	Identificación	1.	THE CALIFORNIA INSTITUTE FOR BIOMEDICAL RESEARCH	NN	1038880	2.	THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE	NN	1038881						
Apellidos - Nombres o Razón Social		Tipo	Identificación																		
1.	THE CALIFORNIA INSTITUTE FOR BIOMEDICAL RESEARCH	NN	1038880																		
2.	THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE	NN	1038881																		
4	Datos del Inventor																				
Nombre:		Luke LAIRSON,	Dirección Electrónica: notificaciones@clarkemodet.com.co																		
Dirección:		8012 El Paseo Grande,	Domicilio/País de constitución: ESTADOS UNIDOS DE AMERICA - CALIFORNIA - LA JOLLA																		
Identificación: ☐ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ PASAPORTE ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ NIT ☒ No Aplica Número:-																					
5	Inventor(es)																				
<table><tr><td colspan="2">Apellidos - Nombres</td><td>Domicilio</td></tr><tr><td>1.</td><td>LAIRSON, Luke</td><td>ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>2.</td><td>BOLLONG, Michael</td><td>ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>3.</td><td>SCHULTZ, Peter, G.</td><td>ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>4.</td><td>CHATTERJEE, Arnab, K.</td><td>ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr><tr><td>5.</td><td>YANG, Baiyuan</td><td>ESTADOS UNIDOS DE AMERICA</td></tr></table>				Apellidos - Nombres		Domicilio	1.	LAIRSON, Luke	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	2.	BOLLONG, Michael	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	3.	SCHULTZ, Peter, G.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	4.	CHATTERJEE, Arnab, K.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	5.	YANG, Baiyuan	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA
Apellidos - Nombres		Domicilio																			
1.	LAIRSON, Luke	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																			
2.	BOLLONG, Michael	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																			
3.	SCHULTZ, Peter, G.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																			
4.	CHATTERJEE, Arnab, K.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																			
5.	YANG, Baiyuan	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA																			

6.	KUMAR, Puneet	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA		
7.	URKALAN, Kaveri	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA		
6	Datos Inventor(es)			
	País de Residencia	Departamento/Estado	Ciudad	Dirección
1.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	CALIFORNIA	LA JOLLA	8012 El Paseo Grande,
2.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	CALIFORNIA	SAN DIEGO	3106 1st Avenue,
3.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	CALIFORNIA	LA JOLLA	1650 La Jolla Rancho Road,
4.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	CALIFORNIA	SAN DIEGO	13268 Torrey Crest Court,
5.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	CALIFORNIA	SAN DIEGO	8705 Rideabout Lane,
6.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	NEW JERSEY	WOODBIDGE	141 F Beverly Hill Terrace,
7.	ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	CALIFORNIA	SAN DIEGO	9155 Judicial Drive, Apt. #5322,
7	Datos del Representante Legal / Apoderado			
	Nombre:	CAROLINA MERCEDES DAZA MONTALVO	Dirección Electrónica:	notificaciones@clarkemodet.com.co
	Dirección:	CARRERA 11 NO. 86-53, PISO 6	Domicilio/País de constitución:	COLOMBIA - BOGOTA D.C. - BOGOTA D.C.

Identificación: ☒ CEDULA DE CIUDADANIA ☐ CEDULA DE EXTRANJERIA ☐ EMPRESA EXTRANJERA ☐ NIT ☐ PASAPORTE			
Número:		66783790-	
Presentación de Poder			
Año de Radicación			
Número de Radicación			
8	Datos Solicitud: PCT / WO		
Número Solicitud:		PCT/US2014/041174	Fecha Solicitud:
			05/06/2014
Número Publicacion:		WO 2014/197738	Fecha Publicacion:
			11/12/2014
9	Declaraciones de prioridad		☒ SI ☐ NO
1.	(33) País de origen ESTADOS UNIDOS DE AMERICA	Codigo del país US	(31) No. Solicitud 61/832,768
			(32) Fecha 07/06/2013
10	Reivindicaciones		
Número reivindicaciones:		74	Pago Reivindicaciones:
			Si
11	Reducción de tasas.		
Declaro que carezco de medios económicos para presentar la solicitud de patente. ☐ SI ☒ NO Nota: En caso de ser persona natural y carecer de medios económicos, y por lo tanto, aplique la reducción de tasas a que se refiere la resolución vigente en tarifas, debe firmar la presente solicitud bajo la gravedad de juramento.			
☐ Micro, pequeñas y medianas empresas ☐ Universidades públicas o privadas ☐ Entidades sin ánimo de lucro Debe aportar los documentos que se indican en el numeral 17 de anexos			
12	Documentos Anexos		
☒ Reivindicaciones ☒ Descripción ☒ Dibujos y/o Figuras ☒ Resumen			

- ☐ Certificado Depósito Material Biológico
- ☐ Uso de Conocimiento tradicional
- ☐ Listado de secuencias
- ☒ Artes finales 12 x 12 cm
- ☐ Poderes, si fuere el caso
- ☐ Copia de la primera solicitud si se reivindica prioridad
- ☐ Traducción simple de la primera solicitud, si se reivindica prioridad
- ☒ Otros Anexos

Figura 1



INHIBIDORES DE MOLÉCULAS PEQUEÑAS DE FIBROSIS

Referencia cruzada a solicitudes relacionadas

Esta solicitud reivindica el beneficio de la solicitud de Patente de los Estados Unidos No. 61/832.768, presentada el 7 de junio de 2013, la cual se incorpora aquí como referencia en su totalidad.

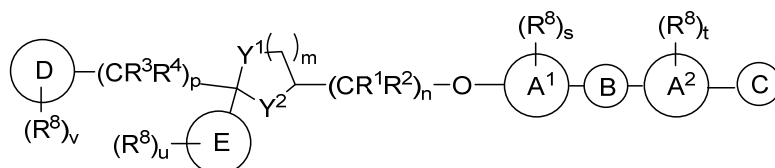
Antecedentes de la invención

La fibrosis, definida en general como la producción de cantidades excesivas de tejido conectivo, se desarrolla como consecuencia de diversas enfermedades subyacentes. La inflamación crónica o daño/remodelación de tejidos son eventos típicos que inducen fibrosis. Ejemplos de enfermedades específicas incluyen fibrosis pulmonar idiopática (IPF), fibrosis del hígado asociada con las etapas finales de cirrosis de hígado alcohólica y no alcohólica, fibrosis de riñón, fibrosis cardíaca, y formación de queloides resultante de curación anormal de heridas [Wynn, T. A. (2004) Nature Reviews Immunology. 4: 583-594; Friedman, S.L. (2013) Science Translation Medicine. 5(167):1-17]. Adicionalmente, la fibrosis es una característica patológica clave asociada con enfermedades autoinmunes crónicas, incluyendo artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, lupus eritematoso sistémico y escleroderma. Las enfermedades que representan una necesidad médica no satisfecha incluyen fibrosis pulmonar idiopática (IPF), escleroderma y fibrosis de hígado relacionada con esteatohepatitis no alcohólica (NASH). La incidencia incrementada de fibrosis de hígado relacionada con NASH se espera que sea directamente paralela a las de diabetes tipo 2 y obesidad.

La escleroderma es una enfermedad autoinmune crónica rara caracterizada por el reemplazo de tejido normal con tejido fibroso denso grueso. Mientras que la causa subyacente exacta de la escleroderma es desconocida, la enfermedad en general involucra activación mediada por células inmunes de miofibroblastos dérmicos que llevan a la deposición de cantidades excesivas de proteínas de matriz extracelular (por ejemplo, colágeno tipo I) lo que causa un engrosamiento de la piel y en algunos casos el endurecimiento y eventual fallo de múltiples órganos. En el presente, no hay cura para la escleroderma. El tratamiento está limitado a intentos para manejar los síntomas y típicamente requiere una combinación de metodologías. Mientras que la escleroderma localizada en la piel típicamente no es una amenaza para la vida, la escleroderma sistémica que afecta órganos internos múltiples puede ser una enfermedad que amenaza la vida.

Resumen de la invención

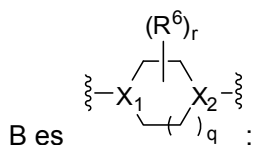
En un aspecto, se provee aquí un método para tratar fibrosis, un trastorno caracterizado por fibrosis, o una enfermedad caracterizada por fibrosis, comprendiendo el método administrar una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I), una sal, solvato, polimorfo, profármaco, metabolito, N-óxido, estereoisómero o isómero farmacéuticamente aceptable del mismo:



Fórmula (I)

en donde:

A¹ y A² son seleccionados independientemente de arilo o heteroarilo;



5

C es heterociclilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido, en donde el heterociclilo o el heteroarilo contiene 1 a 4 átomos de nitrógeno;

D es arilo o heteroarilo;

10 E es arilo, heteroarilo, carbociclilo, heterociclilo, o alquilo;

cada R¹, R², R³, y R⁴ es seleccionado independientemente de H, alquilo, haloalquilo, o alcoxi;

X₁ y X₂ son seleccionados independientemente de N y CR⁵;

R⁵ es H, OH, alquilo, o alcoxi;

15 cada R⁶ es independientemente alquilo, haloalquilo, halo, alcoxi, -alquilen(NR¹³R¹⁴), o arilo;

20 cada R⁸ es seleccionado independientemente de alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, halo, hidroxilo, nitrilo, azido, nitro, alcoxi, haloalcoxi, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), -alquilen(cicloalquil), -alquilen(heterociclil), arilo, heteroarilo, -SR¹³, -SOR¹³, -SO₂R¹³, -SO₂NR¹³R¹⁴, -NR¹³R¹⁴, -NR¹³SO₂R¹⁴, -NR¹³C(O)R¹⁴, -NR¹³C(O)OR¹⁴, -NR¹³C(O)NR¹³R¹⁴, -C(O)R¹⁴, -C(O)OR¹⁴, y -C(O)NR¹³R¹⁴; o dos R⁸ adyacentes forman un anillo heterociclilo;

25 cada R¹³ y R¹⁴ es seleccionado independientemente de H, alquilo, cicloalquilo, heterociclilalquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, arilo, y heteroarilo; o R¹³ y R¹⁴ tomados juntos forman un heterociclo con los átomos a los cuales están unidos;

Y¹ y Y² son seleccionados independientemente de O, CH₂, NH, y NR¹³;

n es 1, 2, o 3;

m es 1 o 2;

30 p es 1, 2, 3, o 4;

q es 1, 2, o 3;

r es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, o 8;

s es 0, 1, 2, 3, o 4;

t es 0, 1, 2, 3, o 4;

u es 0, 1, 2, 3, 4 o 5; y

v es 0, 1, 2, 3, o 4.

- 5 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), X_1 y X_2 are N

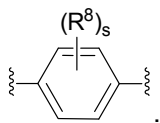
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), X_1 es CR^5 y X_2 es N.

- 10 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), X_1 es N y X_2 es CR^5 .

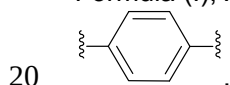
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), q es 1 y r es 0.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^1 es arilo.

- 15 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^1 es



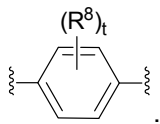
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^1 es



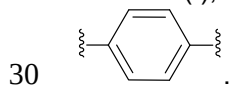
- 20 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^1 es heteroarilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^2 es arilo.

- 25 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^2 es



En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^2 es



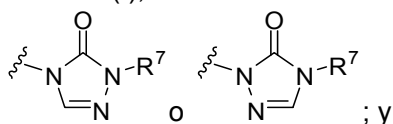
- 30 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^2 es heteroarilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A² es piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, o triazina.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), C es heteroarilo de 5 o miembros opcionalmente sustituido. En otras

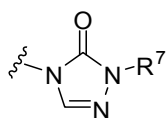
- 5 realizaciones descritas más arriba y más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), C es heterociclilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), C es



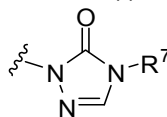
- 10 R⁷ es alquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), cicloalquilo, heterociclilo, -alquilen(cicloalquil), o -alquilen(heterocicilil).

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), C es



- 15 ; y R⁷ es alquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), cicloalquilo, heterociclilo, -alquilen(cicloalquil), o -alquilen(heterocicilil).

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), C es



- 20 ; y R⁷ es alquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), cicloalquilo, heterociclilo, -alquilen(cicloalquil), o -alquilen(heterocicilil).

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es alquilo.

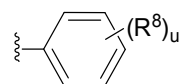
- 25 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es cicloalquilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es ciclopentilo, ciclobutilo, ciclohexilo, o ciclohexilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es heterociclilo.

- 30 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es arilo.

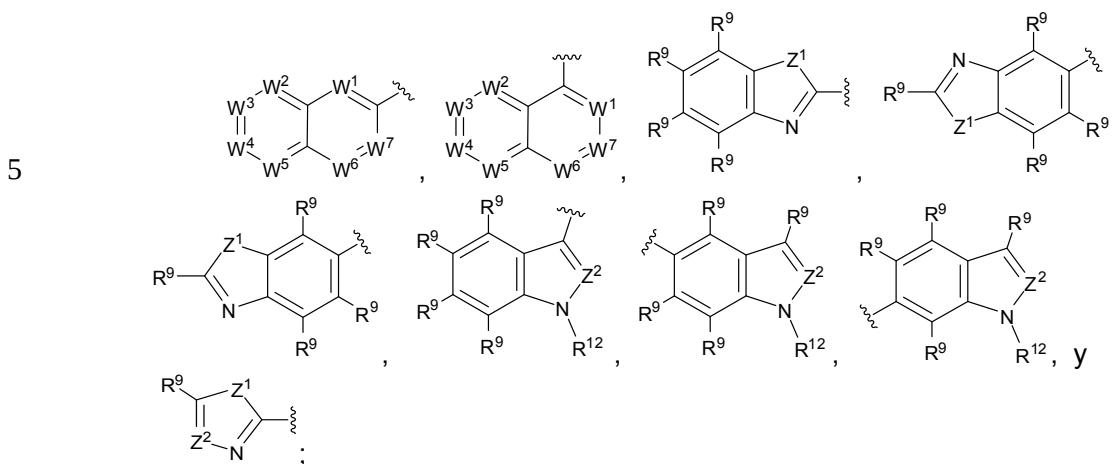
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es



y u es 0, 1, 2, 3, 4, o 5.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es heteroarilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E se selecciona de:



W¹, W², W³, W⁴, W⁵, W⁶, y W⁷ son seleccionados independientemente de N y CR⁹;

10 Z¹ es NR¹², S, o O;

Z² es N o CR⁹;

15 cada R⁹ es seleccionado independientemente de H, halógeno, CN, NO₂, alquilo, -SR¹⁰, -OR¹⁰, -NR¹⁰R¹¹, NR¹⁰C(O)(alquilo), -NR¹⁰C(O)(cicloalquilo), -NR¹⁰C(O)(heterocicloalquilo), -NR¹⁰C(O)(arilo), -NR¹⁰C(O)(heteroarilo), -C(O)NR¹⁰R¹¹, -C(O)NR¹⁰(cicloalquilo), -C(O)NR¹⁰(heterocicloalquilo), -C(O)NR¹⁰(arilo), -C(O)NR¹⁰(heteroarilo), -NR¹⁰C(O)NR¹⁰R¹¹, -NR¹⁰C(O)NR¹¹(cicloalquilo), -NR¹⁰C(O)NR¹¹(heterocicloalquilo), -NR¹⁰C(O)NR¹¹(arilo), -NR¹⁰C(O)NR¹¹(heteroarilo), -NR¹⁰C(O)O(alquilo), -NR¹⁰C(O)O(cicloalquilo), -NR¹⁰C(O)O(heterocicloalquilo), -NR¹⁰C(O)O(arilo), -NR¹⁰C(O)O(heteroarilo), -NR¹⁰SO₂(alquilo), -NR¹⁰SO₂(cicloalquilo), -NR¹⁰SO₂(heterocicloalquilo), -NR¹⁰SO₂(arilo), -NR¹⁰SO₂(heteroarilo), -SO₂NR¹⁰R¹¹, -SO₂NR¹⁰(cicloalquilo), -SO₂NR¹⁰(heterocicloalquilo), -SO₂NR¹⁰(arilo), -SO₂NR¹⁰(heteroarilo), haloalquilo, arilo, y heteroarilo;

20

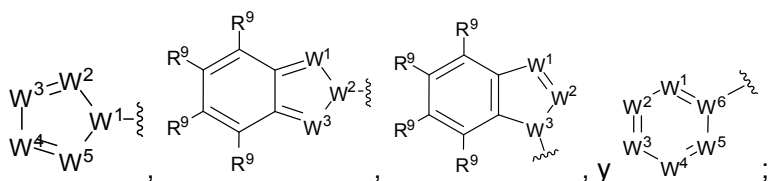
cada R¹⁰ y R¹¹ es seleccionado independientemente de H y alquilo; o R¹⁰ y R¹¹ tomados juntos forman un heterociclo con el nitrógeno al cual están unidos; y

R¹² es H, alquilo o haloalquilo.

25 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), D es arilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es heteroarilo.

30 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), D se selecciona de:

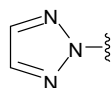


W^1, W^2, W^3, W^4 , y W^5 son seleccionados independientemente de N y CR^9 ;

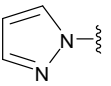
W^6 es N o C; y

- 5 cada R^9 es seleccionado independientemente de H, halógeno, CN, NO_2 , alquilo, $-SR^{10}$, $-OR^{10}$, $-NR^{10}R^{11}$, $NR^{10}C(O)(alquil)$, $-NR^{10}C(O)(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)(heterocicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)(aril)$, $-NR^{10}C(O)(heteroaril)$, $-C(O)NR^{10}R^{11}$, $-C(O)NR^{10}(cicloalquil)$, $-C(O)NR^{10}(heterocicloalquil)$, $-C(O)NR^{10}(aril)$, $-C(O)NR^{10}(heteroaril)$, $-NR^{10}C(O)NR^{10}R^{11}$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heterocicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(aril)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heteroaril)$, $-NR^{10}C(O)O(alquil)$, $-NR^{10}C(O)O(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)O(heterocicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)O(aril)$, $-NR^{10}C(O)O(heteroaril)$, $-NR^{10}SO_2(alquil)$, $-NR^{10}SO_2(cicloalquil)$, $-NR^{10}SO_2(heterocicloalquil)$, $-NR^{10}SO_2(aril)$, $-NR^{10}SO_2(heteroaril)$, $-SO_2NR^{10}R^{11}$, $-SO_2NR^{10}(cicloalquil)$, $-SO_2NR^{10}(heterocicloalquil)$, $-SO_2NR^{10}(aril)$, $-SO_2NR^{10}(heteroaril)$, haloalquilo, arilo, y heteroarilo.

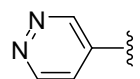
- 15 En ciertas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), D es



. En ciertas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), D es



- 20 la Fórmula (I), D es



En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), Y^1 y Y^2 son O.

- 25 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), m es 1.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), p es 1, 2, o 3.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), p es 1.

- 30 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), R^1, R^2, R^3 , y R^4 son hidrógeno.

Se provee aquí adicionalmente un método para tratar fibrosis utilizando un compuesto de fórmula (I) en donde la fibrosis es fibrosis de hígado, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis renal o fibrosis cardíaca.

Se provee aquí un método para tratar fibrosis de hígado utilizando un compuesto fórmula (I) en donde la fibrosis de hígado está asociada con la etapas finales de cirrosis de hígado alcohólica o no alcohólica.

5 Se provee aquí adicionalmente un método para tratar fibrosis utilizando un compuesto de fórmula (I) en donde la fibrosis es fibrosis pulmonar idiopática.

Se provee aquí adicionalmente un método para tratar una enfermedad utilizando un compuesto de fórmula (I) en donde la enfermedad o trastorno caracterizados por fibrosis es una enfermedad autoinmune crónica.

10 Se provee aquí adicionalmente un método para tratar una enfermedad autoinmune crónica utilizando un compuesto de fórmula (I) en donde la enfermedad autoinmune crónica es artritis reumatoide, escleroderma, enfermedad de Crohn o lupus eritematoso sistémico.

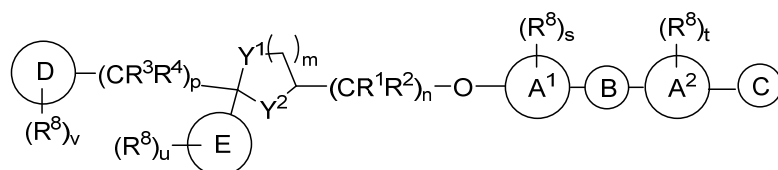
15 Se provee aquí adicionalmente un método para tratar una enfermedad autoinmune crónica utilizando un compuesto de fórmula (I) en donde la enfermedad autoinmune crónica es escleroderma.

Se provee aquí adicionalmente un método para tratar fibrosis utilizando un compuesto de fórmula (I) en donde la fibrosis es formación de queloide resultante de curación anormal de heridas.

20 Se provee aquí adicionalmente un método para tratar fibrosis usando un compuesto de fórmula (I) en donde la fibrosis ocurre después del trasplante de órganos.

25 También se provee aquí un método para tratar fibrosis, un trastorno caracterizado por fibrosis, o una enfermedad caracterizada por fibrosis, comprendiendo el método administrar una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto descrito aquí en combinación con uno o más agentes farmacéuticos. En ciertas realizaciones descritas más arriba, el uno o más agentes farmacéuticos son agentes antifibróticos. En ciertas realizaciones descritas más arriba, el uno o más agentes farmacéuticos son agentes antifúngicos.

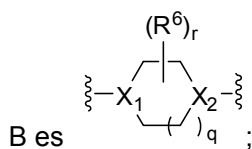
30 En otro aspecto, se proveen aquí compuestos de fórmula (I), una sal, solvato, polimorfo, profármaco, metabolito, N-óxido, estereoisómero o isómero del mismo farmacéuticamente aceptable:



Fórmula (II)

en donde:

A¹ y A² son seleccionados independientemente de arilo o heteroarilo;



C es heterociclilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido, en donde el heterociclilo o el heteroarilo contiene 1 a 4 átomos de nitrógeno;

D es arilo o heteroarilo;

E es arilo, heteroarilo, carbociclilo, heterociclilo, o alquilo;

cada R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 es seleccionado independientemente de H, alquilo, haloalquilo, o alcoxi;

10 X_1 y X_2 son seleccionados independientemente de N y CR^5 ;

R^5 es H, OH, alquilo, o alcoxi;

cada R^6 es independientemente alquilo, haloalquilo, halo, alcoxi, -alquilen($NR^{13}R^{14}$), o arilo;

15 R^7 es alquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen($NR^{13}R^{14}$), cicloalquilo, heterociclilo, -alquilen(cicloalquil), o -alquilen(heterocicilil);

20 cada R^8 es seleccionado independientemente de alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, halo, hidroxil, nitrilo, azido, nitro, alcoxi, haloalcoxi, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen($NR^{13}R^{14}$), -alquilen(cicloalquil), -alquilen(heterocicilil), arilo, heteroarilo, $-SR^{13}$, $-SOR^{13}$, $-SO_2R^{13}$, $-SO_2NR^{13}R^{14}$, $-NR^{13}R^{14}$, $-NR^{13}SO_2R^{14}$, $-NR^{13}C(O)R^{14}$, $-NR^{13}C(O)OR^{14}$, $-NR^{13}C(O)NR^{13}R^{14}$, $-C(O)R^{14}$, $-C(O)OR^{14}$, y $-C(O)NR^{13}R^{14}$; o dos R^8 adyacentes forman un anillo heterociclilo;

25 cada R^{13} y R^{14} es seleccionado independientemente de H, alquilo, cicloalquilo, heterocicilalquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, arilo, y heteroarilo; o R^{13} y R^{14} tomados juntos forman un heterociclo con los átomos a los cuales están unidos;

Y^1 y Y^2 son seleccionados independientemente de O, CH_2 , NH, y NR^{13} ;

n es 1, 2, o 3;

m es 1 o 2;

p es 1, 2, 3, o 4;

30 q es 1, 2, o 3;

r es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, o 8;

s es 0, 1, 2, 3, o 4;

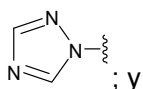
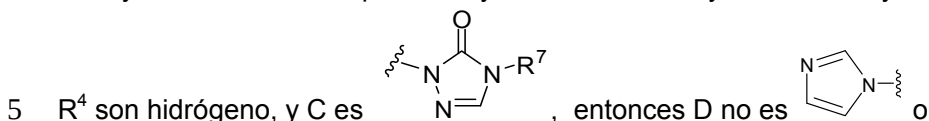
t es 0, 1, 2, 3, o 4;

u es 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

v es 0, 1, 2, 3, o 4;

con la condición de que:

si X_1 y X_2 son N, r es 0, q es 1, A^1 y A^2 son fenilo, Y^1 y Y^2 are O, m y n son 1, R^1 , R^2 , R^3 , y



el compuesto no es 4-(4-(4-(4-((1H-pirazol-1-il)metil)-2-(2,4-difluorofenil)-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)fenil)piperazin-1-il)fenil)-1-isopropil-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona.

- 10 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), X_1 y X_2 son N.

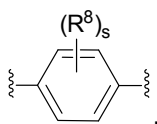
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), X_1 es CR^5 y X_2 es N.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), X_1 es N y X_2 es CR^5 .

- 15 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), q es 1 y r es 0.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A^1 es arilo.

- 20 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A^1 es



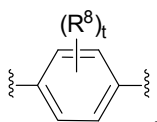
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A^1 es



- 25 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A^1 es heteroarilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A^2 es arilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A² es



- 5 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A² es

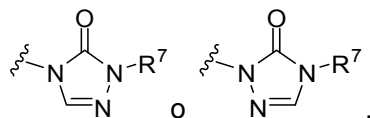


En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A² es heteroarilo.

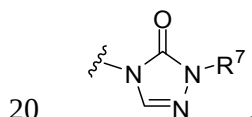
- 10 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A² es piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, o triazinilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), C es heteroarilo de 5 o miembros opcionalmente sustituido. En otras realizaciones descritas más arriba y más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), C es heterociclilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido.

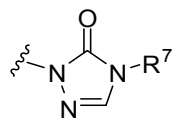
- 15 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), C es



En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), C es



En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), C es

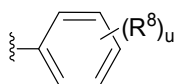


- 25 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), E es alquilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), E es cicloalquilo.

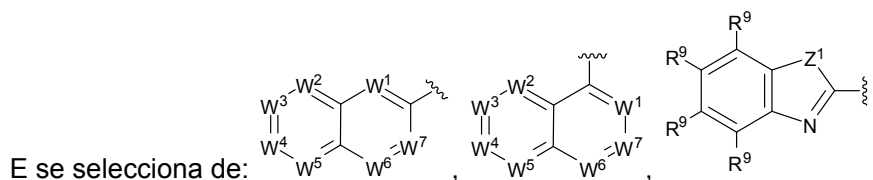
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), E es heterociclilo.

- En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), E es

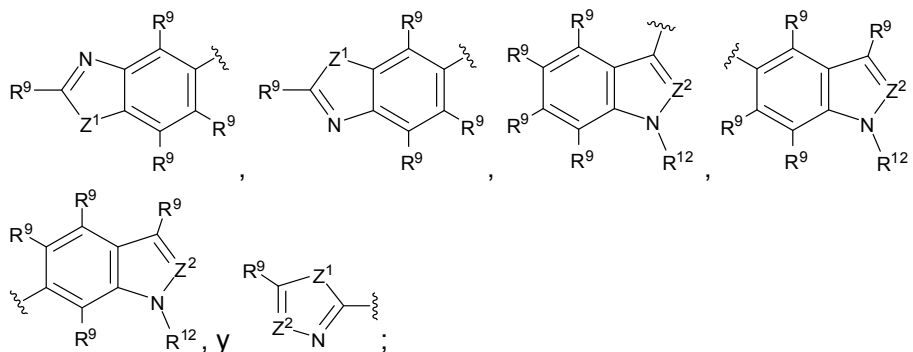


y u es 0, 1, 2, 3, 4, o 5.

- En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II),



- 15



$W^1, W^2, W^3, W^4, W^5, W^6$, y W^7 son seleccionados independientemente de N y CR^9 :

 Z^1 es NR^{12} , S, o O;

- 20 Z^2 es N o CR^9 :

25 cada R⁹ es seleccionado independientemente de H, halógeno, CN, NO₂, alquilo, -SR¹⁰, -OR¹⁰, -NR¹⁰R¹¹, NR¹⁰C(O)(alquil), -NR¹⁰C(O)(cicloalquil), -NR¹⁰C(O)(heterocicloalquil), -NR¹⁰C(O)(aril), -NR¹⁰C(O)(heteroaril), -C(O)NR¹⁰R¹¹, -C(O)NR¹⁰(cicloalquil), -C(O)NR¹⁰(heterocicloalquil), -C(O)NR¹⁰(aril), -C(O)NR¹⁰(heteroaril), -NR¹⁰C(O)NR¹⁰R¹¹, -NR¹⁰C(O)NR¹¹(cicloalquil), -NR¹⁰C(O)NR¹¹(heterocicloalquil), -NR¹⁰C(O)NR¹¹(aril), -NR¹⁰C(O)NR¹¹(heteroaril), -NR¹⁰C(O)O(alquil), -NR¹⁰C(O)O(cicloalquil), -NR¹⁰C(O)O(heterocicloalquil), -NR¹⁰C(O)O(aril), -NR¹⁰C(O)O(heteroaril).

-NR¹⁰SO₂(alquilo), -NR¹⁰SO₂(cicloalquilo), -NR¹⁰SO₂(heterocicloalquilo), -NR¹⁰SO₂(arilo),
 -NR¹⁰SO₂(heteroarilo), -SO₂NR¹⁰R¹¹, -SO₂NR¹⁰(cicloalquilo), -SO₂NR¹⁰(heterocicloalquilo),
 -SO₂NR¹⁰(arilo), -SO₂NR¹⁰(heteroarilo), haloalquilo, arilo, y heteroarilo;

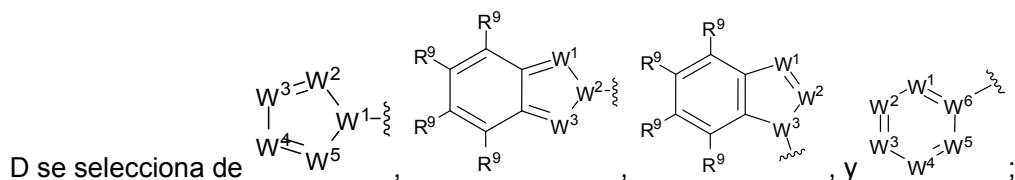
5 cada R¹⁰ y R¹¹ es seleccionado independientemente de H y alquilo; o R¹⁰ y R¹¹ tomados juntos forman un heterociclo con el nitrógeno al cual están unidos; y

R¹² es H, alquilo o haloalquilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), D es arilo.

10 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), D es heteroarilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II),

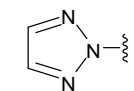


W¹, W², W³, W⁴, y W⁵ son seleccionados independientemente de N y CR⁹;

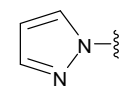
15 W⁶ es N o C; y

20 cada R⁹ es seleccionado independientemente de H, halógeno, CN, NO₂, alquilo, -SR¹⁰,
 -OR¹⁰, -NR¹⁰R¹¹, NR¹⁰C(O)(alquilo), -NR¹⁰C(O)(cicloalquilo), -NR¹⁰C(O)(heterocicloalquilo),
 -NR¹⁰C(O)(arilo), -NR¹⁰C(O)(heteroarilo), -C(O)NR¹⁰R¹¹, -C(O)NR¹⁰(cicloalquilo),
 -C(O)NR¹⁰(heterocicloalquilo), -C(O)NR¹⁰(arilo), -C(O)NR¹⁰(heteroarilo), -NR¹⁰C(O)NR¹⁰R¹¹,
 -NR¹⁰C(O)NR¹¹(cicloalquilo), -NR¹⁰C(O)NR¹¹(heterocicloalquilo), -NR¹⁰C(O)NR¹¹(arilo),
 -NR¹⁰C(O)NR¹¹(heteroarilo), -NR¹⁰C(O)O(alquilo), -NR¹⁰C(O)O(cicloalquilo),
 -NR¹⁰C(O)O(heterocicloalquilo), -NR¹⁰C(O)O(arilo), -NR¹⁰C(O)O(heteroarilo),
 -NR¹⁰SO₂(alquilo), -NR¹⁰SO₂(cicloalquilo), -NR¹⁰SO₂(heterocicloalquilo), -NR¹⁰SO₂(arilo),
 -NR¹⁰SO₂(heteroarilo), -SO₂NR¹⁰R¹¹, -SO₂NR¹⁰(cicloalquilo), -SO₂NR¹⁰(heterocicloalquilo),
 25 -SO₂NR¹⁰(arilo), -SO₂NR¹⁰(heteroarilo), haloalquilo, arilo, y heteroarilo.

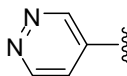
En ciertas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), D es



. En ciertas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), D es



30 . En ciertas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), D es



En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), Y^1 y Y^2 son O.

5 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), m es 1.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), p es 1, 2, o 3.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), p es 1.

10 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son hidrógeno.

También se provee una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (II) o tal como se describió arriba o se describe más abajo, o una sal, solvato, polimorfo, profármaco, metabolito, N-óxido, estereoisómero o isómero del mismo
15 farmacéuticamente aceptable, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Se describe aquí adicionalmente, en algunas realizaciones un sistema basado en imágenes para identificar inhibidores de fibrosis. En algunas realizaciones, el sistema comprende (a) uno o más fibroblastos; y (b) un dispositivo para generación de imágenes de células para producir una o más imágenes de uno o más fibroblastos. En algunas
20 realizaciones, el dispositivo para generación de imágenes de células comprende un microscopio fluorescente. En algunas realizaciones, el dispositivo para generación de imágenes de células comprende una tecnología de cámara CCD. En algunas realizaciones, el dispositivo para generación de imágenes de células es automatizado. En algunas realizaciones, el dispositivo para generación de imágenes de células es operado
25 manualmente. En algunas realizaciones, el dispositivo para generación de imágenes de células es enfriado termoeléctricamente.

En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente una fuente de luz. En algunas realizaciones, la fuente de luz es un LED.

En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente un escáner.

30 En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente un ordenador.

En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente una o más localizaciones de memoria para almacenamiento y/o recepción de la una o más imágenes. En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente una o más localizaciones de memoria para almacenar y/o recibir una o más instrucciones para producir la una o más
35 imágenes.

En algunas realizaciones, el sistema comprende uno o más procesadores para analizar la una o más imagen del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más procesadores para procesar la una o más imágenes del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el sistema comprende
40 adicionalmente uno o más procesadores para transmitir la una o más imágenes del uno o

más fibroblastos.

En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más programas de software para capturar, producir, analizar, escanear, almacenar y/o transmitir la una o más imágenes.

- 5 En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más lectores de código de barras para leer uno o más códigos de barras sobre una o más muestras que comprende la una o más células.

- 10 En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más robots para manipular una o más muestras que comprenden la una o más células. En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más robots para tratar una o más muestras que comprenden la una o más célula con uno o más agentes.

En algunas realizaciones, el uno o más agentes comprenden TGF-beta. En algunas realizaciones, el uno o más agentes comprenden uno o más agentes de prueba.

- 15 En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más procesadores para identificar el uno o más agentes de prueba como inhibidores de la fibrosis. En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más procesadores para clasificar los inhibidores de fibrosis.

- 20 En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más algoritmos. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una morfología del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una morfología del uno o más fibroblastos puestos en contacto con el uno o más agentes. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una intensidad del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una intensidad de fluorescencia del uno o más fibroblastos.

- 25 En algunas realizaciones, el dispositivo para generación de imágenes de células comprende una plataforma CellInsight NXT High Content Screening (HCS).

En algunas realizaciones, el uno o más fibroblastos son células en estrella hepáticas (HSCs).

- 30 Se discuten aquí adicionalmente métodos para identificar inhibidores de la fibrosis. En algunas realizaciones, el método comprende (a) poner en contacto una primera muestra que comprende uno o más fibroblastos con un agente de crecimiento celular; (b) poner en contacto una segunda muestra que comprende uno o más fibroblastos con el agente de crecimiento celular y un primer agente de prueba; (c) producir una o más imágenes del uno o más fibroblastos de la primera muestra y una o más imágenes del uno o más
35 fibroblastos de la segunda muestra; y (d) determinar si el primer agente de prueba es un inhibidor de fibrosis con base en un análisis de la una o más imágenes de la primera muestra y luego de la una o más imágenes de la segunda muestra.

- 40 En algunas realizaciones, el agente de crecimiento celular es un factor de crecimiento. En algunas realizaciones, el agente de crecimiento celular es un factor de crecimiento transformante beta (TGF-b).

En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es una molécula pequeña. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es una molécula pequeña bioactiva.

- En algunas realizaciones, la segunda muestra es puesta en contacto con el agente de crecimiento celular y el primer agente de prueba simultáneamente. En algunas realizaciones, la segunda muestra es puesta en contacto con el agente de crecimiento celular y el primer agente de prueba secuencialmente. En algunas realizaciones, la
- 5 segunda muestra es puesta en contacto con el agente de crecimiento celular antes del contacto con el primer agente de prueba. En algunas realizaciones, la segunda muestra es puesta en contacto con el primer agente de prueba antes de ponerla en contacto con el agente de crecimiento celular.
- 10 En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente una o más muestras adicionales que comprenden uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, la primera muestra, la segunda muestra, y/o una o más muestras adicionales son de la misma fuente. En algunas realizaciones, la primera muestra, la segunda muestra y/o una o más muestras adicionales son de dos o más fuentes diferentes.
- 15 En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente poner en contacto la una o más muestra adicionales con el agente de crecimiento celular y uno o más agentes de prueba adicionales.
- En algunas realizaciones, la una o más imágenes de la primera muestra y la una o más imágenes de la segunda muestra son capturadas simultáneamente. En algunas realizaciones, la una o más imágenes de la primera muestra y la una o más imágenes de
- 20 la segunda muestra son capturadas secuencialmente.
- En algunas realizaciones, el uno o más fibroblastos de la primera muestra son cultivados en uno o más pozos sobre una primera placa de cultivo. En algunas realizaciones, el uno o más fibroblastos de la segunda muestra son cultivados en uno o más pozos en una segunda placa de cultivo. En algunas realizaciones, el uno o más fibroblastos de la una o
- 25 más muestras adicionales son cultivados en uno o más pozos sobre la una o más placas de cultivo adicionales.
- En algunas realizaciones, la primera placa de cultivo y la segunda placa de cultivo son diferentes. En algunas realizaciones, la primera placa de cultivo, la segunda placa de cultivo, y/o la tercera o más placa de cultivo adicional son diferentes.
- 30 En algunas realizaciones, la primera placa de cultivo y la segunda placa de cultivo son la misma. En algunas realizaciones, la primera placa de cultivo, la segunda placa de cultivo, y/o la una o más placas de cultivo adicionales son la misma.
- En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente poner en contacto uno o más fibroblastos de la primera muestra y/o el uno o más fibroblastos de la segunda
- 35 muestra con un tercer agente. En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente poner en contacto el uno o más fibroblastos de la una o más muestras adicionales con un tercer agente.
- En algunas realizaciones, el tercer agente es un anticuerpo. En algunas realizaciones, el tercer agente es un anticuerpo antiactina de músculo suave (SMA).
- 40 En algunas realizaciones, la una o más imágenes de la primera muestra y/o la una o más imágenes de la segunda muestra están basadas en la imágenes del uno o más fibroblastos en contacto con el tercer agente. En algunas realizaciones, la una o más imágenes de la una o más muestras adicionales se basan en las imágenes del uno o más fibroblastos puestos en contacto con el tercer agente.

En algunas realizaciones, la producción de una o más imágenes comprende el uso de uno o más dispositivos para la generación de imágenes de células. En algunas realizaciones, el dispositivo para generación de imágenes de células comprende una plataforma CellInsight NXT High Content Screening (HCS).

- 5 En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente uno o más algoritmos. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una morfología del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos realizan una morfología del uno o más fibroblastos en contacto con el uno o más agentes. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una intensidad del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una intensidad de fluorescencia del uno o más fibroblastos.

- En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente detectar la transdiferenciación del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, la transdiferenciación del uno o más fibroblastos comprende la transdiferenciación en uno o más miofibroblastos.

- En algunas realizaciones, la determinación de si el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de la fibrosis se basa en la comparación de la composición de miofibroblastos en la primera muestra con respecto a la composición de miofibroblastos en la segunda muestra. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de fibrosis si la composición en miofibroblastos en la segunda muestra es menor que la composición en miofibroblastos en la primera muestra. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de fibrosis si la composición de miofibroblastos en la segunda muestra es al menos 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90% menos que la composición en miofibroblastos en la primera muestra. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de la fibrosis si la composición en miofibroblastos en la segunda muestra es menor de aproximadamente 1.5-, 2-, 2.5-, 3-, 3.5-, 4-, 4.5-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-, 11-, 12-, 13-, 14-, o 15 veces que la composición en miofibroblastos en la primera muestra.

- 30 En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente determinar si el uno o más agentes adicionales de prueba son inhibidores de la fibrosis. En algunas realizaciones, la determinación de si el uno o más agentes de prueba adicionales está identificado como un inhibidor de fibrosis se basa en una comparación de la composición en miofibroblastos de la primera muestra con respecto a la composición en miofibroblastos en la una o más muestras adicionales. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de fibrosis si la composición en miofibroblastos en la una o más muestras adicionales es menor que la composición en miofibroblastos en la primera muestra. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de fibrosis si la composición en miofibroblastos en la una o más muestras adicionales es al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90% menos que la composición en miofibroblastos en la primera muestra. En algunas realizaciones, el primer agente es identificado como un inhibidor de fibrosis si la composición en miofibroblastos en la una o más muestras adicionales es menor de aproximadamente 1.5-, 2-, 2.5-, 3-, 3.5-, 4-, 4.5-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-, 11-, 12-, 13-, 14-, o 15- veces menos que la composición de miofibroblastos en la primera muestra.

Incorporación por referencia

Todas las publicaciones, patentes y solicitudes de patente mencionadas en esta

especificación se incorporan aquí como referencia hasta el mismo grado como si cada publicación, patente o solicitud de patente individual estuviera específica e individualmente indicada para ser incorporada como referencia.

Breve descripción de las figuras

- 5 La figura 1 describe un ensayo de alto contenido de imágenes, con base en una tinción α -SMA y cambios morfológicos en las células asociados con la transdiferenciación de fibroblastos a miofibroblastos que ha sido establecida utilizando fibroblastos de pulmón humano primarios y HSCs de roedores primarios. Se han identificado condiciones, involucrando el ayuno de suero y el subsecuente tratamiento con TGF- β que facilitan la transdiferenciación robusta *in vitro* en un formato miniaturizado (placa de 384 pozos) que es factible de alto rendimiento en el cribado de moléculas pequeñas. Se utiliza un inhibidor selectivo del receptor ALK-5 TGF- β 1 (SB-431542) como control positivo.

- 10 La figura 2 describe la inhibición por itraconazol de la diferenciación de miofibroblastos en múltiples tipos celulares *in vitro*. Las preparaciones de fibroblastos primarios cardíacos, pulmonares o dérmicos y HSC fueron probadas en cuanto a su capacidad de respuesta a TGF β . Las células fueron analizadas en cuanto a la morfología de los miofibroblastos por tinción para detectar actina de músculos lisos. El inhibidor de ALK5 (SB-431542) fue utilizado como control positivo. El itraconazol (Itra, 2.5 μ M) inhibe la diferenciación de miofibroblastos en fibroblastos derivados de pulmón, corazón, piel o hígado (HSCs).

- 20 La figura 3 describe la inhibición por itraconazol de la diferenciación de miofibroblastos en múltiples tipos celulares *in vitro*. Las preparaciones de fibroblastos cardíacos, pulmonares o dérmicos primarios y HSC fueron probadas en cuanto a la capacidad de respuesta a TGF β . El perfilado por qRT-PCR y análisis de inmunoprecipitación western de múltiples genes relacionados con la fibrosis se utilizó para confirmar la actividad *in vitro*. Los estudios farmacológicos soportan la inhibición dual de MOA (VEGF, señalización Hh).

- 30 La figura 4 muestra la eficacia del itraconazol en estudios PoC en roedores en modelos de hígado (CC14) y pulmones (Bleomicina). Utilizando pirfenidona y AM-152 como marcadores básicos, el itraconazol demostró tener igual o superior eficacia en fibrosis de hígado inducida por tetracloruro de carbono y fibrosis de pulmón y piel inducida por bleomicina en modelos de ratón.

La figura 5 muestra datos obtenidos a partir de un ensayo basado en imágenes de activación de miofibroblastos: (a) análisis de células de área celular media de tinción con SMA; (b) análisis de células en cuanto a la intensidad de fluorescencia media de tinción con SMA.

- 35 La figura 6 muestra el análisis por inmunoprecipitación western de proteínas relacionadas con fibrosis en células expuestas a TGF β e itraconazol.

- La figura 7 muestra el análisis de extensión genética de fibroblastos de pulmón humanos tratados con itraconazol: (a) análisis de datos expresado como regulación de plegamiento con respecto a una muestra no tratada con TGF- β 1; (b) datos netos de RT2 Profiler PCR Array enfocado en fibrosis.

40 La figura 8 muestra análisis por qPCR de genes relacionados con Hedgehog en células de estrella hepáticas de rata tratadas con itraconazol: (a) niveles relativos de ARNm de PTCH1; (b) niveles relativos de ARNm de GLI1; (c) datos netos para ambos experimentos por qPCR.

La figura 9 muestra análisis por inmunoprecipitación western de HSCs de COL1-GFP después de la anulación de la regularización.

La figura 10 muestra el análisis por inmunoprecipitación western del patrón de migración de VEGFR2 después del tratamiento con itraconazol.

- 5 La figura 11 muestra el análisis por inmunoprecipitación western de células de estrella hepáticas de rata tratadas con combinaciones de VEGFR y compuestos inhibidores de Hedgehog.

- 10 La figura 12 muestra la actividad del itraconazol y el compuesto 42 en un ensayo informador de Hedgehog: (a) actividad de GLI-LUC relativa de células TM3-GLI-LUC expuestas a SAG 10 nM y dosis indicadas de inhibidor; (b) actividad relativa de GLI-LUC de células TM3-GLI-LUC expuestas a SAG 400 nM y dosis indicadas de inhibidor.

La figura 13 muestra el análisis por inmunoprecipitación western de células estrella hepáticas humanas LX2 después de la anulación de VEGFR1, VEGFR2 o SMO.

- 15 La figura 14 muestra el diseño del estudio del modelo de fibrosis de pulmones inducida por bleomicina para la evaluación del compuesto 42 e itraconazol.

- 20 La figura 15 muestra la evaluación del compuesto 42 e itraconazol en el modelo de fibrosis de pulmón inducida por bleomicina: (a) marcadores medios de Ashcroft de ratones expuestos a bleomicina y las dosis indicadas de fármaco; (b) representación gráfica del modelo utilizado para evaluar fármacos antifibróticos; (c) imágenes representativas de pulmón teñido tricromático de Masson de grupos de tratamientos indicados.

La figura 16 muestra la caracterización del sistema de marcación de Ashcroft modificado.

- 25 La figura 17 muestra la cuantificación de los datos de histología a partir de la evaluación del compuesto 42 e itraconazol en el modelo fibrosis de pulmón inducida por bleomicina: (a) marcadores de Ashcroft medios; (b) porcentaje medio de valores de área teñida.

La figura 18 muestra el diseño del estudio del modelo de fibrosis en hígado inducida por tetracloruro de carbono para la evaluación del compuesto 42 e itraconazol.

- 30 La figura 19 muestra la evaluación del compuesto 42 e itraconazol en el modelo de fibrosis de hígado inducida por tetracloruro de carbono: (a) porcentaje total de área positiva para tinción según Sirius Red; (b) datos numéricos del análisis de imágenes del modelo de fibrosis en hígado inducida por CCL₄; (c) imágenes representativas de las de secciones de hígado teñidas con Sirius Red del modelo de fibrosis en hígado inducida por CCL₄; (d) análisis por inmunoprecipitación western.

- 35 La figura 20 muestra el diseño de estudio de modelo de curación de heridas en roedores para la evaluación del compuesto 42 e itraconazol.

La figura 21 muestra resultados del estudio de la evaluación del compuesto 42 e itraconazol en el modelo de curación de heridas en roedores.

Descripción detallada de la invención

- 40 La fibrosis representa un problema de salud críticamente importante si bien sorprendentemente no reconocido. Casi el 45% de todas las muertes naturales en el

- mundo occidental son atribuidas a enfermedades fibroproliferativas. Sin embargo, actualmente solo hay un fármaco clínicamente aprobado (Pirfenidona) que apunta específicamente a la patogénesis de la fibrosis y está indicado directamente para el tratamiento de una enfermedad fibrótica. La fibrosis afecta casi cada tejido del cuerpo y, cuando es altamente progresiva, puede llevar a un mal funcionamiento de los órganos y la muerte. Claramente, la identificación de fármacos antifibróticos novedosos representa una necesidad médica no satisfecha que tendría un impacto significativo beneficioso en pacientes en múltiples poblaciones de enfermedad. Además, actualmente no hay cura para la escleroderma y el tratamiento está limitado a un manejo de los síntomas.
- La fibrosis, en general definida como la producción de cantidades excesivas de tejido conectivo, se desarrolla como consecuencia de diversas enfermedades subyacentes. La inflamación crónica o el daño/remodelación de tejidos son eventos que típicamente inducen fibrosis. La fibrosis afecta casi cada tejido del cuerpo y, cuando es altamente progresiva, puede llevar a mal funcionamiento de los órganos y muerte. Ejemplos de enfermedad específicos incluyen fibrosis pulmonar idiopática (IPF); fibrosis de hígado asociada con las etapas finales de cirrosis de hígado alcohólica y no alcohólica; fibrosis renal; fibrosis cardíaca; y formación de queloides resultantes de curación anormal de heridas. Adicionalmente, la fibrosis es una característica patológica clave asociada con enfermedades autoinmunes crónicas, incluyendo artritis reumatoide, escleroderma, enfermedad de Crohn y lupus eritematoso sistémico. Como tal la fibrosis representa un problema de salud críticamente importante si bien sorprendentemente no reconocido. En efecto, casi el 45% de todas las muertes naturales en el mundo occidental son atribuidas a enfermedades fibroproliferativas crónicas. Sin embargo, actualmente solo hay un fármaco clínicamente aprobado (Pirfenidona, aprobado para el tratamiento de IPF en Europa solamente), que apunta específicamente a la patogénesis de la fibrosis y está directamente indicado para el tratamiento de una enfermedad fibrótica. Desafortunadamente, la pirfenidona tiene considerables efectos colaterales en el hígado y el tracto gastrointestinal, y los pacientes tratados con pirfenidona son advertidos de evitar la exposición directa a la luz solar, pues es sabido que causa reacciones de fotosensibilidad que llevan a irritación, piel seca o prurito. Recientemente, antagonistas del ácido lisofosfatídico (LPA1) (por ejemplo AM-152) han demostrado ser eficaces en modelos preclínicos de IPF. Sin embargo, la eficacia clínica aún está por ser demostrada para el AM-152. Claramente, la identificación de fármacos antifibróticos novedosos representa una necesidad médica principal no satisfecha que tendría un impacto beneficioso significativo en pacientes en poblaciones de enfermedad múltiples.
- A pesar de la diversidad de enfermedades y disparadores que pueden iniciar un proceso fibrótico en un tejido u órgano dados, los mecanismos bioquímicos y celulares comunes se presentan en todos los casos estudiados hasta la fecha. Después de una herida o una agresión inflamatoria, los fibroblastos residentes (en algunos casos fibrocitos circulantes reclutados derivados de médula ósea o células epiteliales que han experimentado una transición epitelial a mesenquimal) son activados y “se transdiferencian” en miofibroblastos que expresan α -actina de músculos lisos (α -SMA) que secretan los componentes de la matriz extracelular (ECM) requeridos para la reparación de heridas. En el caso de fibrosis hepática, una población de pericitos residentes denominada células en estrella hepáticas quiescentes (HSC) “se transdiferencia” en un HSC fibrogénico “activado” que expresa α -SMA productor de colágeno. La señalización Smad 3/4 mediada por el factor de crecimiento transformante β 1 (TGF- β 1) comúnmente conduce la transdiferenciación de fibroblastos residentes o HSC a miofibroblastos o HSCs activados y estimula la producción de componentes ECM en las poblaciones finales. El factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) también sirve como una citoquina profibrótica común que guía la activación y proliferación celular.

- Una metodología terapéutica para el tratamiento de enfermedades de fibrosis progresiva es apuntar a una de las multitudes de complejos procesos inmunológicos causantes. Esta metodología está limitada por la carencia de una claridad mecanística y exacerbación potencial de la enfermedad subyacente. Una metodología alternativa atractiva para el
- 5 tratamiento de diversas enfermedades fibróticas es apuntar directamente a la ruta de transdiferenciación responsable de la interconversión de fibroblastos quiescentes y miofibroblastos profibróticos activados. Los fármacos capaces de bloquear la conversión de fibroblastos a miofibroblastos activados podrían ser administrados de manera profiláctica después de la herida o agresión (por ejemplo infarto del miocardio) o
- 10 terapéuticamente en las etapas tempranas de la enfermedad en órganos capaces de repararse (por ejemplo, fibrosis de hígado, IPF o escleroderma). Los supresores directos de la producción de TGF- β 1 (por ejemplo, pirfenidona) no son candidatos ideales para dosificación crónica y son especialmente indeseables para el tratamiento de enfermedades autoinmunes, puesto que tienen el potencial de exacerbar respuestas
- 15 autoinmunes. Alternativamente, los fármacos capaces de inducir la reversión de miofibroblastos existentes a un destino celular quiescente tendrían amplia aplicabilidad para el tratamiento de fibrosis en múltiples tipos de tejidos y podrían ser potencialmente eficaces en etapas posteriores de la enfermedad.
- Se han establecido ensayos con alto contenido de imágenes, utilizando fibroblastos de
- 20 pulmón humanos primarios y HSCs de roedores primarios, que permiten la identificación de moléculas pequeñas que bien inhiben la formación/activación de miofibroblastos o inducen la reversión de miofibroblastos activados a un estado de fibroblasto quiescente. Se han identificado condiciones, que involucran el ayuno de suero y subsecuente tratamiento con TGF- β que facilitan la transdiferenciación robusta *in vitro* en un formato
- 25 miniaturizado (placa de 384 pozos) que es adecuado para un alto rendimiento en la criba de moléculas pequeñas. El ensayo de inhibición está basado en una tinción inmunofluorescente de α -SMA y cambios en la morfología celular asociados con la transdiferenciación de fibroblastos a miofibroblastos. Utilizando el inhibidor selectivo del receptor de ALK-5 TGF- β 1 (SB-43154) como control positivo, el ensayo de inhibición ha
- 30 sido usado para iniciar una criba de una colección de ~100,000 moléculas pequeñas que consisten de moléculas pequeñas bioactivas y un conjunto de diversidad que ha sido ensamblado con base diversidad estructural 2D y 3D y propiedades “similares a fármacos” inherentes. La criba preliminar llevó a la identificación de múltiples moléculas antifibróticas previamente identificadas. La mayoría de estas tenían utilidad clínica
- 35 limitada, como resultado de inconvenientes de toxicidad conocidos fuera de objetivo o demostraron carencia de eficacia *in vivo*. Sin embargo, además de estos, se identificó el agente antifúngico triazol conocido como itraconazol como un inhibidor altamente eficaz de la formación de miofibroblastos (a dosis bien por debajo de las asociadas con la toxicidad en fibroblastos u otros tipos de células de control.
- La actividad del itraconazol fue confirmada *in vitro* analizando los cambios de expresión
- 40 en genes múltiples asociados con la transdiferenciación de fibroblasto a miofibroblasto utilizando métodos bioquímicos (esto es, inmunoprecipitación western y RT-PCR). Utilizando métodos farmacológicos la base mecanística para la actividad antifibrótica de esta molécula ha sido establecida como la inhibición dual de la señalización Hedgehog y
- 45 la glicosilación/tráfico del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (VEFG) (ninguna actividad por sí misma es suficiente). Afortunadamente, se estableció que la actividad del itraconazol se traslada a tipos celulares tanto humanos como de roedores, así como a células derivadas de múltiples tipos de tejidos (por ejemplo, pulmón, hígado, piel, corazón). Utilizando pirfenidona y AM-152 como compuestos de control de
- 50 referencia, se demostró que el itraconazol tenía eficacia tanto en modelos de ratón de fibrosis de pulmón inducida por bleomicina, como de hígado inducida por tetracloruro de carbono. Como tal, el fármaco itraconazol aprobado por la FDA ha sido identificado como

un candidato novedoso para el desarrollo de una nueva clase de fármacos para el tratamiento de enfermedades relacionadas con fibrosis múltiples.

Una limitación potencial al uso de este fármaco como antifibrótico, especialmente para el tratamiento de fibrosis de hígado, es un perfil de toxicidad al hígado conocido que está asociado con la coordinación del hierro heme por N4 de la unidad estructural 1, 2, 4 triazol, llevando la inhibición de las enzimas P450 (lo más notablemente la Cyp3A4), una actividad distinta de la actividad de VEGF y Hgh del itraconazol. Como tal, se han iniciado esfuerzos en química medicinal dirigidos a identificar análogos optimizados de itraconazol con perfiles de toxicidad al hígado favorables y mejoras adicionales en eficacia antifibrótica. A partir de un panel inicial de ~30 análogos de itraconazol, en los cuales el pKa del N4 se reduce o el nitrógeno N4 es sustituido con carbono, se han identificado varios candidatos en donde la actividad de inhibición de Cyp es eliminada y se retiene la actividad antifibrótica *in vitro*. De manera notable, las propiedades farmacocinéticas de estos compuestos son comparables a las del compuesto original. Con base en datos de actividad *in vitro*, eficacia *in vivo*, exposición a suero de roedores y exposición a humanos, se anticipa que es deseable una mejora en eficacia y/o exposición de 5 veces para el candidato clínico final. Un estudio de relación de actividad con estructura preliminar ha revelado que el mejoramiento de la potencia puede alcanzarse haciendo modificaciones en todos los sitios distales al sustituyente triazol. Hay esfuerzos en química en avance y serán utilizados para optimizar los perfiles de eficacia, exposición (C_{max} >5 veces en EC_{50} *in vitro*) y de toxicidad (con base en perfilado en un panel fuera de objetivo humano, toxicidad de hERG y AMES *in vitro* y ensayos de inducción/inhibición de Cyp). La actividad reproducible de modificación de la enfermedad, esto es, eficacia igual o mayor que la del estándar existente (pirfenidona) o futuro potencial (AM-152), serán demostrados para un análogo de itraconazol optimizado, utilizando modelos de fibrosis tanto de pulmón como de hígado de roedores.

Definiciones

En la siguiente descripción, se fijan ciertos detalles específicos con el fin de proveer un entendimiento exhaustivo de diversas realizaciones. Sin embargo, una persona experimentada en el arte entenderá que la invención puede ser puesta en práctica sin estos detalles. En otros casos, no se han mostrado o descrito estructuras bien conocidas en detalle para evitar oscurecimiento innecesario de las descripciones de las realizaciones. A menos que el contexto requiera otra cosa, a lo largo de la especificación y reivindicaciones que siguen, la palabra “comprenden” y variaciones de la misma, tales como “comprende” y “que comprende” deben considerarse en un sentido abierto, inclusivo, esto es, como “que incluye, pero no se limita a”. Adicionalmente, los encabezamientos provistos aquí son para conveniencia solamente y no interpretan el alcance o significado de la invención reivindicada.

Referencia a lo largo de esta especificación a “un total de una realización” o “una realización” significa que un rasgo, estructura o características particulares descritas en relación con la realización están incluidos en al menos una realización. Así, las apariciones de las expresiones “en un total de una realización” o “en una realización” en diversos lugares a lo largo de esta especificación no se refieren todos necesariamente a la misma realización. Adicionalmente, los rasgos, estructuras o características particulares pueden ser combinados de cualquier manera adecuada en una o más realizaciones. También, tal como se utilizan en esta especificación y en las reivindicaciones anexas, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen referentes plurales al menos que el contenido claramente dicte otra cosa. También debe anotarse que el término “o” se emplea en general en su sentido que incluye “y/o” al menos que el contenido dicte claramente otras cosa.

Los términos a continuación, tal como se utilizan aquí, tienen los siguientes significados, a menos que se indique otra cosa:

“Amino” se refiere al radical -NH_2 .

“Ciano” o “nitrilo” se refiere al radical -CN .

5 “Hidroxi” o “hidroxil” se refiere al radical -OH .

“Nitro” se refiere al radical -NO_2 .

“Oxo” se refiere al sustituyente $=\text{O}$.

“Oxima” se refiere al sustituyente $=\text{N-OH}$.

“Tioxo” se refiere al sustituyente $=\text{S}$.

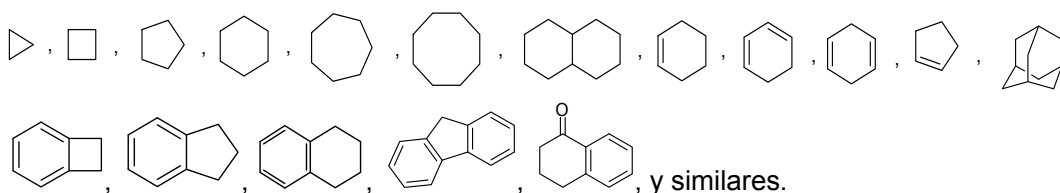
10 “Alquil” se refiere a un radical de cadena hidrocarburo recta o ramificada, tiene de uno a treinta átomos de carbono, y está unido al resto de la molécula por un enlace sencillo. Se incluyen alquilo que comprenden cualquier número de átomos de carbono de 1 a 30. Un alquilo que comprende hasta 30 átomos de carbono es citado como un $\text{C}_1\text{-C}_{30}$ alquilo, de la misma forma, por ejemplo, un alquilo que comprende hasta 12 átomos de carbono es a
15 $\text{C}_1\text{-C}_{12}$ alquilo. Alquilo (y otras unidades estructurales definidas aquí) que comprenden otros números de átomos de carbono son representados de manera similar. Grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, $\text{C}_1\text{-C}_{30}$ alquilo, $\text{C}_1\text{-C}_{20}$ alquilo, $\text{C}_1\text{-C}_{15}$ alquilo, $\text{C}_1\text{-C}_{10}$ alquilo, $\text{C}_1\text{-C}_8$ alquilo, $\text{C}_1\text{-C}_6$ alquilo, $\text{C}_1\text{-C}_4$ alquilo, $\text{C}_1\text{-C}_3$ alquilo, $\text{C}_1\text{-C}_2$ alquilo, $\text{C}_2\text{-C}_8$ alquilo, $\text{C}_3\text{-C}_8$ alquilo y $\text{C}_4\text{-C}_8$ alquilo. Grupos alquilo representativos incluyen, pero no se
20 limitan a, metilo, etilo, *n*-propilo, 1-metiletilo (*iso*-propil), *n*-butilo, *i*-butilo, *s*-butilo, *n*-pentilo, 1,1-dimetiletilo (*t*-butil), 3-metilhexilo, 2-metilhexilo, vinilo, alilo, propinilo, y similares. Alquilo que comprende insaturaciones incluye grupos alqueno y alquino. A menos que se establezca de otra manera específicamente en la especificación, un grupo alquilo puede estar opcionalmente sustituido como se describe más adelante.

25 “Alquileo” o “cadena alquileo” se refiere a una cadena hidrocarburo divalente recta o ramificada, tal como se describió para alquilo más arriba. A menos que se establezca de otra manera específicamente en la especificación, un grupo alquileo puede estar opcionalmente sustituido como se describe más adelante.

30 “Alcoxi” se refiere a un radical de la fórmula -OR_a donde R_a es un radical alquilo como se ha definido. A menos que se establezca de otra manera específicamente en la especificación, un grupo alcoxi puede estar opcionalmente sustituido como se describe más adelante.

Arilo se refiere a un radical derivado de un sistema de anillo hidrocarburo que comprende hidrógeno, 6 a 30 átomos de carbono y al menos un anillo aromático. El radical arilo
35 puede ser un sistema de anillo monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico los cuales pueden incluir sistemas de anillos fusionados o con puente. Radicales arilo incluyen, pero no se limitan a, radicales arilo derivados de los sistemas de anillo de hidrocarburo de aceantrileno, acenaftileno, acefenantrileno, antraceno, azuleno, benceno, criseno, fluoranteno, fluoreno, as-indaceno, *s*-indaceno, indano, indeno, naftaleno, fenaleno, fenantreno, pleiadeneno, pireno, y trifenileno. A menos que se establezca de otra manera específicamente en la especificación, el término “arilo” o el prefijo “ar-” (tal como en
40 “aralquil”) se entiende que incluye radicales arilo que están opcionalmente sustituidos.

“Cicloalquil” o “carbociclo” se refiere a un anillo carbocíclico monocíclico o policíclico, estable, no aromático, el cual puede incluir sistemas de anillo fusionados o con puentes, el cual es saturado o insaturado. Cicloalquilos o carbociclos representativos incluyen, pero no se limitan a, cicloalquilos que tienen de tres a quince átomos de carbono, de tres a diez átomos de carbono, de tres a ocho átomos de carbono, de tres a seis átomos de carbono, de tres a cinco átomos de carbono, o tres a cuatro átomos de carbono. Cicloalquilos o carbociclos monocíclicos incluyen, por ejemplo, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, y ciclooctilo. Cicloalquilos o carbociclos policíclicos incluyen, por ejemplo, adamantilo, norbornilo, decalinilo, biciclo[3.3.0]octano, biciclo[4.3.0]nonano, cis-decalina, trans-decalina, biciclo[2.1.1]hexano, biciclo[2.2.1]heptano, biciclo[2.2.2]octano, biciclo[3.2.2]nonano, y biciclo[3.3.2]decano, y 7,7-dimetil-biciclo[2.2.1]heptanilo a menos que se establezca otra cosa específicamente en esta especificación, un grupo cicloalquilo o carbociclo puede estar opcionalmente sustituido. Ejemplos ilustrativos de grupos cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, las siguientes unidades estructurales:



“Fusionado” se refiere a una estructura de anillo citada aquí que está fusionada a una estructura de anillo existente. Cuando el anillo fusionado es un anillo heterociclilo o un anillo heteroarilo, cualquier átomo de carbono sobre la estructura de anillo existente que viene a ser parte del anillo heterociclilo fusionado o del anillo heteroarilo fusionado puede ser reemplazado con un átomo de nitrógeno..

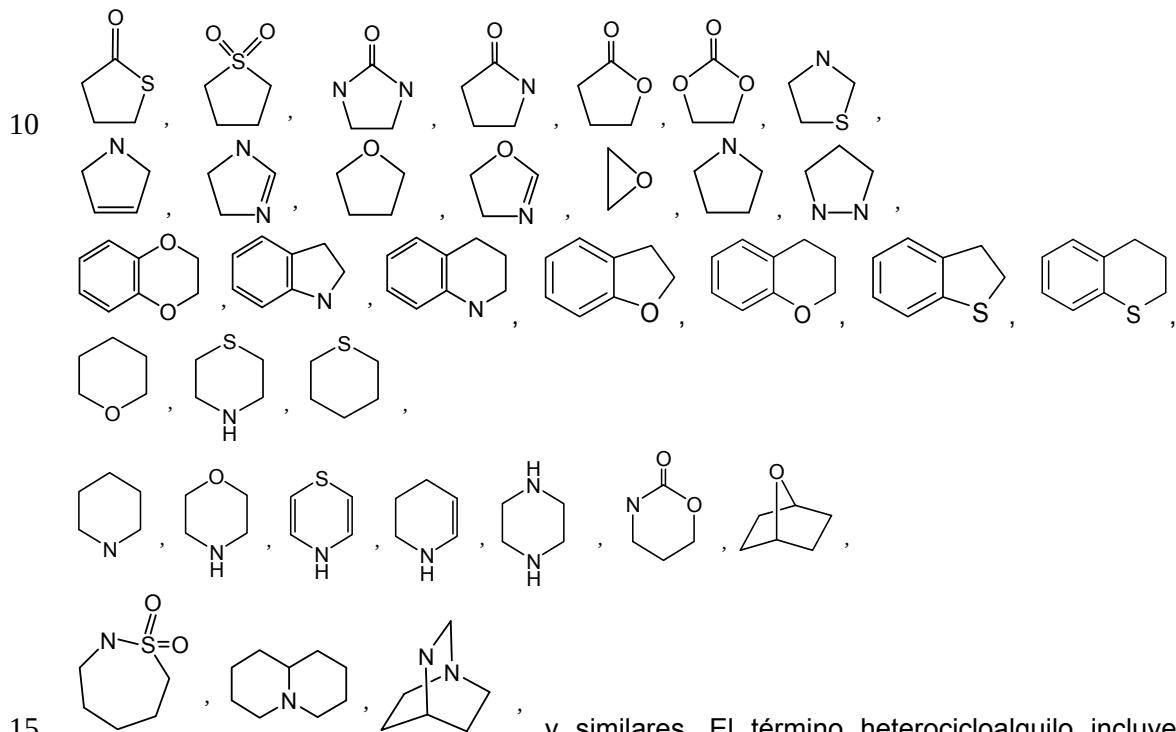
“Halo” o “halógeno” se refiere a bromo, cloro, fluoro o yodo.

“Haloalquil” se refiere a un alquilo radical, como se define más arriba, que está sustituido con uno o más radicales halo, como se define más arriba, e.g., trifluorometilo, difluorometilo, fluorometilo, triclorometilo, 2,2,2-trifluoroetilo, 1,2-difluoroetilo, 3-bromo-2-fluoropropilo, 1,2-dibromoetilo, y similares. A menos que se establezca de otra manera específicamente en la especificación, un grupo haloalquilo puede estar opcionalmente sustituido.

“Haloalcoxi” de manera similar se refiere a un radical de la fórmula $-OR_a$ donde R_a es a haloalquilo radical como se definió. A menos que se establezca de otra manera específicamente en la especificación, un grupo aloalcoxi puede estar opcionalmente sustituido como se describe más adelante.

“Heterocicloalquil” o “heterociclil” o “anillo heterocíclico” o “heterociclo” se refiere a un radical de anillo no aromático estable de 3 a 24 miembros de anillo que comprende de 2 a 23 átomos de carbono y de uno a 8 heteroátomos seleccionados del grupo consistente de nitrógeno, oxígeno, fósforo y azufre. A menos que se establezca de otra manera específicamente en la especificación, el radical heterociclilo puede ser un sistema de anillo monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico, el cual puede incluir sistemas de anillo fusionados o con puentes; y los átomos de nitrógeno, carbono o azufre en el radical heterociclilo pueden estar opcionalmente oxidados; el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado; y el radical heterociclilo puede ser parcial o completamente insaturado. Ejemplos de tales radicales heterociclilo incluyen, pero no se limitan a, azetidinitilo, dioxolanilo, tienil[1,3]ditianilo, decahidroisoquinolilo, imidazolinilo,

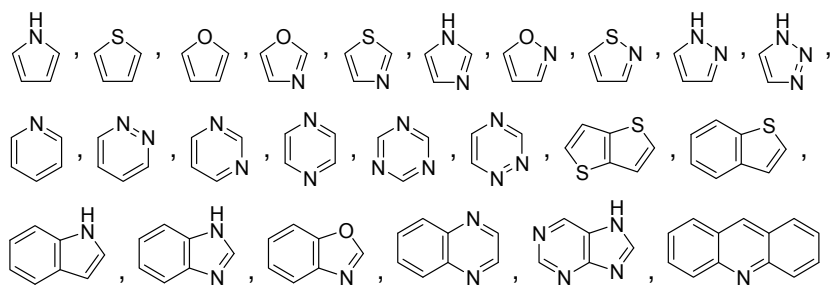
imidazolidinilo, isotiazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, octahidroindolilo, octahidroisoindolilo, 2-oxopiperazinilo, 2-oxopiperidinilo, 2-oxopirrolidinilo, oxazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, 4-piperidonilo, pirrolidinilo, pirazolidinilo, quinuclidinilo, tiazolidinilo, tetrahydrofurilo, tritiano, tetrahidropirano, tiomorfolinilo, tiamorfolinilo, 1-oxo-tiomorfolinilo, 1,1-dioxo-tiomorfolinilo, 12-corona-4, 15-corona-5, 18-corona-6, 21-corona-7, aza-18-corona-6, diaza-18-corona-6, aza-21-corona-7, y diaza-21-corona-7. A menos que se establezca de otra manera específicamente en la especificación, un grupo heterocíclico puede estar opcionalmente sustituido. Ejemplos ilustrativos de grupos heterocicloalquilo, también citados como heterociclos no aromáticos, incluyen:



y similares. El término heterocicloalquilo incluye también todas las formas de anillos de los carbohidratos, incluyendo pero no limitándose a los monosacáridos, los disacáridos y los oligosacáridos. Al menos que se anote de otra forma, los heterocicloalquilos tienen de 2 a 10 carbonos en el anillo. Se entiende que cuando se hace referencia al número de átomos de carbono en un heterocicloalquilo, el número de átomos de carbono en el heterocicloalquilo no es el mismo que el número de átomos totales (incluyendo los heteroátomos) que constituyen el heterocicloalquilo (esto es, átomos del esqueleto del anillo heterocicloalquilo). Al menos que se establezca otra cosa específicamente en una especificación, un grupo heterocicloalquilo puede estar sustituido opcionalmente.

25 El término "heteroarilo" tal como se utiliza aquí, solo o en combinación, se refiere a monorradicales aromáticos opcionalmente sustituidos que contienen desde aproximadamente cinco hasta aproximadamente veinte átomos de anillo de esqueleto, en donde uno o más de los átomos de anillo es un heteroátomo seleccionado independiente de entre oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo, silicio, selenio y estaño pero no limitándose a estos átomos y con la condición de que el anillo de dicho grupo no contenga dos átomos de O o S adyacentes. En realizaciones en donde hay presentes dos o más heteroátomos en el anillo, los dos o más heteroátomos pueden ser el mismo uno que otro, o algunos o todos de los dos o más heteroátomos pueden ser diferentes uno de otro. El término heteroarilo incluye radicales heteroarilo opcionalmente sustituidos fusionados y no fusionados que tienen al menos un heteroátomo. El término heteroarilo también incluye

heteroarilos fusionados y no fusionados que tienen de cinco hasta aproximadamente doce átomos de anillo de esqueleto, así como aquellos que tienen de cinco hasta aproximadamente diez átomos de anillo de esqueleto. El enlace a un grupo heteroarilo puede ser a través de un átomo de carbono o un heteroátomo. Así, como ejemplo no limitante, un grupo imidazol puede ser unido a una molécula original a través de sus átomos de carbono (imidazol-2-il, imidazol-4-il o imidazol-5-il) o sus átomos de nitrógeno (imidazol-1-il o imidazol-3-il). De la misma manera, un grupo heteroarilo puede ser sustituido adicionalmente a través de cualquiera o todos sus átomos de carbono, y/o cualquiera o todos de sus heteroátomos. Un radical heteroarilo fusionado puede contener de 2 a 4 anillos fusionados en donde el anillo de unión es un anillo heteroaromático y los otros anillos individuales pueden ser alicíclicos, heterocíclicos, aromáticos, heteroaromáticos o cualquier combinación de los mismos. Un ejemplo no limitante de un grupo heteroarilo de anillo individual incluye piridilo. Grupos heteroarilo de anillo fusionado incluyen benzimidazolilo, quinolinilo, acridinilo; y grupos biheteroarilo no fusionados incluyen bipyridinilo. Ejemplos adicionales de heteroarilos incluyen, sin limitación, furanilo, tienilo, oxazolilo, acridinilo, fenazinilo, benzimidazolilo, benzofuranilo, benzoxazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, benzotiofenilo, benzoxadiazolilo, benzotriazolilo, imidazolilo, indolilo, isoxazolilo, isoquinolinilo, indolizínilo, isotiazolilo, isoindoliloxadiazolilo, indazolilo, piridilo, piridazilo, pirimidilo, pirazinilo, pirrolilo, pirazinilo, pirazolilo, purinilo, ftalazinilo, pteridinilo, quinolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, triazolilo, tetrazolilo, tiazolilo, triazinilo, tiadiazolilo y similares, y sus óxidos tales como, por ejemplo piridil-N-óxido. Ejemplos ilustrativos de grupos heteroarilo incluyen las siguientes unidades estructurales:



y similares.

El radical heteroarilo puede ser un sistema de anillo monocíclico, bicíclico, tricíclico o tetracíclico, el cual puede incluir sistemas de anillo fusionados o con puentes; y los átomos de nitrógeno, carbono o azufre en el radical heteroarilo pueden estar opcionalmente oxidados; el átomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, azepinilo, acridinilo, benzimidazolilo, benzotiazolilo, bencindolilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzooxazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, benzo[*b*][1,4]dioxepinilo, 1,4-benzodioxanilo, benzonaftofuranilo, benzoxazolilo, benzodioxolilo, benzodioxinilo, benzopiranilo, benzopiranonilo, benzofuranilo, benzofuranonilo, benzotienilo (benzotiofenil), benzotriazolilo, benzo[4,6]imidazo[1,2-*a*]piridinilo, carbazolilo, cinolinilo, dibenzofuranilo, dibenzotiofenilo, furanilo, furanonilo, isotiazolilo, imidazolilo, indazolilo, indolilo, indazolilo, isoindolilo, indolinilo, isoindolinilo, isoquinolilo, indolizínilo, isoxazolilo, naftiridinilo, oxadiazolilo, 2-oxoazepinilo, oxazolilo, oxiranilo, 1-oxidopiridinilo, 1-oxidopirimidinilo, 1-oxidopirazinilo, 1-oxidopiridazinilo, 1-fenil-1*H*-pirrolilo, fenazinilo, fenotiazinilo, fenoxazinilo, ftalazinilo, pteridinilo, purinilo, pirrolilo, pirazolilo, piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, quinolinilo, quinuclidinilo, isoquinolinilo, tetrahydroquinolinilo, tiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, triazinilo, y tiofenilo (*i.e.*, tienilo).

Todos los grupos anteriores pueden ser bien sustituidos o no sustituidos. El término "sustituido" tal como se utiliza aquí significa que cualquiera de los grupos anteriores (por ejemplo alquilo, alquilenilo, alcoxi, arilo, cicloalquilo, haloalquilo, heterociclilo y/o heteroaril)

pueden ser funcionalizados adicionalmente en donde al menos un átomo de hidrógeno es reemplazado por un enlace a un sustituyente que no es átomo de hidrógeno. Al menos que se establezca específicamente en la especificación, un grupo sustituido puede incluir uno o más sustituyentes seleccionados de: oxo, amino, $-\text{CO}_2\text{H}$, nitrilo, nitro, hidroxilo, 5 tioxi, alquilo, alquilenilo, alcoxi, arilo, cicloalquilo, heterociclilo, heteroarilo, dialquilaminas, arilaminas, alquilarilaminas, diarilaminas, trialquilamonio ($-\text{N}^+\text{R}_3$), N-óxidos, imidas, y enaminas; un átomo de silicio en grupos tales como grupos trialquilsililo, grupos dialquilarilsililo, grupos alquildiarilsililo, grupos triarilsililo, perfluoroalquilo o perfluoroalcoxi, por ejemplo trifluorometilo o trifluorometoxi. “Sustituido” también significa 10 cualquiera de los grupos anteriores en los cuales uno o más átomos de hidrógeno son reemplazados por un enlace de orden alto (por ejemplo, un enlace doble o triple) a un heteroátomo tal como oxígeno en grupos oxo, carbonilo, carboxilo y éster; y nitrógeno en grupos tales como iminas, oximas, hidrazonas, y nitrilos. Por ejemplo, “sustituido” incluye cualquiera de los grupos anteriores en los cuales uno o más átomos de hidrógeno están reemplazados con $-\text{NH}_2$, $-\text{NR}_g\text{C}(=\text{O})\text{NR}_g\text{R}_h$, $-\text{NR}_g\text{C}(=\text{O})\text{OR}_h$, $-\text{NR}_g\text{SO}_2\text{R}_h$, $-\text{OC}(=\text{O})\text{NR}_g\text{R}_h$, 15 $-\text{OR}_g$, $-\text{SR}_g$, $-\text{SOR}_g$, $-\text{SO}_2\text{R}_g$, $-\text{OSO}_2\text{R}_g$, $-\text{SO}_2\text{OR}_g$, $=\text{NSO}_2\text{R}_g$, y $-\text{SO}_2\text{NR}_g\text{R}_h$. En lo que sigue R_g y R_h son los mismos o diferentes e independientemente hidrógeno, alquilo, alcoxi, alquilamino, tioalquilo, arilo, aralquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, haloalquilo, heterociclilo, N-heterociclilo, heterociclilalquilo, heteroarilo, N-heteroarilo y/o 20 heteroarilalquilo. Además, cada uno de los sustituyentes anteriores puede estar sustituido opcionalmente también con uno o más de los sustituyentes anteriores. Adicionalmente, cada uno de los grupos anteriores puede estar sustituido para incluir uno o más átomos de oxígeno, azufre o nitrógeno internos. Por ejemplo, un grupo alquilo puede estar sustituido con uno o más átomos de oxígeno internos para formar un grupo éter o 25 poliéter. De la misma manera, un grupo alquilo puede estar sustituido con uno o más átomos de azufre internos para formar un tioéter, disulfuro, etc.

El término “opcional” u “opcionalmente” significa que el evento o circunstancia subsecuentemente descrito puede o puede no ocurrir, y que la descripción incluye casos en donde dicho evento o circunstancia ocurre y casos en donde no. Por ejemplo, “alquilos 30 opcionalmente sustituidos” significa “alquilo” o “alquilo sustituido” como se definió más arriba. Adicionalmente, un grupo sustituido opcionalmente puede ser no sustituido (por ejemplo, $-\text{CH}_2\text{CH}_3$), completamente sustituido (por ejemplo, $-\text{CF}_2\text{CF}_3$), mono sustituido (por ejemplo, $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{F}$) o sustituido a un nivel en cualquier sitio entre completamente sustituido y mono sustituido (por ejemplo, $-\text{CH}_2\text{CHF}_2$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{CH}_3$, $-\text{CFHCHF}_2$, etc). 35 Será entendido por los experimentados en el arte con respecto a cualquier grupo que contiene uno o más sustituyentes que tales grupos no están previstos para introducir cualquier sustitución o patrón de sustitución (por ejemplo alquilo sustituido incluye opcionalmente grupos cicloalquilo, los cuales a su vez están definidos con la inclusión de grupos alquilo opcionalmente sustituidos, potencialmente hasta *ad infinitum*) que son 40 estéricamente imprácticos y/o sintéticamente no factibles. Así, cualquier sustituyente descrito debe entenderse en general con un peso molecular máximo de aproximadamente 1,000 daltons, y más típicamente, hasta aproximadamente 500 daltons.

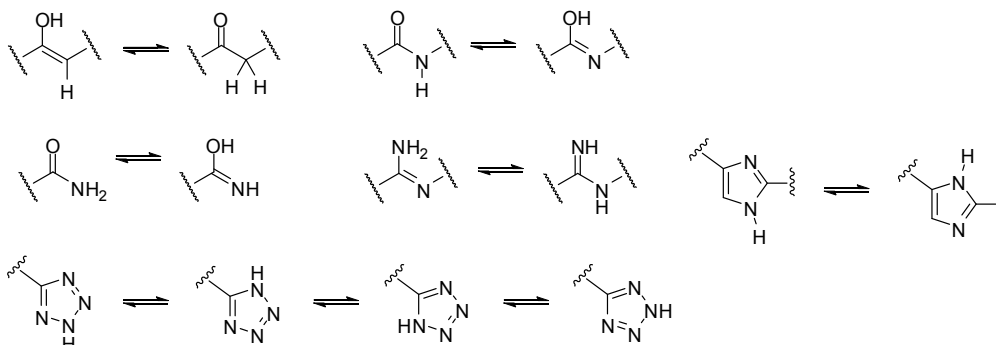
Una “cantidad efectiva” o “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a una cantidad de un compuesto administrada a un sujeto mamífero, bien sea como una dosis individual 45 o como una parte de una serie de dosis, la cual es efectiva para producir un efecto terapéutico deseado.

“Tratamiento” de un individuo (por ejemplo un mamífero, tal como un humano) o una célula es cualquier tipo de intervención utilizada en un intento para alterar el curso natural 50 del individuo o la célula. En algunas realizaciones, el tratamiento incluye la administración de una composición farmacéutica, subsecuente a la iniciación de un evento patológico o

5 contacto con un agente etiológico e incluye estabilización de la condición (por ejemplo, la condición no empeora) o alivio de la condición. En otras realizaciones, el tratamiento también incluye tratamiento profiláctico (por ejemplo, administración de una composición descrita aquí cuando se sospecha que un individuo está sufriendo de una infección bacteriana).

10 Un “tautómero” se refiere a un desplazamiento de protón de un átomo de una molécula a otro átomo de la misma molécula. Los compuestos presentados aquí pueden existir como tautómeros. Los tautómeros son compuestos que son interconvertibles por migración de un átomo de hidrógeno, acompañada por un desplazamiento de un enlace sencillo y un doble enlace adyacente. En disposiciones de enlace en donde la tautomerización es posible, existirá un equilibrio químico de los tautómeros. Todas las formas tautoméricas de los compuestos divulgados aquí son contempladas. La relación exacta de los tautómeros depende de varios factores, incluyendo temperatura, solvente y pH. Algunos ejemplos de interconversiones tautoméricas incluyen:

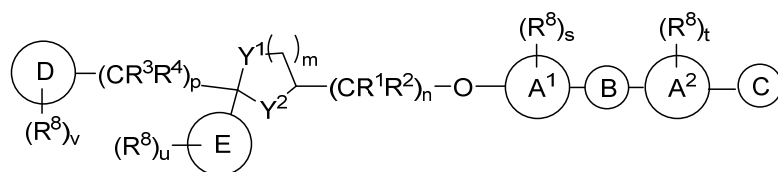
15



20 Un “metabolito” de un compuesto divulgado aquí es un derivado de ese compuesto que se forma cuando el compuesto es metabolizado. El término “metabolito activo” se refiere a un derivado activo biológicamente de un compuesto que se forma cuando el compuesto es metabolizado. El término “metabolizado” tal como se utiliza aquí, se refiere a la suma de los procesos (incluyendo pero no limitándose a, reacciones de hidrólisis y reacciones catalizadas por enzimas, tales como reacciones de oxidación) mediante las cuales una sustancia particular es cambiada por un organismo. Así, las enzimas pueden producir alteraciones estructurales específicas a un compuesto. Por ejemplo, el citocromo P450 cataliza una variedad de reacciones oxidativas y reductivas mientras que las difosfato glucuronil transferasas catalizan la transferencia de una molécula activada por ácido glucurónico a alcoholes aromáticos, alcoholes alifáticos, ácidos carboxílicos, amidas y grupos sulfhidrilo libres. Puede obtenerse información adicional sobre el metabolismo en The Pharmacological Basis of Therapeutics, 9th Edition, McGraw-Hill (1996). Los metabolitos de los compuestos divulgados aquí pueden ser identificados bien por administración de compuestos a un huésped y análisis de muestras de tejido del huésped, o por incubación de compuestos con células hepáticas *in vitro* y análisis de los compuestos resultantes. Algunos métodos son bien conocidos en el arte. En algunas realizaciones, los metabolitos de un compuesto se forman por procesos oxidativos y corresponden al compuesto correspondiente que contiene hidroxilo. En algunas realizaciones, un compuesto es metabolizado a metabolitos farmacológicamente activos.

Compuestos

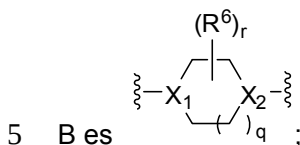
40 En un aspecto, se proveen aquí compuestos de la fórmula (II), una sal, solvato, polimorfo, profármaco, metabolito, N-óxido, estereoisómero o isómero del mismo farmacéuticamente aceptable:



Fórmula (II)

en donde :

A¹ y A² son seleccionados independientemente de arilo o heteroarilo;



C es heterociclilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido, en donde el heterociclilo o el heteroarilo contiene 1 a 4 átomos de nitrógeno;

D es arilo o heteroarilo;

10 E es arilo, heteroarilo, carbociclilo, heterociclilo, o alquilo;

cada R¹, R², R³, y R⁴ es seleccionado independientemente de H, alquilo, haloalquilo, o alcoxi;

X₁ y X₂ son seleccionados independientemente de N y CR⁵;

R⁵ es H, OH, alquilo, o alcoxi;

15 cada R⁶ es independientemente alquilo, haloalquilo, halo, alcoxi, -alquilen(NR¹³R¹⁴), o arilo;

R⁷ es alquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), cicloalquilo, heterociclilo, -alquilen(cicloalquil), o -alquilen(heterocicilil);

20 cada R⁸ es seleccionado independientemente de alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, halo, hidroxil, nitrilo, azido, nitro, alcoxi, haloalcoxi, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), -alquilen(cicloalquil), -alquilen(heterocicilil), arilo, heteroarilo, -SR¹³, -SOR¹³, -SO₂R¹³, -SO₂NR¹³R¹⁴, -NR¹³R¹⁴, -NR¹³SO₂R¹⁴, -NR¹³C(O)R¹⁴, -NR¹³C(O)OR¹⁴, -NR¹³C(O)NR¹³R¹⁴, -C(O)R¹⁴, -C(O)OR¹⁴, y -C(O)NR¹³R¹⁴; o dos R⁸ adyacentes forman un anillo heterociclilo;

25 cada R¹³ y R¹⁴ es seleccionado independientemente de H, alquilo, cicloalquilo, heterocicilalquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, arilo, y heteroarilo; o R¹³ y R¹⁴ tomados juntos forman un heterociclo con los átomos a los cuales están unidos;

Y¹ y Y² son seleccionados independientemente de O, CH₂, NH, y NR¹³;

30 n es 1, 2, o 3;

m es 1 o 2;

p es 1, 2, 3, o 4;

q es 1, 2, o 3;

r es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, o 8;

5 s es 0, 1, 2, 3, o 4;

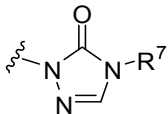
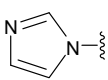
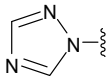
t es 0, 1, 2, 3, o 4;

u es 0, 1, 2, 3, 4 o 5;

v es 0, 1, 2, 3, o 4;

con la condición de que:

10 si X_1 y X_2 are N; r es 0; q es 1; A^1 y A^2 son fenilo; Y^1 y Y^2 are O; m y n son 1; R^1 , R^2 , R^3 , y

R^4 son hidrógeno; y C es , entonces D no es  o ; y

el compuesto no es 4-(4-(4-(4-((2-((1H-pirazol-1-il)metil)-2-(2,4-difluorofenil)-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)fenil)piperazin-1-il)fenil)-1-isopropil-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona.

15 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), X_1 y X_2 son N.

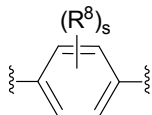
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), X_1 es CR^5 y X_2 es N.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), X_1 es N y X_2 es CR^5 .

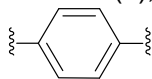
20 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), q es 1 y r es 0.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A^1 es arilo.

25 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A^1 es



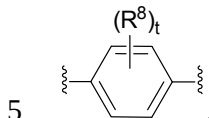
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A^1 es



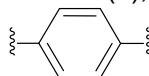
30 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A^1 es heteroarilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A² es arilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A² es



En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A² es

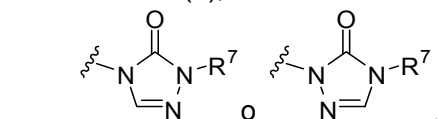


10 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A² es heteroarilo.

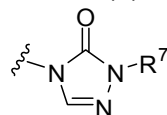
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), A² es piridinilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, o triazinilo.

15 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), C es heteroarilo de 5 o miembros opcionalmente sustituido. En otras realizaciones descritas más arriba y más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), C es heterociclilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido.

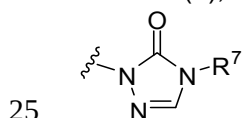
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), C es



En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), C es



En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), C es



En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), E es alquilo.

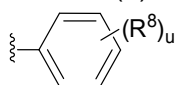
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), E es cicloalquilo.

30 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), E es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), E es heterociclilo.

35 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), E es arilo.

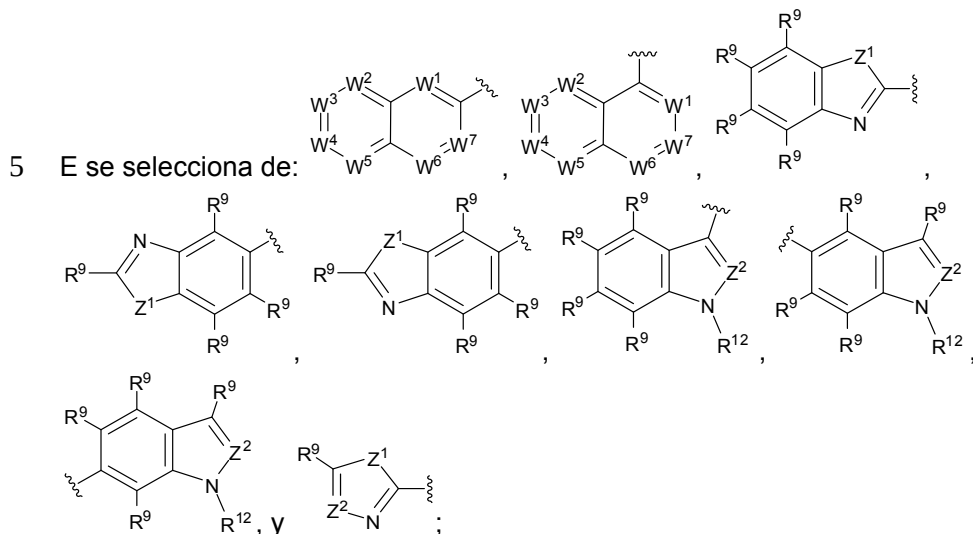
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), E es



y u es 0, 1, 2, 3, 4, o 5.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), E es heteroarilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II),



$W^1, W^2, W^3, W^4, W^5, W^6, \text{ y } W^7$ son seleccionados independientemente de N y CR^9 ;

Z^1 es NR^{12} , S, o O;

10 Z^2 es N o CR^9 ;

cada R^9 es seleccionado independientemente de H, halógeno, CN, NO_2 , alquilo, $-SR^{10}$, $-OR^{10}$, $-NR^{10}R^{11}$, $NR^{10}C(O)(\text{alquil})$, $-NR^{10}C(O)(\text{cicloalquil})$, $-NR^{10}C(O)(\text{heterocicloalquil})$,

$-NR^{10}C(O)(\text{aril})$, $-NR^{10}C(O)(\text{heteroaril})$, $-C(O)NR^{10}R^{11}$, $-C(O)NR^{10}(\text{cicloalquil})$,

$-C(O)NR^{10}(\text{heterocicloalquil})$, $-C(O)NR^{10}(\text{aril})$, $-C(O)NR^{10}(\text{heteroaril})$,

15 $-NR^{10}C(O)NR^{10}R^{11}$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(\text{cicloalquil})$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(\text{heterocicloalquil})$,

$-NR^{10}C(O)NR^{11}(\text{aril})$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(\text{heteroaril})$, $-NR^{10}C(O)O(\text{alquil})$,

$-NR^{10}C(O)O(\text{cicloalquil})$, $-NR^{10}C(O)O(\text{heterocicloalquil})$, $-NR^{10}C(O)O(\text{aril})$,

$-NR^{10}C(O)O(\text{heteroaril})$, $-NR^{10}SO_2(\text{alquil})$, $-NR^{10}SO_2(\text{cicloalquil})$,

$-NR^{10}SO_2(\text{heterocicloalquil})$, $-NR^{10}SO_2(\text{aril})$, $-NR^{10}SO_2(\text{heteroaril})$, $-SO_2NR^{10}R^{11}$,

20 $-SO_2NR^{10}(\text{cicloalquil})$, $-SO_2NR^{10}(\text{heterocicloalquil})$, $-SO_2NR^{10}(\text{aril})$,

$-SO_2NR^{10}(\text{heteroaril})$, haloalquilo, arilo, y heteroarilo;

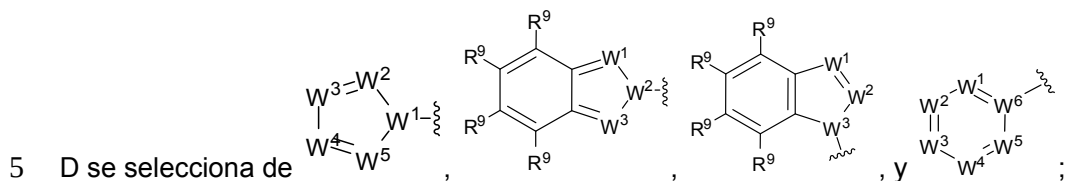
cada R^{10} y R^{11} es seleccionado independientemente de H y alquilo; o R^{10} y R^{11} tomados juntos forman un heterociclo con el nitrógeno al cual están unidos; y

R^{12} es H, alquilo o haloalquilo.

25 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), D es arilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), D es heteroarilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II),



W^1 , W^2 , W^3 , W^4 , y W^5 son seleccionados independientemente de N y CR^9 ;

W^6 es N o C; y

cada R^9 es seleccionado independientemente de H, halógeno, CN, NO_2 , alquilo, $-SR^{10}$, $-OR^{10}$, $-NR^{10}R^{11}$, $NR^{10}C(O)(alquil)$, $-NR^{10}C(O)(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)(heterocicloalquil)$,

10 $-NR^{10}C(O)(aril)$, $-NR^{10}C(O)(heteroaril)$, $-C(O)NR^{10}R^{11}$, $-C(O)NR^{10}(cicloalquil)$,

$-C(O)NR^{10}(heterocicloalquil)$, $-C(O)NR^{10}(aril)$, $-C(O)NR^{10}(heteroaril)$,

$-NR^{10}C(O)NR^{10}R^{11}$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heterocicloalquil)$,

$-NR^{10}C(O)NR^{11}(aril)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heteroaril)$, $-NR^{10}C(O)O(alquil)$,

$-NR^{10}C(O)O(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)O(heterocicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)O(aril)$,

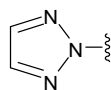
15 $-NR^{10}C(O)O(heteroaril)$, $-NR^{10}SO_2(alquil)$, $-NR^{10}SO_2(cicloalquil)$,

$-NR^{10}SO_2(heterocicloalquil)$, $-NR^{10}SO_2(aril)$, $-NR^{10}SO_2(heteroaril)$, $-SO_2NR^{10}R^{11}$,

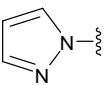
$-SO_2NR^{10}(cicloalquil)$, $-SO_2NR^{10}(heterocicloalquil)$, $-SO_2NR^{10}(aril)$,

$-SO_2NR^{10}(heteroaril)$, haloalquilo, arilo, y heteroarilo.

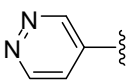
20 En ciertas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), D es



. En ciertas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), D es



. En ciertas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), D es



25

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), Y^1 y Y^2 son O.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), m es 1.

- 5 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), p es 1, 2, o 3.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), p es 1.

- 10 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (II), R^1 , R^2 , R^3 , y R^4 son hidrógeno.

- Se provee aquí adicionalmente un método para tratar una enfermedad o condición en un sujeto que así lo requiere, comprendiendo el método administrar al sujeto uno o más compuestos identificados aquí. La enfermedad o condición puede ser una fibrosis. La fibrosis puede ser una fibrosis de hígado. La fibrosis de hígado puede ser fibrosis pulmonar idiopática.
- 15

- Se provee aquí un método para tratar una enfermedad o condición en un sujeto que así lo requiere, comprendiendo el método administrar al sujeto uno o más compuestos identificados aquí. La enfermedad o condición puede ser una fibrosis. La fibrosis puede ser una enfermedad autoinmune crónica. La enfermedad autoinmune crónica puede ser artritis reumatoide, escleroderma, enfermedad de Crohn o lupus eritematoso sistémico.
- 20

Preparación de compuestos

- Se describen aquí compuestos que tratan fibrosis, un trastorno caracterizado por fibrosis, o una enfermedad caracterizada por fibrosis, y procesos para su preparación. También se describen aquí sales farmacéuticamente aceptables, solvatos farmacéuticamente aceptables, metabolitos farmacéuticamente aceptables y profármacos farmacéuticamente aceptables de tales compuestos. También se proveen composiciones farmacéuticas que comprenden al menos uno de tales compuestos o una sal farmacéuticamente aceptable, un solvato farmacéuticamente aceptable, un metabolito farmacéuticamente aceptable o un profármaco farmacéuticamente aceptable de tal compuesto, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 25
- 30

- Los compuestos de la fórmula (I) o la fórmula (I)I pueden ser sintetizados usando reacciones sintéticas estándar conocidas para los experimentados en el arte, utilizando métodos conocidos en el arte. Las reacciones pueden ser empleadas en una secuencia lineal para proveer los compuestos o pueden ser utilizadas para sintetizar fragmentos que subsecuentemente son unidos por los métodos conocidos en el arte.
- 35

- El material de partida usado para la síntesis de los compuestos descritos aquí puede ser sintetizado o puede ser obtenido a partir de fuentes comerciales, tales como, por ejemplo, pero no limitándose a, Aldrich Chemical Co. (Milwaukee, Wisconsin), Bachem (Torrance, California), o Sigma Chemical Co. (St. Louis, Mo.). Los compuestos descritos aquí, y otros compuestos relacionados que tienen diferentes sustituyentes pueden ser sintetizados utilizando técnicas y materiales conocidos para los experimentados en el arte, tales como los descritos, por ejemplo en March, ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY 4th Ed., (Wiley 1992); Carey y Sundberg, ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY 4th Ed., Vols. A y B (Plenum 2000, 2001); Green y Wuts, PROTECTIVE GROUPS IN ORGANIC SYNTHESIS 3rd Ed.,
- 40

- (Wiley 1999); Fieser y Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Volumes 1-17 (John Wiley y Sons, 1991); Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Volumes 1-5 y Supplementals (Elsevier Science Publishers, 1989); Organic Reactions, Volumes 1-40 (John Wiley y Sons, 1991); y Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989). (Todos los cuales se incorporan como referencia en su totalidad).
5 Otros métodos para la síntesis de compuestos descritos aquí pueden encontrarse en la Publicación Internacional de Patente No. WO 01/01982901, Arnold et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 10 (2000) 2167-2170; Burchat et al. Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 12 (2002) 1687-1690. Métodos generales para la preparación del
10 compuesto tal como se divulga aquí pueden derivarse de reacciones conocidas en el campo, y las reacciones pueden ser modificadas mediante el uso de reactivos y condiciones apropiadas, tal como lo podría reconocer una persona experimentada, para la introducción de las diversas unidades estructurales encontradas en las fórmulas tal como se proveen aquí.
- 15 Los productos de las reacciones pueden ser aislados y purificados, si se desea, usando técnicas convencionales, incluyendo, pero no limitadas a, filtración, destilación, cristalización, cromatografía y similares. Tales materiales pueden ser caracterizados utilizando medios convencionales, incluyendo constantes físicas y datos espectrales.
- 20 Los compuestos descritos aquí pueden ser preparados como un isómero individual o como una mezcla de isómeros.

Formas adicionales de los compuestos divulgados aquí

Isómeros

- Adicionalmente, en algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí existen como isómeros geométricos. En algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí poseen
25 uno o más dobles enlaces. Los compuestos presentados aquí incluyen todos los isómeros cis, trans, syn, anti, *entgegen* (*E*) y *zusammen* (*Z*) así como las mezclas correspondientes de los mismos. En algunas situaciones, existen compuestos como tautómeros. Los compuestos descritos aquí incluyen todos los posibles tautómeros dentro de las fórmulas descritas aquí. En algunas situaciones, los compuestos descritos aquí
30 poseen uno o más centros quirales y cada centro existe en la configuración R, o configuración S. Los compuestos descritos aquí incluyen todas las formas diastereoméricas, enantioméricas o epiméricas así como las mezclas correspondientes de las mismas. En realizaciones adicionales de los compuestos y métodos provistos aquí, mezclas de enantiómeros y/o diastereoisómeros, resultantes de una etapa de
35 preparación, combinación o interconversión individuales son útiles para las aplicaciones descritas aquí. En algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí se preparan como estereoisómeros individuales haciendo reaccionar una mezcla racémica del compuesto con un agente de resolución ópticamente activo para formar un par de compuestos diastereoisoméricos, que separan los diastereómeros y recuperan los
40 enantiómeros ópticamente puros. En algunas realizaciones, se prefieren complejos disociables (por ejemplo, sales diastereoméricas cristalinas). En algunas realizaciones, los diastereómeros tienen propiedades físicas distintas (por ejemplo, puntos de fusión, puntos de ebullición, solubilidades, reactividad, etc.) y son separados utilizando las ventajas de estas disimilitudes. En algunas realizaciones, los diastereómeros son
45 separados por cromatografía quiral, o preferiblemente, por técnicas de separación/resolución basadas en diferencias en solubilidad. En algunas realizaciones, el enantiómero ópticamente puro es recuperado entonces, junto con el agente de resolución, por cualquier medio práctico que no de cómo resultado la racemización.

Compuestos marcados

En algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí existen en sus formas isotópicamente marcadas. En algunas realizaciones, los métodos divulgados aquí incluyen métodos para el tratamiento de enfermedades administrando tales compuestos isotópicamente marcados. En algunas realizaciones, los métodos divulgados aquí incluyen métodos para tratar enfermedades administrando tales compuestos isotópicamente marcados como composiciones farmacéuticas. Así, en algunas realizaciones, los compuestos divulgados aquí incluyen compuestos isotópicamente marcados, los cuales son idénticos a los citados aquí, pero con el hecho de que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o un número de masa diferente de la masa atómica o número de masa usualmente encontrados en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que pueden ser incorporados en compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , y ^{36}Cl , respectivamente. Los compuestos descritos aquí, y los metabolitos, sales, ésteres, profármacos, solvatos, hidratos o derivados de los mismos farmacéuticamente aceptables que contienen los isótopos antes mencionados y/o otros isótopos de otros átomos están dentro del alcance de esta invención. Ciertos compuestos isotópicamente marcados, por ejemplo aquellos en los cuales se incorporan isótopos radiactivos tales como ^3H y ^{14}C son útiles en ensayos de distribución de fármaco y/o sustrato en tejido. Isótopos tritiados, esto es, ^3H y carbono-14, esto es ^{14}C , son preferidos particularmente por su facilidad de preparación y detectabilidad. Adicionalmente la sustitución con isótopos pesados tales como deuterio, esto es ^2H , produce ciertas ventajas terapéuticas resultantes de su mayor estabilidad metabólica, por ejemplo su incremento en la vida media *in vivo* o requerimientos de sodificación reducidos. En algunas realizaciones, los compuestos isotópicamente marcados, sales, ésteres, profármacos, solvatos, hidratos o derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos son preparados por cualquier método adecuado.

En algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí son marcados por otros medios, incluyendo, pero no limitándose a, el uso de cromóforos o unidades estructurales fluorescentes, bioluminiscentes, marcadores o marcadores quimioluminiscentes.

Sales farmacéuticamente aceptables

En algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí existen como sus sales farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, los métodos divulgados aquí incluyen métodos para tratar enfermedades administrando tales sales farmacéuticamente aceptables. En algunas realizaciones, los métodos divulgados aquí incluyen métodos para tratar enfermedades administrando tales sales farmacéuticamente aceptables como composiciones farmacéuticas.

En algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí poseen grupos ácidos o básicos y por lo tanto reaccionan con cualquier número de bases inorgánicas u orgánicas, y ácidos inorgánicos y orgánicos, para formar una sal farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, estas sales son preparadas *in situ* durante el aislamiento y purificación finales de los compuestos de la invención, o haciendo reaccionar separadamente un compuesto purificado en su forma libre con un ácido o base adecuados y aislando la sal así formada.

Ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen aquellas sales preparadas por reacción de los compuestos descritos aquí con un ácido mineral orgánico o base inorgánica, incluyendo tales sales, acetato, acrilato, adipato, alginato, aspartato,

benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, bisulfito, bromuro, butirato, butin-1,4-dioato, canforato, canforsulfonato, caproato, caprilato, clorobenzoato, cloruro, citrato, ciclopentanopropionato, decanoato, digluconato, dihidrogenofosfato, dinitrobenzoato, dodecilsulfato, etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptanoato, glicerofosfato, 5 glicolato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hexin-1,6-dioato, hidroxibenzoato, γ -hidroxibutirato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, yoduro, isobutirato, lactato, maleato, malonato, metanosulfonato, mandelato, metafosfato, metanosulfonato, metoxibenzoato, metilbenzoato, monohidrógenofosfato, 1-naftalenosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, pamoato, pectinato, 10 persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, pirofosfato, pirofosfato, propiolato, ftalato, fenilacetato, fenilbutirato, propanosulfonato, salicilato, succinato, sulfato, sulfito, succinato, suberato, sebacato, sulfonato, tartrato, tiocianato, tosilato undecanoato y xilenosulfonato.

Adicionalmente, los compuestos descritos aquí pueden ser preparados como sales 15 farmacéuticamente aceptables formadas por la reacción de la forma en base libre del compuesto con un ácido inorgánico u orgánico farmacéuticamente aceptable que incluye, pero no se limita a, ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido metafosfórico, y similares; y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido 20 ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido p-toluenosulfónico, ácido tartárico, ácido trifluoroacético, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido arilsulfónico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etanodisulfónico, ácido 25 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-metilbencilo-[2.2.2]oct-2-en-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 4,4'-metilbis-(ácido 3-hidroxi-2-en-1 -carboxílico), ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido lauril sulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico y ácido mucónico. En 30 algunas realizaciones, otros ácidos, tales como ácido oxálico, mientras que no son por sí mismos farmacéuticamente aceptables, son empleados en la preparación de sales útiles como intermediarios en la obtención de los compuestos de la invención y sus sales de adición ácida farmacéuticamente aceptables.

En algunas realizaciones, aquellos compuestos descritos aquí que comprenden un grupo 35 ácido libre reaccionan con una base adecuada, tal como el hidróxido, carbonato, bicarbonato, sulfato, de un catión metálico farmacéuticamente aceptable, con amoníaco o con una amina orgánica primaria, secundaria, terciaria o cuaternaria farmacéuticamente aceptable. Sales representativas incluyen las sales alcalinas o alcalinotérreas, tales como sales de litio, sodio, potasio, calcio y magnesio, y aluminio y similares. Ejemplos 40 ilustrativos de bases incluyen hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de colina, carbonato de sodio, $N^+(C_{1-4} \text{ alquil})_4$, y similares.

Aminas orgánicas representativas útiles para la formación de sales de adición básica incluyen etilamina, dietilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina y 45 similares. Debe entenderse que los compuestos descritos aquí incluyen también la cuaternización de cualquier grupo que contiene nitrógeno básico que ellos contengan. En algunas realizaciones, se obtienen productos solubles en agua o aceite o dispersables mediante tal cuaternización.

Solvatos

En algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí existen como solvatos. La

invención provee métodos para tratar enfermedades administrando tales solvatos. La invención provee adicionalmente métodos para tratar enfermedades administrando tales solvatos como composiciones farmacéuticas.

- 5 Los solvatos contienen cantidades bien sea estequiométricas o no estequiométricas de un solvente y, en algunas realizaciones, se forman durante el proceso de cristalización con solventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares. Se forman hidratos cuando el solvente es agua, o alcoholatos cuando el solvente es alcohol. Los solvatos de los compuestos descritos aquí pueden ser preparados o formarse convenientemente durante los procesos descritos aquí. A manera de ejemplo solamente, 10 los hidratos de los compuestos descritos aquí pueden ser preparados convenientemente por recristalización a partir de una mezcla de solventes acuosos/orgánicos, utilizando solventes orgánicos que incluyen, pero no se limitan a, dioxano, tetrahidrofurano o metanol. Además, los compuestos provistos aquí pueden existir en formas no solvatadas así como solvatadas. En general, las formas solvatadas se consideran equivalentes a las 15 formas no solvatadas para propósitos de los compuestos y métodos provistos aquí.

Polimorfos

- En algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí existen como polimorfos. La invención provee métodos para tratar enfermedades administrando tales polimorfos. La invención provee adicionalmente métodos para tratar enfermedades administrando tales 20 polimorfos en forma de composiciones farmacéuticas.

- Así, los compuestos descritos aquí incluyen todas las formas cristalinas, conocidas como polimorfos. Los polimorfos incluyen los arreglos de empaquetamiento cristalino diferentes de la misma composición elemental de un compuesto. En ciertos casos, los polimorfos tienen diferentes patrones de difracción por rayos X, espectros infrarrojos, puntos de 25 fusión, densidad, dureza, forma cristalina, propiedades ópticas y eléctricas, estabilidad y solubilidad. En ciertos casos, diversos factores tales como el solvente de recristalización, rata de cristalización y temperatura de almacenamiento hacen que una forma cristalina individual domine.

Profármacos

- 30 En algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí existen en forma de profármacos. La invención provee métodos para tratar enfermedades administrando tales profármacos. La invención provee adicionalmente métodos para tratar enfermedades administrando tales profármacos como composiciones farmacéuticas.

- Los profármacos son en general precursores de los fármacos que, después de la 35 administración a un individuo y subsecuente absorción, son convertidos en una especie activa, o más activa a través de algunos procesos, tales como conversión mediante una ruta metabólica. Algunos profármacos tienen un grupo químico presente sobre el profármaco que lo hace menos activo y/o le confiere solubilidad o alguna otra propiedad al fármaco. Una vez que el grupo químico ha sido escindido y/o modificado desde el 40 profármaco el fármaco activo es generado. Los profármacos se utilizan frecuentemente porque, en algunas situaciones, son más fáciles de administrar que el fármaco original. Por ejemplo, son biodisponibles por administración oral mientras que el original no lo es. En ciertos casos, el profármaco también tiene solubilidad mejorada en composiciones farmacéuticas con respecto al fármaco original. Un ejemplo, sin limitación, de un 45 profármaco sería un compuesto tal como el descrito aquí el cual es administrado en forma de éster (el "profármaco") para facilitar la transmisión a través de una membrana celular en donde la solubilidad en agua afecta la movilidad pero que luego es hidrolizado

metabólicamente al ácido carboxílico, la entidad activa, una vez dentro de la célula donde la solubilidad en agua es beneficiosa. Un ejemplo adicional de un profármaco puede ser un péptido corto (un poliaminoácido) enlazado a un grupo ácido en donde el péptido es metabolizado para liberar la unidad estructural activa (véase por ejemplo Bundgaard, "Design and Application of Prodrugs" in *A Textbook of Drug Design and Development*, Krosgaard-Larsen and Bundgaard, Ed., 1991, Chapter 5, 113-191, la cual se incorpora aquí como referencia).

En algunas realizaciones, los profármacos son diseñados como derivados de fármacos reversibles, para uso como modificadores para potenciar el transporte del fármaco a tejidos específicos del sitio. El diseño de profármacos hasta la fecha se ha hecho para incrementar la solubilidad efectiva en agua del compuesto terapéutico para apuntar a regiones donde el agua es el principal solvente.

Adicionalmente, los derivados del profármaco de los compuestos descritos aquí pueden ser preparados por métodos descritos aquí y de otra forma conocidos en el arte (para detalles adicionales véase Saulnier *et al.*, *Bioorganic y Medicinal Chemistry Letters*, 1994, 4, 1985). A manera de ejemplo solamente, pueden prepararse profármacos apropiados haciendo reaccionar un compuesto no derivado con un agente carbamilante, tal como, pero no limitándose a, 1,1-aciloxialquilcarbanoclorhidrato, carbonato de para-nitrofenilo, o similares. Formas de profármaco de los compuestos aquí descritos, en donde el profármaco es metabolizado *in vivo* para producir un derivado tal como se determina aquí están incluidas dentro del alcance de las reivindicaciones. En efecto, algunos de los compuestos aquí descritos son profármacos para otro derivado o compuesto activo.

En algunas realizaciones, los profármacos incluyen compuestos en donde un residuo aminoácido, o una cadena polipeptídica de dos o más (por ejemplo, dos, tres o cuatro) residuos de aminoácidos está unida covalentemente a través de un enlace amida o éster a un grupo amino, hidroxilo o ácido carboxílico libre de compuestos de la presente invención. Los residuos de aminoácidos incluyen pero no se limitan a los 20 aminoácidos de origen natural y también incluyen 4-hidroxiprolina, hidroxilisina, demosina, isodemosina, 3-metilhistidina, norvalina, beta-alanina, ácido gamma-aminobutírico, citrulina, homocisteína, homoserina, ornitina y metionina sulfona. En algunas realizaciones, los profármacos incluyen compuestos en donde un residuo de ácidos nucleicos, o un oligonucleótido de dos o más (por ejemplo, dos, tres o cuatro) residuos de ácidos nucleicos están unido covalentemente a un compuesto de la presente invención.

Profármacos farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos aquí incluyen también, pero no se limitan a, ésteres, carbonatos, tiocarbonatos, derivados N-acilo, derivados N-aciloxialquilo, derivados cuaternarios de aminas terciarias, bases N de Mannich, bases de Schiff, conjugados de aminoácidos, ésteres de fosfato, sales metálicas y ésteres de sulfonato. Los compuestos que tienen grupos amino, amido, hidroxilo o carboxílico libres pueden ser convertidos en profármacos. Por ejemplo los grupos carboxilo libres pueden ser derivados como amidas o ésteres de alquilo. En ciertos casos, todas estas unidades estructurales profármaco incorporan grupos que incluyen pero no se limitan a funcionalidades éter, amina y ácido carboxílico.

Profármacos hidroxilo incluyen ésteres, tales como aunque no limitándose a, ésteres de aciloxialquilo (por ejemplo aciloximetilo, aciloxietilo) ésteres de alcóxicarboniloxialquilo, ésteres de alquilo, ésteres de arilo, ésteres de fosfato, ésteres de sulfonato, ésteres de sulfato y ésteres que contienen disulfuro.; éteres, amidas, carbamatos, hemisuccinatos, dimetilaminoacetatos y fosforiloximetiloxycarbonilos, tal como se delinea en *Advanced Drug Delivery Reviews* 1996, 19, 115.

Chemical structures of various carbonyl compounds and their derivatives, including amides, ureas, and carbamates, are shown. The structures are arranged in three rows, illustrating different functional groups and their derivatives.

5 En ciertos casos, los sitios en cualquier porción del anillo aromático son susceptibles de diversas reacciones metabólicas, por lo cual la incorporación de sustituyentes apropiados sobre las estructuras del anillo aromático puede reducir, minimizar o eliminar esta ruta metabólica.

10 En algunas realizaciones, los compuestos de la fórmula (I) o la fórmula (II) son susceptibles a diversas reacciones metabólicas. Por lo tanto, en algunas realizaciones, la incorporación de sustituyentes apropiados en la estructura reducirá, minimizará o eliminará una ruta metabólica. En realizaciones específicas, el sustituyente apropiado para disminuir o eliminar la susceptibilidad de un anillo aromático a reacciones
15 metabólicas, es a manera de ejemplo solamente, un halógeno, o un grupo alquilo.

20 Composiciones/Formulaciones farmacéuticas

25 En algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí son formulados en composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas son formuladas de una manera convencional utilizando uno o más ingredientes inactivos farmacéuticamente aceptables que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que pueden ser utilizadas farmacéuticamente. Una formulación apropiada depende de la

30 ruta de administración escogida. Un resumen de composiciones farmacéuticas descritas aquí pueden encontrarse, por ejemplo, en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Nineteenth Ed (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. and Lachman, L., Eds., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, New York, N.Y., 1980; y Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, Seventh Ed. (Lippincott Williams & Wilkins 1999), incorporadas aquí como

35

referencia para tal divulgación.

Se proveen aquí composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto de la fórmula (I) o la fórmula (II) y al menos un ingrediente inactivo farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí son administrados como composiciones farmacéuticas en las cuales un compuesto de fórmula (I) o fórmula (II) es mezclado con otros ingredientes activos, como en una terapia de combinación. En otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas incluyen otros agentes medicinales o farmacéuticos, vehículos, adyuvantes, conservantes, estabilizantes, agentes de humectación o emulsificación, promotores de la disolución, sales para regular la presión osmótica y/o reguladores. En aún otras realizaciones, las composiciones farmacéuticas incluyen otras sustancias terapéuticamente valiosas.

Una composición farmacéutica, tal como se usa aquí, se refiere a una mezcla de un compuesto de fórmula (I) o fórmula (II) con otros componentes químicos (esto es, ingredientes inactivos farmacéuticamente aceptables), tales como vehículos, excipientes, aglomerantes, agentes de relleno, agentes de suspensión, agentes saborizantes, agentes endulzantes, agentes de desintegración, agentes dispersantes, surfactantes, lubricantes, colorantes, diluyentes, solubilizantes, agentes de humidificación, plastificantes, estabilizadores, potenciadores de la penetración, agentes de humectación, agentes antiespumantes, antioxidantes, conservantes o una o más combinaciones de los mismos. La composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo. En la práctica de los métodos de tratamiento o uso provistos aquí, cantidades terapéuticamente efectivas de compuestos descritos aquí son administradas en una composición farmacéutica a un mamífero que tiene una enfermedad, trastorno o condición para ser tratada. En algunas realizaciones, el mamífero es un humano. Una cantidad terapéuticamente efectiva puede variar ampliamente dependiendo de la severidad de la enfermedad, la edad y salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto utilizado y otros factores. Los compuestos pueden ser utilizados individualmente o en combinación con uno o más agentes terapéuticos como componentes de mezcla.

Las formulaciones farmacéuticas descritas aquí son administradas a un sujeto por rutas de administración apropiadas, incluyendo pero no limitándose a, rutas de administración oral parenteral (por ejemplo, intravenosa, subcutánea, intramuscular), intranasal, bucal, tópica, rectal o transdérmica. Las formulaciones farmacéuticas descritas aquí incluyen, pero no se limitan a, dispersiones líquidas acuosas, líquidos, geles, jarabes, elixires, pastas, suspensiones, dispersiones autoemulsificantes, soluciones sólidas, dispersiones liposómicas, aerosoles, formas de dosificación oral sólidas, polvos, formulaciones para liberación inmediata, formulaciones para liberación controlada, formulaciones para fundición rápida, tabletas, cápsulas, píldoras, polvos, grageas, formulaciones efervescentes, formulaciones liofilizadas, formulaciones de liberación retardada, formulaciones liberación extendida, formulaciones de liberación por pulsos, formulaciones en multipartículas, y formulaciones de liberación inmediata y controlada mixtas.

Las composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto de la fórmula (I) o fórmula (II) son manufacturadas de manera convencional tales como, a manera de ejemplo solamente, por medio de procesos convencionales de mezcla, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsificación, encapsulación, atrapamiento o compresión.

Las composiciones farmacéuticas incluirán al menos un compuesto de fórmula (I) o fórmula (II) en forma de un ingrediente activo en forma de ácido libre o base libre, o en una forma de sal farmacéuticamente aceptable. Además, los métodos y composiciones farmacéuticas descritas aquí incluyen el uso de N-óxidos (si es apropiado), formas

5 cristalinas, fases amorfas, así como metabolitos activos de estos compuestos que tienen el mismo tipo de actividad. En algunas realizaciones, los compuestos descritos aquí existen en forma no solvatada o en formas solvatadas con solventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares. Las formas solvatadas de los compuestos presentadas aquí también se consideran como divulgadas aquí.

10 Las preparaciones farmacéuticas para uso oral son obtenidas mezclando uno o más excipientes sólidos con uno o más de los compuestos descritos aquí, opcionalmente triturando la mezcla resultante y procesando la mezcla de gránulos, después de agregar auxiliares adecuados, si se desea, para obtener tabletas o núcleos de grageas.

15 Excipientes adecuados incluyen, por ejemplo, agentes de relleno tales como azúcares, incluyendo lactosa, sacarosa, manitol o sorbitol; preparaciones en celulosa tales como, por ejemplo, almidón de maíz, almidón de trigo, almidón de arroz, almidón de patata, gelatina, goma tragacanto, metil celulosa, celulosa microcristalina, hidroxipropilmetilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio; u otros tales como

20 polivinilpirrolidona (PVP o povidona) o fosfato de calcio. Si se desea, se agregan agentes de desintegración, tales como la croscarmelosa de sodio entrecruzada, polivinilpirrolidona, agar, o ácido algínico o una sal del mismo tal como alginato de sodio. En algunas realizaciones, se agregan colorantes o pigmentos a las tabletas o recubrimientos de grageas para identificación o para caracterizar diferentes combinaciones de dosis de compuestos activos.

25 Las preparaciones farmacéuticas que son administradas oralmente incluyen cápsulas de ajuste por presión hechas de gelatina, así como cápsulas selladas blandas hechas de gelatina y un plastificante, tal como glicerol o sorbitol. Las cápsulas ajustadas por presión contienen los ingredientes activos en mezcla con un agente de relleno tal como lactosa, aglomerantes tales como almidones, y/o lubricantes tales como talco o estearato de magnesio y opcionalmente, estabilizantes. En cápsulas blandas, los compuestos activos son disueltos o suspendidos en líquidos adecuados, tales como ácidos grasos, parafina líquida, o polietilen glicoles líquidos. En algunas realizaciones, se utilizan estabilizantes.

30 En ciertas realizaciones, pueden emplearse sistemas de administración para composiciones farmacéuticas, tales como, por ejemplo, liposomas y emulsiones. En ciertas realizaciones, las composiciones provistas aquí pueden incluir también un polímero mucoadhesivo, seleccionado de entre, por ejemplo, carboximetilcelulosa, carbómero (polímero de ácido acrílico), poli (metilmetacrilato), poliacrilamida, policarbófilo, copolímero de ácido acrílico/acrilato de butilo, alginato de sodio y dextrano.

35 Tratamiento de combinación

Los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) o fórmula (II) pueden ser utilizados en combinación con uno o más agentes antifibróticos adicionales. El agente antifibrótico puede ser un antagonista del ácido lisofosfatídico I (LPAI). El agente fibrótico puede ser

40 seleccionado de pirfenidona, nintedanib, talidomida, carlumab, FG-3019, fresolimumab, alfa interferón, superóxido dismutasa lecitinizada, simtuzumab, tanzisertib, tralokinumab, hu3G9, huTBTI3_2_1, 2126458, AM-152, IFN-gamma-1b, IW-001, PRM-151, PXS-25, pentoxifilina/N-acetil-cisteína, pentoxifilina/vitamina E, salbutamol sulfato, [Sar9, Met(O2)11]-Sustancia P, pentoxifilina, bitartrato de mercaptamina, ácido obeticólico, aramcol, GFT-505, icosapentetil etil éster, clorhidrato de metformina,

45 metrelleptina, muromonab-CD3, oltipraz, IMM-124-E, MK-4074, PX-102, y RO-5093151.

Los compuestos de acuerdo con la fórmula (I) o fórmula (II) pueden ser usados en combinación con uno o más agentes antifúngicos de azol adicionales. El agente antifúngico de azol puede ser seleccionado de un antifúngico de imidazol, un antifúngico

- de triazol o un antifúngico de triazol. Ejemplos de tales agentes antifúngicos incluyen, pero no se limitan a, derivados de imidazol tales como miconazol, ketoconazol, clotrimazol, clomidazol, croconazol, econazol, omoconazol, bifonazol, butoconazol, fenticonazol, isoconazol, miconazol, neticonazol, oxiconazol, sertaconazol, sulconazol, tioconazol;
- 5 derivados de triazol tales como fluconazol, fosfluconazol, hexaconazol, itraconazol, isavuconazol, posaconazol, voriconazol, terconazol, albaconazol; y derivados de triazol como abafungina.

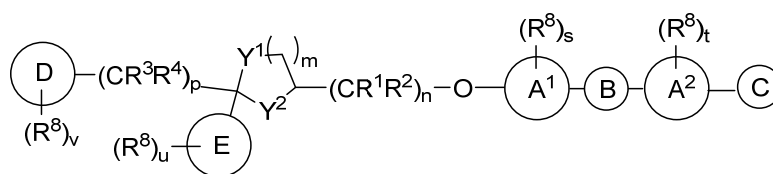
Administración de la composición farmacéutica

- Rutas adecuadas de administración incluyen, pero no se limitan a, administración oral, intravenosa, rectal, por aerosol, parenteral, oftálmica, pulmonar, transmucosa, transdérmica, vaginal, ótica, nasal y tópica. Además, a manera de ejemplo solamente, la administración parenteral incluye inyecciones intramusculares, subcutáneas, intravenosas, intramedulares, así como inyecciones intratecales, intraventricular directa, intraperitoneales, intralinfáticas e intranasales.
- 15 En algunas realizaciones, los compuestos de la fórmula (I) o fórmula (II) y las composiciones de los mismos son administradas de cualquier manera adecuada. La forma de administración puede ser escogida con base, por ejemplo, en si se desea un tratamiento local o sistémico, y del área que va a ser tratada. Por ejemplo, las composiciones pueden ser administradas oralmente, por vía parenteral (por ejemplo,
- 20 inyección intravenosa, subcutánea, intraperitoneal o intramuscular), por inhalación, por vía extracorpórea, por vía tópica (incluyendo transdérmica, oftálmica, vaginal, rectal, intranasal) o similares.

- La administración parenteral de la composición, si se usa, está caracterizada generalmente por inyección. Los inyectables pueden ser preparados en formas convencionales, bien sea como soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en un líquido antes de la inyección, o como emulsiones. Una metodología más recientemente revisada para administración parenteral involucra el uso de un sistema de liberación lenta o liberación sostenida de tal forma que se mantiene una dosificación constante.
- 25

30 Métodos

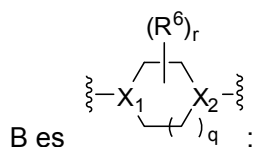
- En un aspecto, se provee aquí un método para tratar fibrosis, un trastorno caracterizado por fibrosis, o una enfermedad caracterizada por fibrosis, comprendiendo el método la administración de una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I), una sal, solvato, polimorfo, profármaco,
- 35 metabolito, N-óxido, estereoisómero o isómero del mismo farmacéuticamente aceptable:



Fórmula (I)

en donde:

A¹ y A² son seleccionados independientemente de arilo o heteroarilo;



C es heterociclilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido, en donde el heterociclilo o el heteroarilo contiene 1 a 4 átomos de nitrógeno;

D es arilo o heteroarilo;

E es arilo, heteroarilo, carbociclilo, heterociclilo, o alquilo;

cada R¹, R², R³, y R⁴ es seleccionado independientemente de H, alquilo, haloalquilo, o alcoxi;

10 X₁ y X₂ son seleccionados independientemente de N y CR⁵;

R⁵ es H, OH, alquilo, o alcoxi;

cada R⁶ es independientemente alquilo, haloalquilo, halo, alcoxi, -alquilen(NR¹³R¹⁴), o arilo;

15 cada R⁸ es seleccionado independientemente de alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, halo, hidroxilo, nitrilo, azido, nitro, alcoxi, haloalcoxi, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), -alquilen(cicloalquil), -alquilen(heterociclil), arilo, heteroarilo, -SR¹³, -SOR¹³, -SO₂R¹³, -SO₂NR¹³R¹⁴, -NR¹³R¹⁴, -NR¹³SO₂R¹⁴, -NR¹³C(O)R¹⁴, -NR¹³C(O)OR¹⁴, -NR¹³C(O)NR¹³R¹⁴, -C(O)R¹⁴, -C(O)OR¹⁴, y -C(O)NR¹³R¹⁴; o dos R⁸ adyacentes forman un anillo heterociclilo;

20 cada R¹³ y R¹⁴ es seleccionado independientemente de H, alquilo, cicloalquilo, heterociclilalquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, arilo, y heteroarilo; o R¹³ y R¹⁴ tomados juntos forman un heterociclo con los átomos a los cuales están unidos;

Y¹ y Y² son seleccionados independientemente de O, CH₂, NH, y NR¹³;

25 n es 1, 2, o 3;

m es 1 o 2;

p es 1, 2, 3, o 4;

q es 1, 2, o 3;

r es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, o 8;

30 s es 0, 1, 2, 3, o 4;

t es 0, 1, 2, 3, o 4;

u es 0, 1, 2, 3, 4 o 5; y

v es 0, 1, 2, 3, o 4.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), X_1 y X_2 are N

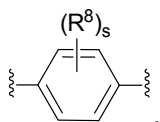
- 5 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), X_1 es CR^5 y X_2 es N.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), X_1 es N y X_2 es CR^5 .

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), q es 1 y r es 0.

- 10 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^1 es arilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^1 es



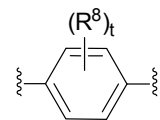
- 15 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^1 es



En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^1 es heteroarilo.

- 20 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^2 es arilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^2 es



- 25 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^2 es

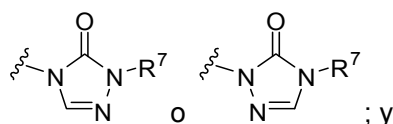


En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A^2 es heteroarilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), A² es piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, o triazina.

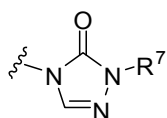
- En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), C es heteroarilo de 5 o miembros opcionalmente sustituido. En otras realizaciones descritas más arriba y más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), C es heterociclilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), C es



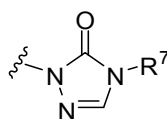
- 10 R⁷ es alquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), cicloalquilo, heterociclilo, -alquilen(cicloalquil), o -alquilen(heterocicliil).

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), C es



- 15 ; y R⁷ es alquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), cicloalquilo, heterociclilo, -alquilen(cicloalquil), o -alquilen(heterocicliil).

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), C es



; y R⁷ es alquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), cicloalquilo, heterociclilo, -alquilen(cicloalquil), o -alquilen(heterocicliil).

- 20 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es alquilo.

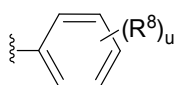
En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es cicloalquilo.

- 25 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es heterociclilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es arilo.

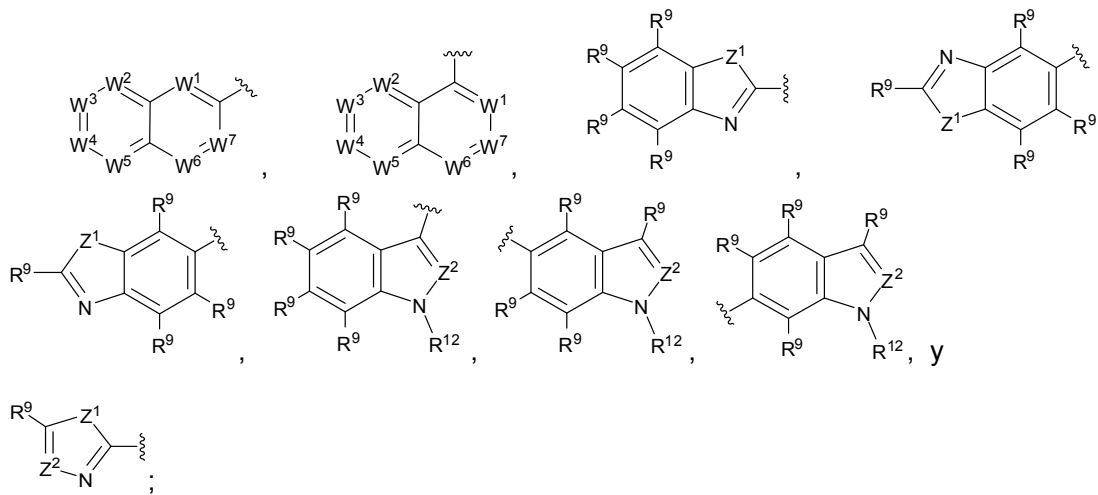
- 30 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es



y u es 0, 1, 2, 3, 4, o 5.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es heteroarilo.

- 5 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E se selecciona de:



W^1 , W^2 , W^3 , W^4 , W^5 , W^6 , y W^7 son seleccionados independientemente de N y CR^9 ;

- 10 Z^1 es NR^{12} , S, o O;

Z^2 es N o CR^9 ;

cada R^9 es seleccionado independientemente de H, halógeno, CN, NO_2 , alquilo, $-SR^{10}$, $-OR^{10}$, $-NR^{10}R^{11}$, $NR^{10}C(O)(alquilo)$, $-NR^{10}C(O)(cicloalquilo)$, $-NR^{10}C(O)(heterocicloalquilo)$, $-NR^{10}C(O)(aril)$, $-NR^{10}C(O)(heteroaril)$, $-C(O)NR^{10}R^{11}$, $-C(O)NR^{10}(cicloalquilo)$,

- 15 $-C(O)NR^{10}(heterocicloalquilo)$, $-C(O)NR^{10}(aril)$, $-C(O)NR^{10}(heteroaril)$, $-NR^{10}C(O)NR^{10}R^{11}$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(cicloalquilo)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heterocicloalquilo)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(aril)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heteroaril)$, $-NR^{10}C(O)O(alquilo)$, $-NR^{10}C(O)O(cicloalquilo)$, $-NR^{10}C(O)O(heterocicloalquilo)$, $-NR^{10}C(O)O(aril)$, $-NR^{10}C(O)O(heteroaril)$, $-NR^{10}SO_2(alquilo)$, $-NR^{10}SO_2(cicloalquilo)$,
20 $-NR^{10}SO_2(heterocicloalquilo)$, $-NR^{10}SO_2(aril)$, $-NR^{10}SO_2(heteroaril)$, $-SO_2NR^{10}R^{11}$, $-SO_2NR^{10}(cicloalquilo)$, $-SO_2NR^{10}(heterocicloalquilo)$, $-SO_2NR^{10}(aril)$, $-SO_2NR^{10}(heteroaril)$, haloalquilo, arilo, y heteroarilo;

cada R^{10} y R^{11} es seleccionado independientemente de H y alquilo; o R^{10} y R^{11} tomados

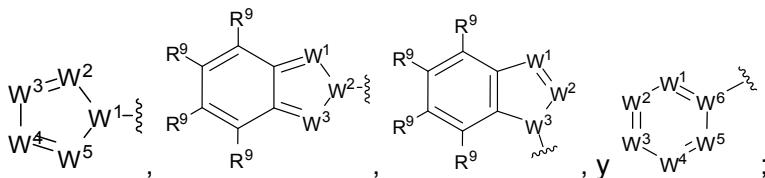
juntos forman un heterociclo con el nitrógeno al cual están unidos; y

R^{12} es H, alquilo o haloalquilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), D es arilo.

- 5 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), E es heteroarilo.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), D se selecciona de:



- 10 W^1 , W^2 , W^3 , W^4 , y W^5 son seleccionados independientemente de N y CR^9 ;

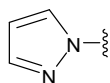
W^6 es N o C; y

cada R^9 es seleccionado independientemente de H, halógeno, CN, NO_2 , alquilo, $-SR^{10}$, $-OR^{10}$, $-NR^{10}R^{11}$, $NR^{10}C(O)$ (alquil), $-NR^{10}C(O)$ (cicloalquil), $-NR^{10}C(O)$ (heterocicloalquil), $-NR^{10}C(O)$ (aril), $-NR^{10}C(O)$ (heteroaril), $-C(O)NR^{10}R^{11}$, $-C(O)NR^{10}$ (cicloalquil),

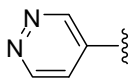
- 15 $-C(O)NR^{10}$ (heterocicloalquil), $-C(O)NR^{10}$ (aril), $-C(O)NR^{10}$ (heteroaril), $-NR^{10}C(O)NR^{10}R^{11}$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}$ (cicloalquil), $-NR^{10}C(O)NR^{11}$ (heterocicloalquil), $-NR^{10}C(O)NR^{11}$ (aril), $-NR^{10}C(O)NR^{11}$ (heteroaril), $-NR^{10}C(O)O$ (alquil), $-NR^{10}C(O)O$ (cicloalquil), $-NR^{10}C(O)O$ (heterocicloalquil), $-NR^{10}C(O)O$ (aril), $-NR^{10}C(O)O$ (heteroaril), $-NR^{10}SO_2$ (alquil), $-NR^{10}SO_2$ (cicloalquil),
- 20 $-NR^{10}SO_2$ (heterocicloalquil), $-NR^{10}SO_2$ (aril), $-NR^{10}SO_2$ (heteroaril), $-SO_2NR^{10}R^{11}$, $-SO_2NR^{10}$ (cicloalquil), $-SO_2NR^{10}$ (heterocicloalquil), $-SO_2NR^{10}$ (aril), $-SO_2NR^{10}$ (heteroaril), haloalquilo, arilo, y heteroarilo.

En ciertas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), D es

- 25 . En ciertas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), D es



. En ciertas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), D es



5 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), Y¹ y Y² son O.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), m es 1.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), p es 1, 2, o 3.

10 En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), p es 1.

En algunas realizaciones descritas más arriba o más abajo de un compuesto de la Fórmula (I), R¹, R², R³, y R⁴ son hidrógeno.

15 También se provee aquí una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la Fórmula (II) o como se describe más arriba y más abajo, o una sal, solvato, polimorfo, profármaco, metabolito, N-óxido, estereoisómero o isómero del mismo, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

20 **0290** Se provee aquí adicionalmente un método para tratar fibrosis utilizando un compuesto descrito aquí en donde la fibrosis es fibrosis de hígado, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis de riñón o fibrosis cardíaca.

Se provee aquí adicionalmente un método para tratar fibrosis de hígado usando un compuesto descrito aquí en donde la fibrosis de hígado está asociada con las etapas posteriores de cirrosis de hígado alcohólica o no alcohólica.

25 Se provee aquí adicionalmente un método para tratar fibrosis usando un compuesto descrito aquí en donde la fibrosis es fibrosis pulmonar idiopática.

Se provee aquí adicionalmente un método para tratar una enfermedad utilizando un compuesto descrito aquí en donde la enfermedad o trastorno caracterizados por la fibrosis es una enfermedad autoinmune crónica.

30 Se provee aquí adicionalmente un método para tratar una enfermedad autoinmune crónica utilizando un compuesto descrito aquí en donde la enfermedad autoinmune crónica es artritis reumatoide, escleroderma, enfermedad de Crohn o lupus eritematoso sistémico.

35 Se provee adicionalmente aquí un método para tratar una enfermedad autoinmune crónica utilizando un compuesto descrito aquí en donde la enfermedad autoinmune crónica es escleroderma.

Se provee aquí adicionalmente un método para tratar fibrosis utilizando un compuesto

descrito aquí en donde la fibrosis es una formación queloide resultante de una curación anormal de herida.

Se provee adicionalmente aquí un método para tratar fibrosis utilizando un compuesto descrito aquí en donde la fibrosis ocurre después de trasplante de órganos.

- 5 También se provee aquí un método para tratar fibrosis, un trastorno caracterizado por fibrosis, o una enfermedad caracterizada por fibrosis, comprendiendo el método administrar una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto descrito aquí en combinación con uno o más agentes farmacéuticos. En ciertas realizaciones descritas más arriba, el uno o más agentes farmacéuticos son
- 10 agentes antifibróticos. En ciertas realizaciones descritas más arriba, el uno o más agentes farmacéuticos son agentes antifúngicos.

- Se divulga aquí adicionalmente un sistema basado en imágenes para identificar inhibidores de fibrosis. En algunas realizaciones, el sistema comprende (a) uno o más fibroblastos; y (b) un dispositivo para imágenes celulares para producir una o más
- 15 imágenes del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el dispositivo para generar imágenes celulares comprende un microscopio fluorescente. En algunas realizaciones, el dispositivo para generar imágenes celulares comprende tecnología de cámaras CCD. En algunas realizaciones, el dispositivo para imágenes es automatizado. En algunas realizaciones, el dispositivo para generación de imágenes celulares es
- 20 operado manualmente. En algunas realizaciones, el dispositivo para generación de imágenes celulares es enfriado termoeléctricamente.

En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente una fuente de luz. En algunas realizaciones, la fuente de luz es un LED.

En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente un escáner.

- 25 En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente un ordenador.

En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente una o más localizaciones de memoria para almacenar y/o recibir la una o más imágenes. En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente una o más localizaciones de memoria para almacenar y/o recibir una o más instrucciones para producir la una o más imágenes.

- 30 En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más procesadores para analizar la una o más imágenes del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más procesadores para procesar la una o más imágenes del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más procesadores para transmitir la una o más
- 35 imágenes del uno o más fibroblastos.

En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más programas de software para capturar, producir, analizar, escanear, almacenar y/o transmitir la una o más imágenes.

- 40 En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más lectores de código de barras para leer uno o más códigos de barras en una o más muestras que comprenden la una o más células.

En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más robots para manejar una o más muestras que comprenden la una o más células. En algunas

realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más robots para tratar una o más muestras que comprenden la una o más células con uno o más agentes.

En algunas realizaciones, el uno o más agentes, comprenden TGF-beta. En algunas realizaciones, el uno o más agentes comprenden uno o más agentes de prueba.

- 5 En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más procesadores para identificar el uno o más agentes de prueba como inhibidores de fibrosis. En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más procesadores para clasificar los inhibidores de la fibrosis.

- En algunas realizaciones, el sistema comprende adicionalmente uno o más algoritmos.
- 10 En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una morfología del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una morfología del uno o más fibroblastos puestos en contacto con el uno o más agentes. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una intensidad del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una intensidad de fluorescencia del uno o más fibroblastos.
- 15

En algunas realizaciones, el dispositivo para generación de imágenes celulares comprende una plataforma CellInsight NXT High Content Screening (HCS).

En algunas realizaciones, el uno o más fibroblastos son células en estrella hepáticas (HSCs).

- 20 Se divulgan aquí adicionalmente, métodos para identificar inhibidores de la fibrosis. En algunas realizaciones, el método comprende (a) poner en contacto una primera muestra que comprende uno o más fibroblastos con un agente de crecimiento celular; (b) poner en contacto una segunda muestra que comprende uno o más fibroblastos con el agente de crecimiento celular y un primer agente de prueba; (c) producir una o más imágenes del
- 25 uno o más fibroblastos de la primera muestra y una o más imágenes del uno o más fibroblastos de la segunda muestra y (d) determinar si el primer agente de prueba es un inhibidor de la fibrosis con base en el análisis de la una o más imágenes de la primera muestra y la una o más imágenes de la segunda muestra.

- En algunas realizaciones, el agente de crecimiento celular es un factor de crecimiento. En algunas realizaciones, el agente de crecimiento celular es un factor de crecimiento por transformación beta (TGF-b).
- 30

En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es una molécula pequeña. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es una molécula pequeña bioactiva.

- En algunas realizaciones, la segunda muestra es puesta en contacto con el agente de crecimiento celular y el primer agente de prueba simultáneamente. En algunas realizaciones, la segunda muestra es puesta en contacto con el agente de crecimiento celular y el primer agente de prueba secuencialmente. En algunas realizaciones, la segunda muestra es puesta en contacto con el agente de crecimiento celular antes de ser puesta en contacto con el primer agente de prueba. En algunas realizaciones, la segunda
- 35 muestra es puesta en contacto con el primer agente de prueba antes de entrar en contacto con el agente de crecimiento celular.
- 40

En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente una o más muestras adicionales que comprenden uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, la primera muestra, la segunda muestra y/o una o más muestras adicionales son de la misma

fuelle. En algunas realizaciones, la primera muestra, la segunda muestra y/o una o más muestras adicionales son de dos o más fuentes diferentes.

- 5 En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente poner en contacto las una o más muestras adicionales con el agente de crecimiento celular y uno o más agentes de prueba adicionales.

En algunas realizaciones, la una o más imágenes de la primera muestra y la una o más imágenes de la segunda muestra son capturadas simultáneamente. En algunas realizaciones, la una o más imágenes de la primera muestra y la una o más imágenes de la segunda muestra son capturadas secuencialmente.

- 10 En algunas realizaciones, el uno o más fibroblastos de la primera muestra son cultivados en uno o más pozos sobre una primera placa de cultivo. En algunas realizaciones, el uno o más fibroblastos de la segunda muestra son cultivados en uno o más pozos sobre una segunda placa de cultivo. En algunas realizaciones, el uno o más fibroblastos de la una o más muestras adicionales son cultivados en uno o más pozos sobre una o más placas de cultivo adicionales.

En algunas realizaciones, la primera placa de cultivo y la segunda placa de cultivo son diferentes. En algunas realizaciones, la primera placa de cultivo, la segunda placa de cultivo, y/o la una o más placas de cultivo adicionales son diferentes.

- 20 En algunas realizaciones, la primera placa de cultivo y la segunda placa de cultivo son la misma. En algunas realizaciones, la primera placa de cultivo, la segunda placa de cultivo, y/o la una o más placas de cultivo adicionales son la misma.

- 25 En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente poner en contacto el uno o más fibroblastos de la primera muestra y/o el uno o más fibroblastos de la segunda muestra con un tercer agente. En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente poner en contacto el uno o más fibroblastos de la una o más muestras adicionales con un tercer agente.

En algunas realizaciones, el tercer agente es un anticuerpo. En algunas realizaciones, el tercer agente es un anticuerpo antiactina de músculos lisos (SMA).

- 30 En algunas realizaciones, la una o más imágenes de la primera muestra y/o la una o más imágenes de la segunda muestra están basadas en las imágenes del uno o más fibroblastos puestos en contacto con el tercer agente. En algunas realizaciones, la una o más imágenes de la una o más muestras adicionales están basadas en las imágenes del uno o más fibroblastos puestos en contacto con el tercer agente.

- 35 En algunas realizaciones, la producción de la una o más imágenes comprende el uso de uno o más dispositivos para generación de imágenes celulares. En algunas realizaciones, el dispositivo para generación de imágenes celulares comprende una plataforma CellInsight NXT High Content Screening (HCS).

- 40 En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente uno o más algoritmos. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una morfología del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una morfología del uno o más fibroblastos en contacto con el uno o más agentes. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una intensidad del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, el uno o más algoritmos analizan una intensidad de fluorescencia del uno o más fibroblastos.

En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente detectar la transdiferenciación del uno o más fibroblastos. En algunas realizaciones, la transdiferenciación del uno o más fibroblastos comprende la transdiferenciación en uno o más miofibroblastos.

- 5 En algunas realizaciones, la determinación de si el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de la fibrosis se basa en una comparación de la composición de miofibroblastos en la primera muestra con la composición de miofibroblastos en la segunda muestra. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de la fibrosis si la composición de miofibroblastos en la segunda muestra es menor que la composición de miofibroblastos en la primera muestra. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de la fibrosis si la composición de miofibroblastos en la segunda muestra es al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90% menor que la composición de miofibroblastos en la primera muestra. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de la fibrosis si la composición de miofibroblastos en la segunda muestra es al menos aproximadamente 1.5-, 2-, 2.5-, 3-, 3.5-, 4-, 4.5-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-, 11-, 12-, 13-, 14-, o 15- veces menor que la composición de miofibroblastos en la primera muestra.
- 20 En algunas realizaciones, el método comprende adicionalmente determinar si el uno o más agentes de prueba adicionales son inhibidores de la fibrosis. En algunas realizaciones, la determinación de si el uno o más agentes de prueba adicionales es identificado como un inhibidor de la fibrosis se basa en una comparación de la composición de miofibroblastos en la primera muestra con la composición de miofibroblastos en una o más muestras adicionales. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de la fibrosis si la composición de miofibroblastos en la una o más muestras adicionales es menor que la composición de miofibroblastos en la primera muestra. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de la fibrosis si la composición de miofibroblastos en la una o más muestras adicionales es al menos aproximadamente 5%, 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, 35%, 40%, 45%, 50%, 55%, 60%, 65%, 70%, 75%, 80%, 85%, o 90% menor que la composición de miofibroblastos en la primera muestra. En algunas realizaciones, el primer agente de prueba es identificado como un inhibidor de la fibrosis si la composición de miofibroblastos en la una o más muestras adicionales es al menos aproximadamente 1.5-, 2-, 2.5-, 3-, 3.5-, 4-, 4.5-, 5-, 6-, 7-, 8-, 9-, 10-, 11-, 12-, 13-, 14-, o 15- veces menos que la composición de miofibroblastos en la primera muestra.

Ejemplos

Lista de abreviaturas

- 40 Tal como se utilizaron anteriormente, y a lo largo de la descripción de la invención, las siguientes abreviaturas, a menos que se indique otra cosa, serán entendidas con los siguientes significados:

45	ACN	
	Bn	bencilo
	BOC o Boc	carbamato de tert-butilo
	BOP	benzotriazol-1-il-oxitris (dimetilamino) fosfonio
	t-Bu	tert-butilo
	Cbz	carbamato de bencilo
	Cy	Ciclohexilo

	DBU	1,8-Diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
	DCC	diciclohexilcarbodiimida
	DCM	diclorometano (CH ₂ Cl ₂)
	DIC	1,3-diisopropilcarbodiimida
5	DEAD	azodicarboxilato de dietilo
	DIAD	azodicarboxilato de diisopropilo
	DIEA	diisopropiletilamina
	DMAP	4-(N,N-dimetilamino)piridina
	reactivo DMP	reactivo de peryodinano de Dess-Martin
10	DMF	dimetilformamida
	DMA	N,N-Dimetilacetamida
	DME	1,2-Dimetoxi-etano
	DMSO	dimetilsulfóxido
	Dppf	1,1'-Bis(difenilfosfino)ferroceno
15	EDCI	1-etil-3-(3-dimetilaminopropil) carbodiimida HCl
	eq	equivalentes
	Et	etilo
	Et ₂ O	dietil éter
	EtOH	etanol
20	EtOAc	acetato de etilo
	HOAt	1-hidroxi-7-azabenzotriazol
	HOBT	1-hidroxibenzotriazol
	HOSu	N-hidroxisuccinamida
	HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
25	LAH	hidruro de aluminio y litio
	Me	metilo
	Mel	yoduro de metilo
	MeOH	metanol
	MOMCl	metoximetilcloruro
30	MOM	metoximetilo
	MS	espectroscopía de masas
	NMP	N-metil-pirrolidin-2-ona
	RMN	resonancia magnética nuclear
	PyBOP	benzotriazol-1-il-oxitris-pirrolidino-fosfonio
35		Hexafluorofosfato
	SPHOS	2-Diciclohexilfosfino-2',6'-dimetoxibifenil
	TBD	1,5,7-triazabicyclo[4.4.0]-dec-5-eno
	RP-HPLC	cromatografía líquida de alta presión en fase reversa
	TBS	tert-butildimetilsililo
40	TBSCI	cloruro de tert-butildimetilsililo
	TBTU	O-(Benzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio
	TEOC	carbamato de 2-trimetilsililetilo
	TFA	ácido trifluoroacético
	Tf ₂ O	anhídrido de triflato
45	TMG	1,1,3,3-Tetrametilguanidina
	THF	tetrahidrofurano
	THP	tetrahidropirano
	TLC	cromatografía de capa fina
50	XPHOS	2-Diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo

Ejemplos generales para la preparación de compuestos de la invención

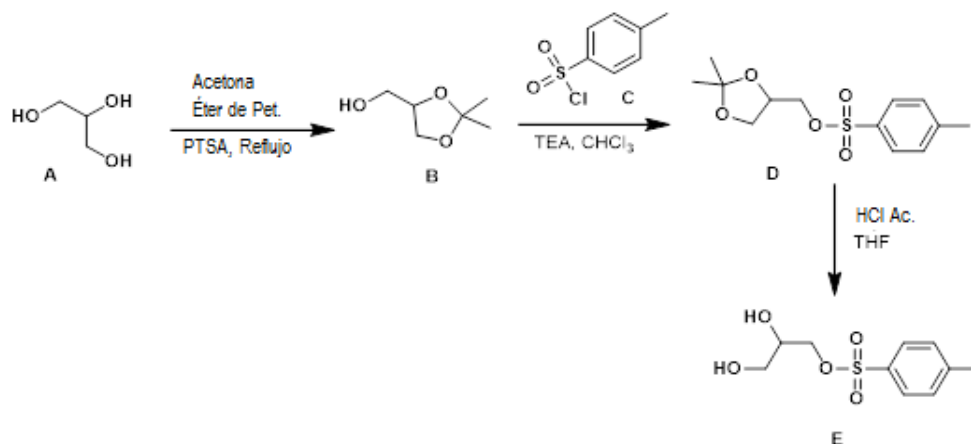
Los materiales de partida e intermediarios para los compuestos de esta invención pueden

ser preparados mediante la aplicación o adaptación de los métodos descritos a continuación, sus equivalentes químicos obvios, o, por ejemplo, como se describe en la literatura tal como The Science of Synthesis, Volumes 1-8. Editors E. M. Carreira et al. Tieme publishers (2001-2008). Detalles de opciones de reactivos y reacciones también
5 están disponibles mediante búsquedas de estructura y reacción utilizando motores de búsqueda en ordenador comerciales tales como Scifinder (www.cas.org) o Reaxys (www.reaxys.com).

Parte A:

Los siguientes esquemas de reacción A, B y C detallan la síntesis de los materiales de
10 partida involucrados en la formación final del compuesto 46 (esquema D).

Esquema A: Síntesis del diol racémico (E):



A un matraz de fondo redondo de tres bocas de 250 ml equipado con un condensador y un Dean-stark se agregó el intermediario A (25.0 g), acetona (75.0 ml), PTSA.H₂O (0.75 g) y éter de petróleo (75.0 ml). La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 12
15 horas y monitorizada por TLC (Hexano: Acetato de etilo (5:5)). La mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente y se agregaron 0.75 g de acetato de sodio. La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 30 minutos. La capa orgánica fue decantada y concentrada bajo presión reducida para dar un líquido crudo, Intermediario B (27.0g,
20 75.2%).

A un matraz de fondo redondo de tres bocas de 500 ml equipado con un tubo de protección de cloruro de calcio se agregó el Intermediario B (25.0 g) en cloroformo (185 ml). Se agregó TEA (79.0 ml) y la reacción se enfrió a 0°C. El Intermediario C (47.0 g) fue cargado por lotes a la mezcla y se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 5
25 horas. La reacción fue monitorizada por TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). La mezcla de reacción fue lavada con agua (200 ml) y la capa acuosa fue retroextraída con CHCl₃ (50 ml x 2). Las capas orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄ y concentradas bajo presión reducida para dar un aceite crudo. El aceite fue purificado por cromatografía de columna (acetato de etilo al 6% en hexanos). Producto final
30 Intermediario D (21.0 g, 38.6%).

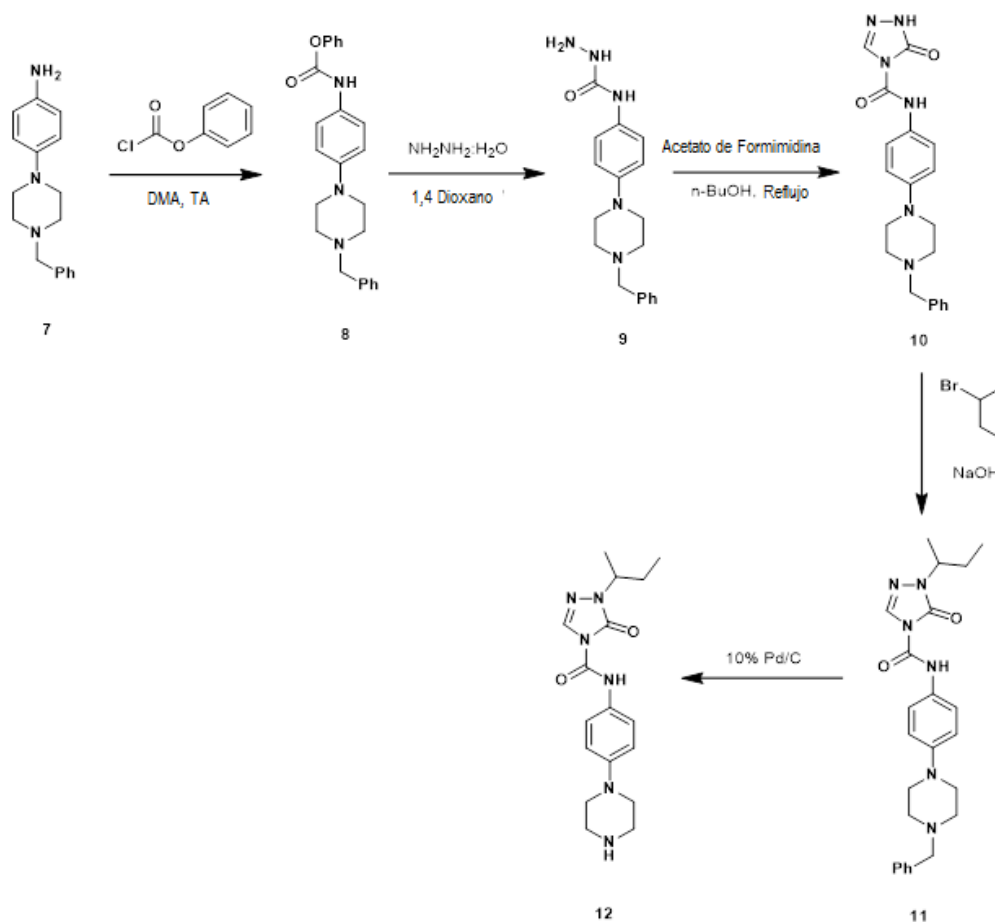
A un matraz de fondo plano de tres bocas de 250 ml equipado con agitador magnético se agregó el Intermediario D (21.0 g) en THF (100 ml). La solución fue enfriada a 0°C, mezclada con HCl 6N (25.0 ml) y agitada a temperatura ambiente durante 6 horas. La

reacción fue monitorizada por TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). La mezcla de reacción fue diluida con agua (100 ml) y neutralizada con solución saturada de bicarbonato de sodio. El producto fue extraído con CHCl_3 (50ml*2). Las capas orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na_2SO_4 y concentradas bajo presión reducida para dar un aceite espeso. Intermediario E (16.0g, 88.8%). El Intermediario E fue utilizado en la siguiente etapa de síntesis sin purificación adicional.

Datos espectrales de intermediario:

Intermediario	Datos de caracterización (RMN/LCMS)
B	$^1\text{H RMN}$ (400MHz, CDCl_3): 1.23 (s, 3H), 1.3 (s, 3H), 3.44-3.55 (m, 3H), 3.61-3.64(m, 1H), 3.89-3.92 (m, 1H), 4.05-4.10 (m, 1H).
D	LCMS: 98.1 %; m/z: 304 (M + H_2O).
E	$^1\text{H RMN}$ (400MHz, CDCl_3): 2.46 (s, 3H), 2.85 (s, 1H), 3.4 (s, 1H), 3.57-3.61 (m, 1H), 3.66-3.70(m, 1H), 3.93-3.96 (m, 1H), 4.04-4.10 (m, 2H), 7.36-7.38 (dd, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.79-7.81 (dd, $J=8.0$ Hz, 2H).

Esquema B: Síntesis del intermediario-12



5 A un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 ml equipado con tubo de cloruro de calcio se agregó el Intermediario 7 (5.0 g) en DMA (25.0 ml). Se agregó cloroformato de fenilo (2.8 ml) gota a gota y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante media hora. La reacción fue monitorizada por TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). La mezcla de reacción fue vertida sobre agua con hielo. El precipitado resultante fue recolectado por filtración, lavado con agua y secado bajo vacío para obtener el producto puro, Intermediario 8 (4.4g, 61.1%).

10 A un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 ml equipado con tubo de cloruro de calcio se agregó el Intermediario 8 cargado (4.4 g) en 1,4 dioxano (20.0 ml). Se agregó hidrato de hidrazina (1.37 ml) gota a gota y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. La reacción fue monitorizada por TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). La mezcla fue vertida sobre hielo con agua. El precipitado fue recolectado por filtración, lavado con agua y secado bajo vacío para obtener el producto puro, Intermediario 9 (2.80g, 53.8%).

15 A un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 ml equipado con condensador se agregó el Intermediario 9 (2.80 g) en n-BuOH (25.0 ml). Se agregó acetato de formamida (4.47 g) y la mezcla de reacción fue agitada a 90°C durante 4 horas. La reacción fue monitorizada por TLC (EtOAc). La mezcla fue enfriada a temperatura ambiente y el precipitado recolectado por filtración, lavado con acetato de etilo y secado para obtener el producto puro, Intermediario 10 (2.5g, 86.8%).

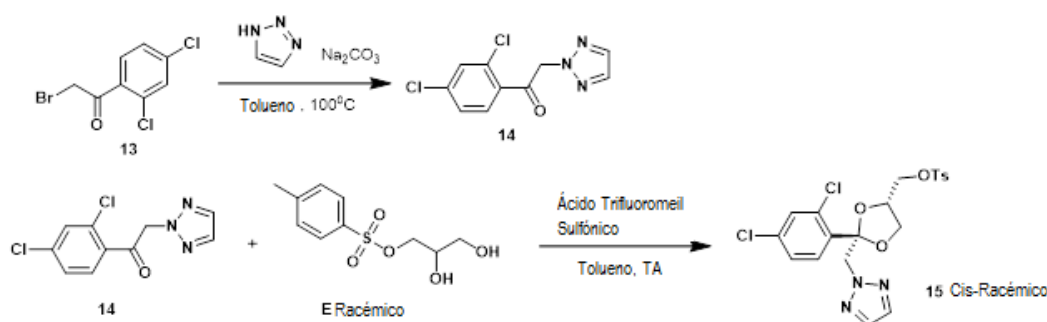
20 A un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 ml equipado con condensador se agregó el Intermediario 10 (2.50 g) en DMF (30.0 ml). Se agregaron NaOH (1.50 g) y sec-bromo butano (5.11 g) y la mezcla de reacción se agitó a 90°C durante 8 horas. La reacción fue monitorizada por TLC (EtOAc). La mezcla de reacción fue vertida sobre hielo agua. Los precipitados fueron recolectados por filtración, lavados con agua y secados bajo vacío para obtener el producto puro, Intermediario 11 (1.45g, 49.8%).

30 A un recipiente hidrogenador de 100 ml se agregó el Intermediario 11 (1.45 g) en MeOH (25.0 ml). Se agregó Pd/C al 10% (0.15 g) y la mezcla de reacción fue hidrogenada a temperatura ambiente bajo 10 kg de presión de H₂ durante la noche. La reacción fue monitorizada por TLC (EtOAc). Después de terminar la reacción, se retiró el catalizador por filtración y el solvente fue evaporado para dar un aceite espeso. El producto crudo fue purificado por cromatografía de columna (5% de MeOH en MDC). El producto final fue el Intermediario 12 (0.75g, 67.5%).

Datos espectrales intermediario:

Intermediario #	Datos de caracterización (RMN/LCMS)
8	LCMS: 99.16 % @ 256 nm; m/z: 388 (M+H). HRMN (400MHz, CDCl ₃): 2.94-3.05 (m, 2H), 3.13-3.20 (m, 2H), 3.72-3.75 (d, 2H), 4.39-4.40 (d, 2H), 6.95-6.97(d, J=8.0 Hz, 2H), 7.19-7.27 (m, 3H), 7.38-7.44 (m, 4H), 7.49-7.50 (m, 3H), 7.59-7.60 (d, J=4.0 Hz, 2H).
9	LCMS: 97.61 % @ 254 nm; m/z: 326 (M+H).
10	LCMS: 98.34% @ 256 nm; m/z: 336 (M+H).
11	LCMS: 96.95 % @ 258 nm; m/z: 392 (M+H).
12	LCMS: 95.78 % @ 257 nm; m/z: 302 (M+H).

Esquema C: Síntesis del Intermediario 15



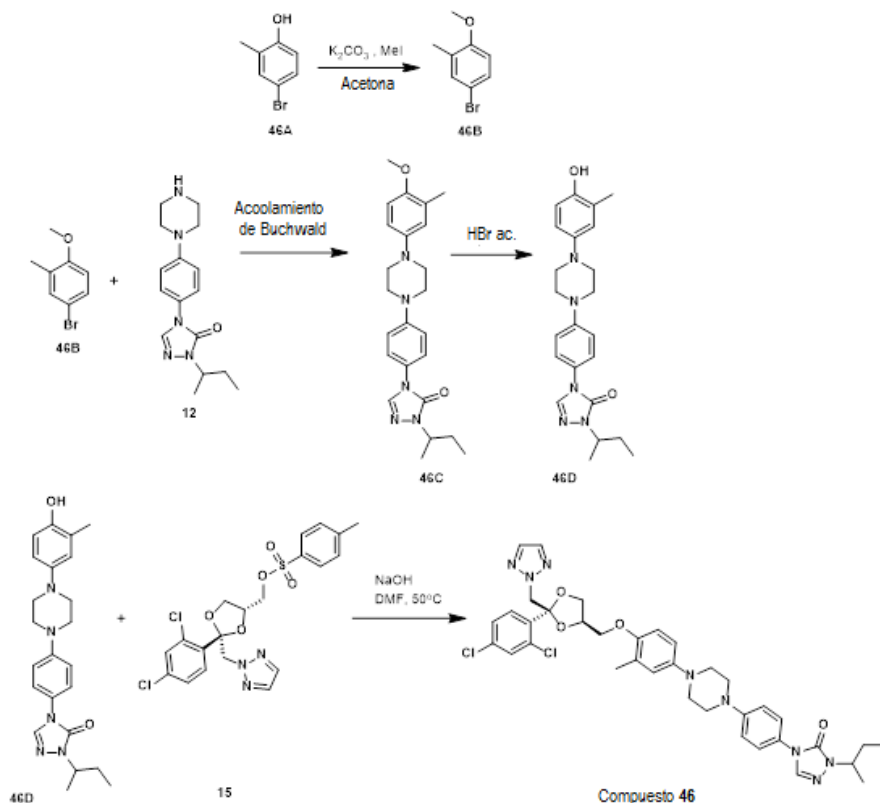
A una solución en agitación del Intermediario 13 (2.0 g) en tolueno (30.0 ml) se cargó 1H-1,2,3 triazol (1.96 g) y Na₂CO₃ (3.01 g) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue agitada a 100°C durante 3 horas. La terminación de la reacción fue monitorizada vía TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). Después de la terminación de la reacción, la mezcla fue enfriada a temperatura ambiente diluida con acetato de etilo (50 ml). La capa orgánica obtenida fue lavada con agua (50 ml x 2). Se separó la capa orgánica, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado por cromatografía de columna (acetato de etilo al 20% en hexanos). Intermediario 14 (0.70g, 19.2%).

A una solución en agitación del Intermediario 14 (1.30 g) en tolueno (15.0 ml) se cargó el Intermediario E (1.50 g) a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. La mezcla resultante fue enfriada a 0°C y se agregó gota a gota ácido trifílico (1.80 ml). La mezcla fue calentada a temperatura ambiente agitada durante 60 horas. La terminación de la reacción fue monitorizada a través de TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). Después de terminar la reacción, se vertió la mezcla resultante en agua (25 ml) y se neutralizó con solución saturada de bicarbonato de sodio. La capa acuosa fue extraída con acetato de etilo (25 ml x 2). La capa orgánica fue combinada, secada sobre Na₂SO₄ y concentrada bajo presión reducida para dar un aceite espeso. El producto crudo fue purificado por cromatografía de columna (acetato de etilo al 10% en hexanos). Intermediario 15 (0.32g, 24.6%).

Datos espectrales del intermediario:

Intermediario #	Datos de caracterización (RMN/LCMS)
14	LCMS: 96.62 % @ 252 nm; m/z 258 (M+H). ¹ HRMN (400MHz, CDCl ₃): 5.91 (s, 2H), 7.36-7.39 (dd, J ₁ =12.0 Hz y J ₂ =4.0 Hz, 1H), 7.51-7.52 (d, J=4.0 Hz, 1H), 7.64-7.66 (d, J=8.0 Hz, 1H), 7.73(s, 2H).
15	LCMS: 100 % @ 225 nm; m/z 486 (M+2). ¹ HRMN (400MHz, CDCl ₃): 2.49 (s, 3H), 3.41-3.45 (m, 1H), 3.75-3.82 (m, 1H), 3.84-3.89 (m, 2H), 4.23-4.26(m, 1H), 4.94-4.98 (d, J=14.4 Hz, 1H), 5.06-5.09 (d, J=14.0 Hz, 1H), 7.18-7.21 (dd, J ₁ =10.4 Hz y J ₂ =2.0 Hz, 1H), 7.38-7.40(d, J ₁ =12.0 Hz y J ₂ =8.0 Hz, 2H), 7.44-7.46 (m, 2H), 7.55 (s, 2H), 7.77-7.79(d, J ₁ =12.0 Hz y J ₂ =8.4 Hz, 2H).

Esquema D: Síntesis del compuesto 46:



- 5 A una solución en agitación del Intermediario 46A (0.50 g) en acetona (7.0 ml) se cargó K_2CO_3 (0.44 g) a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. Se agregó gota a gota yoduro de metilo (0.20 ml) y la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 24 horas. La terminación de la reacción fue monitorizada a través de TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). Después de la terminación de la reacción, la mezcla fue vertida en agua (25 ml). La capa acuosa fue extraída con acetato de etilo (25 ml x 2). Las
- 10 capas orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na_2SO_4 y concentradas bajo presión reducida para dar una masa cruda, Intermediario 46B (0.53g, 100%).

- 15 A una solución en agitación del Intermediario 46B (0.125 g) en tolueno (3.0 ml) se cargó el Intermediario 12 (0.188 g), tert butóxido de sodio (0.089 g), Ru(Phos) (0.028 g) y $Pd_2(dba)_3$ (0.055 g) a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. La mezcla resultante fue purgada con un balón de argón durante 10 minutos y agitada a 120°C durante 15 horas. La terminación de la reacción fue monitorizada a través de TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). Después de la terminación de la reacción, la mezcla fue vertida en agua (10 ml). La capa acuosa fue extraída con acetato de etilo (10 ml x 2). Las
- 20 capas orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na_2SO_4 y concentradas bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado por cromatografía de columna (acetato de etilo al 25% en hexanos). Intermediario 46C (0.08g, 30.7%).

A un tubo de 5 ml se cargó el Intermediario 46C (0.080 g) en HBr acuoso al 48% (0.80

ml). La mezcla resultante fue agitada a temperatura ambiente durante la noche. La terminación de la reacción fue monitorizada a través de TLC (acetato de etilo). La mezcla de reacción fue diluida con agua (5.0 ml) y neutralizada con solución saturada de bicarbonato de sodio. El precipitado resultante fue recolectado por filtración, lavado con agua y secado bajo vacío para obtener el Intermediario 46D puro (0.050g, 64.90%).

A una solución en agitación del Intermediario 46D (0.050 g) en DMF (1.0 ml) se cargó el Intermediario 15 (0.050 g) y NaOH (0.020 g) a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. La mezcla resultante fue agitada a 50°C durante la noche. La terminación de la reacción fue monitorizada a través de TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). Después de terminar la reacción, la mezcla resultante fue vertida en agua (10 ml) y la capa acuosa fue extraída con acetato de etilo (10 ml x 2). Las capas orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄ y concentrados bajo presión reducida. El producto crudo fue purificado por HPLC preparativa (eluido en ACN:Agua que contenía NH₃ al 0.1% por purificación preparativa en fase reversa. Las fracciones de producto fueron liofilizadas para obtener el producto crudo 46 (0.012g, 11.32%).

Datos espectrales del compuesto Intermediario y final:

Compuesto Intermediario/ Final #	Datos de caracterización (RMN/LCMS)
46B	¹ HRMN (400MHz, CDCl ₃): 2.19-2.20 (d, J=4.0 Hz, 3H), 3.82 (s, 3H), 6.69-6.70 (d, J=4.0 Hz, 1H), 7.26-7.28 (d, J=8.0 Hz, 2H).
46C	LCMS: 98.3 % @ 261 nm; m/z 422 (M+1).
46D	LCMS: 81.9 % @ 258 nm; m/z 408 (M+1).
46	LCMS: 100% @ 262 nm; m/z 719.51 (M+H). ¹ HRMN (400MHz, CDCl ₃): 0.91-0.94 (t, J=7.2 Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, J=6.8 Hz, 3H), 1.72-1.77 (m, 1H), 1.85-1.90 (m, 1H), 2.16-2.19 (s, 3H), 3.25 (s, 4H), 3.38 (s, 4H), 3.48-3.52 (q, 1H), 3.91-4.00 (m, 3H), 4.29-4.34 (m, 1H), 4.39-4.41 (m, 1H), 5.06-5.09 (d, J=14.0 Hz, 1H), 5.17-5.20 (d, J=14.0 Hz, 1H), 6.69-6.71 (d, J=8.0 Hz, 1H), 6.78-6.84 (m, 2H), 7.04-7.06 (d, J=9.2 Hz, 2H), 7.20-7.23 (dd, J ₁ =10.4 Hz y J ₂ =2.0 Hz, 1H), 7.44-7.48 (m, 3H), 7.52-7.54 (d, J=8.4 Hz 1H), 7.60-7.64 (m, 3H).

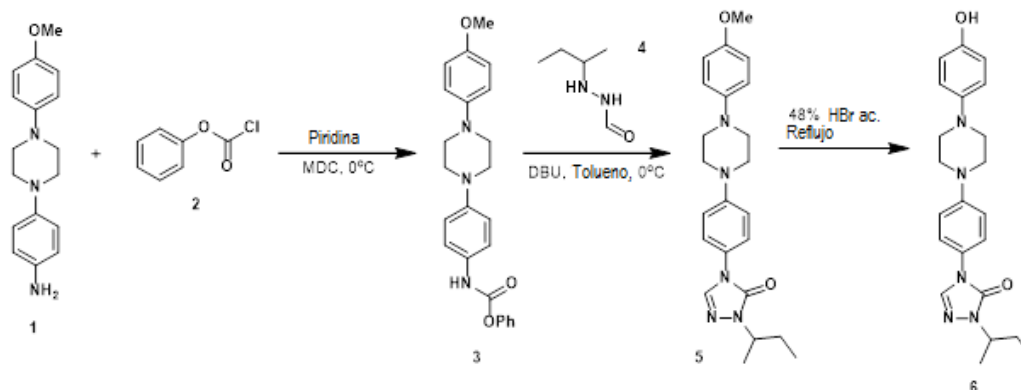
Información sintética adicional:

Los compuestos 47-54 fueron preparados usando idéntico esquema de reacción con sus correspondientes bromofenoles (Intermediario 46A).

Parte B:

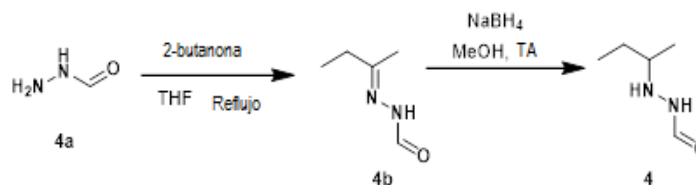
Los siguientes esquemas de reacción E y F detallan la síntesis de los materiales de partida involucrados en la formación final del compuesto 42 (esquema G). El mismo diol racémico producido en el esquema A (parte A) fue utilizado también en la síntesis que sigue.

Esquema E: Síntesis de Intermediario 6:



En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 ml equipado con tubo de cloruro de calcio se cargaron el Intermediario 1 (5.13 g), piridina (12.0 ml) y MDC (50.0 ml). La mezcla de reacción fue enfriada a 0°C y se agregó a la misma cloroformiato de fenilo (5.0 ml). La reacción fue agitada a 4°C durante la noche. La terminación de la reacción fue confirmada por TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). A la mezcla se agregó agua (100 ml) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. El precipitado fue filtrado, lavado con diclorometano (10 ml x 2) y secado bajo vacío para obtener el producto puro, Intermediario 3 (5.5 g, 75.1%).

Síntesis del Intermediario 4:



En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 250 ml equipado con condensador y una trampa Dean-Stark se cargaron el Intermediario 4a (20.0 g), 2-butanona (29.8 ml) y sulfato de sodio anhidro en THF (150 mg). La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante 2 horas. La terminación de la reacción fue confirmada por TLC (acetato de etilo). La reacción fue enfriada a temperatura ambiente y el solvente fue evaporado bajo presión reducida para dar un sólido blanco, Intermediario 4B (32.0g, 84.2%).

En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 500 ml equipado con agitador magnético se cargaron el Intermediario 4b (32.0 g) en MeOH (350 ml). La mezcla resultante fue enfriada a 0°C seguida por la adición de NaBH₄ (9.01 g). La reacción fue agitada a temperatura ambiente durante 5 horas. La terminación de la reacción fue confirmada por TLC utilizando (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). Después de la terminación, el solvente fue eliminado por destilación y el residuo fue disuelto en agua (100 ml). El producto fue extraído con CHCl₃ (100 ml x 3). Las capas orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄ y concentradas bajo presión reducida para dar un aceite espeso.

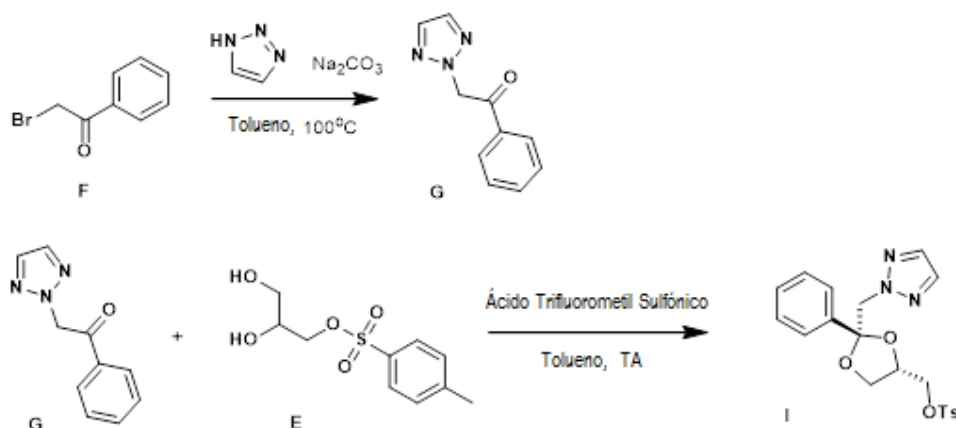
El producto crudo fue purificado por cromatografía de columna (acetato de etilo al 10% en hexanos). Intermediario 4 (22.0 g, 67.6%).

- En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 ml equipado con condensador y tubo de cloruro de calcio se cargaron Intermediario 3 (5.0 g), Intermediario 4 (1.51 g) y DBU (0.022 g) en tolueno (50.0 ml). La mezcla de reacción resultante fue agitada a 100°C durante 15 horas. La terminación de la reacción fue confirmada por TLC (acetato de etilo). La mezcla fue concentrada bajo presión reducida y se agregó metanol. La solución fue agitada a 4°C durante 2 horas. El precipitado resultante fue recolectado por filtración y secado para obtener el intermediario 5 puro (4.35g, 85.9%).
- 10 En un matraz de fondo redondo de tres bocas de 100 ml equipado con condensador se cargaron el Intermediario 5 (4.35 g) en tolueno (43.5 ml). La mezcla fue agitada a temperatura ambiente durante la noche. La terminación de la reacción fue confirmada por TLC (acetato de etilo). La mezcla de reacción fue enfriada a temperatura ambiente y neutralizada con solución saturada de bicarbonato de sodio. El precipitado resultante fue recolectado por filtración, lavado con agua y secado para obtener el Intermediario 6 (3.30g, 78.3%).
- 15

Datos espectrales del Intermediario:

Intermediario #	Datos de caracterización Data (RMN/LCMS)
3	LCMS: 57.55 % @ 202 nm y 100 % @ 259 nm; m/z: 404.95 (M+H).
4	¹ H RMN (400MHz, CDCl ₃): 0.81-0.86 (m, 6H), 0.89-0.93 (m, 6H), 1.12-1.22 (m, 2H), 1.37-1.46 (m, 2H), 2.61-2.66(m, 1H), 2.73-2.74 (d, J=4.0 Hz, 1H), 4.79-4.86 (d, J=28.0 Hz, 2H), 7.92-8.01 (m, 2H), 8.73-8.76 (d, J=12.0 Hz, 1H), 9.31-9.32 (d, J=4.0 Hz, 1H).
5	LCMS: 77.46 % @ 260 nm; m/z: 409.2 (M+H).
6	LCMS: 72.11 % @ 202 nm y 99.12 @ 250 nm; m/z: 394.6 (M+H).

- 20 Esquema f: Síntesis del Intermediario I:



A una solución en agitación del Intermediario F (2.0 g) en tolueno (15.0 ml) se cargó 1H-

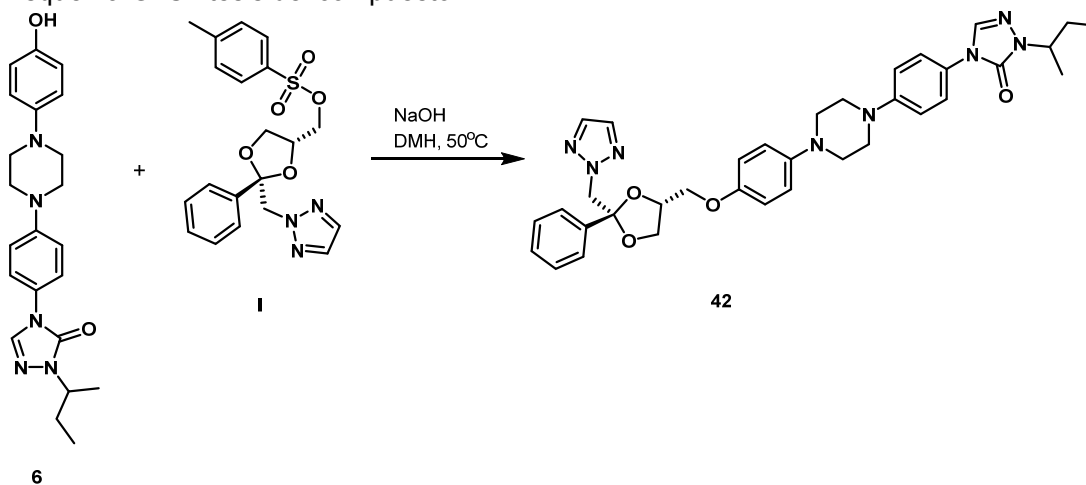
1,2,3 triazol (1.78 g) y Na₂CO₃ (2.74 g) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue agitada a 100°C durante 3 horas. La terminación de la reacción fue monitorizada sobre TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). Después de su terminación, la mezcla fue enfriada a temperatura ambiente y diluida con acetato de etilo (25 ml). La solución fue lavada con agua (25 ml*2). La capa orgánica fue separada, secada sobre Na₂SO₄ y concentrada bajo presión reducida para dar una masa cruda. El producto crudo fue purificado por cromatografía de columna (acetato de etilo al 15% en hexanos). Intermediario G (0.65g, 26.7%).

A una solución en agitación del Intermediario G (0.25 g) en tolueno (3.5 ml) se cargó Intermediario E (0.39 g) a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. La mezcla fue enfriada a 0°C y se agregó ácido triflico (0.48 ml) gota a gota. La solución fue calentada entonces a temperatura ambiente y agitada durante 60 horas. La terminación de la reacción fue monitorizada por TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). Después de su terminación, la mezcla resultante fue vertida sobre agua (10 ml) y neutralizada con solución saturada de bicarbonato de sodio. La capa acuosa fue extraída con acetato de etilo (10 ml*2). La capa orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ y concentrada bajo presión reducida para dar un aceite espeso. El producto crudo fue purificado por cromatografía de columna (acetato de etilo al 6% en hexanos). Intermediario I (0.12g, 21.8%).

Datos espectrales de Intermediario:

Intermediario	Datos de caracterización (RMN/LCMS)
G	LCMS: 100 % @ 245 nm; m/z 182.82 (M+H). ¹ HRMN (400MHz, CDCl ₃): 5.95 (s, 2H), 7.52-7.56 (m, 2H), 7.65-7.69 (m, 2H), 7.76 (s, 2H), 7.98-8.00(m, 2H)
I	LCMS: 100 % @ 223 nm; m/z 416.2 (M+H). ¹ HRMN (400MHz, CDCl ₃): 2.19 (s, 2H), 2.47 (s, 2H), 3.58-3.61 (m, 1H), 2.72-2.76 (m, 1H), 3.83-3.87(m, 1H), 3.93-3.97 (m, 1H), 4.09-4.12 (m, 1H), 4.74(s, 2H), 7.28-7.35 (m, 5H), 7.39-7.41(m, 2H), 7.62 (s, 2H), 7.66-7.68(d, J=8.4 Hz, 2H).

Esquema G: Síntesis del compuesto 42:



A una solución en agitación del Intermediario 6 (0.060 g) en DMF (1.0 ml) se cargó Intermediario I (0.070 g) y NaOH (0.024 g) a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. La mezcla resultante fue agitada a 50°C durante la noche. La terminación de la reacción fue monitorizada por TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). Después de su

- terminación, la reacción fue vertida en agua (10 ml). La capa acuosa fue extraída con acetato de etilo (10 ml*2). La capa orgánica fue secada sobre Na₂SO₄ y concentrada bajo presión reducida para dar una masa cruda. El producto crudo fue purificado por HPLC preparativa (ACN:Agua que contenía 0.1% de NH₃ por purificación preparativa en fase reversa. Las fracciones del producto fueron liofilizadas para obtener el producto crudo, 42 (0.016g, 16%).

Datos espectrales de Intermediario:

Compuesto final #	Datos de caracterización (RMN/LCMS)
42	LCMS: 100 % @ 261 nm; m/z 637.45 (M+H). ¹ HRMN (400MHz, CDCl ₃): 0.90-0.94 (t, J=7.6 Hz, 3H) ,1.40-1.42 (d, J=6.8 Hz, 3H) ,1.72-1.77 (m, 1H), 1.86-1.89 (m, 1H), 3.30-3.43 (m, 9H), 3.73-3.78 (m, 1H), 3.83-3.86(m, 1H), 3.89-3.93 (m, 1H), 4.30-4.33 (m , 1H), 4.37-4.40(m, 1H), 4.87(s, 2H), 6.79-6.81 (d, J=8.0 Hz, 2H), 7.02-7.07(m, 4H), 7.38-7.42 (m, 3H), 7.44-7.47(d, J=8.8 Hz, 2H), 7.56-7.59(m, 2H), 7.64(d, J=2.8 Hz,3H)

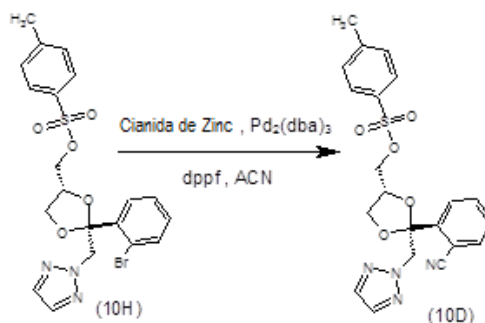
Información sintética adicional:

- Los compuestos 30-45 fueron preparados utilizando el idéntico esquema de reacción con sus correspondientes bromuros/cloruros de fenacilo (Intermediario F).

Parte C: Síntesis del compuesto 74

- El compuesto 74 fue preparado utilizando procedimientos análogos a los usados para preparar el compuesto 46, sustituyendo el Intermediario 10D por el Intermediario 15 (esquema D). El Intermediario 10H, precursor del Intermediario 10D, fue preparado usando procedimientos análogos a los usados para preparar el Intermediario 15.

Esquema H: Síntesis del Intermediario 10D:



- A una solución en agitación del Intermediario 10H (0.1 g) en ACN (7.0 ml) se cargó Zn(CN)₂ (0.47 g), dppf (0.017 g) y Pd₂(dba)₃ (0.027 g) a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. La mezcla resultante fue purgada con argón durante 10 minutos y agitada a 120°C durante 15 horas. La terminación de la reacción fue monitorizada por TLC (Hexano:Acetato de etilo (5:5)). Después de terminar la reacción, la mezcla de reacción fue vertida en agua (10 ml). La capa acuosa fue extraída con acetato de etilo (10 ml x 2). La capa orgánica fue combinada, secada sobre Na₂SO₄ y concentrada bajo

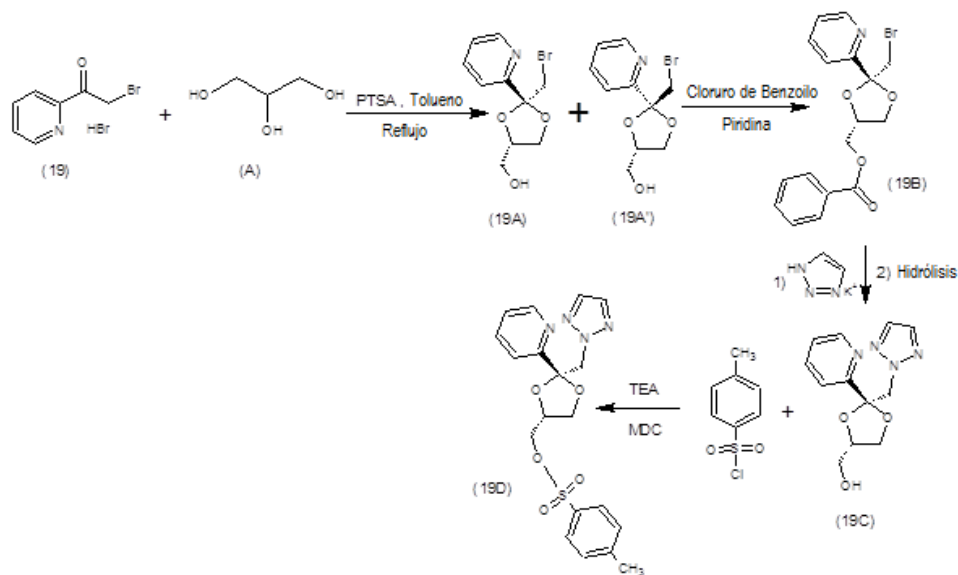
presión reducida para dar una masa cruda que fue purificada por cromatografía de columna (acetato de etilo al 25% en hexanos). Intermediario 10D (0.013g, 13.4%).

Compuesto intermediario #	Datos de caracterización (RMN/LCMS)
10D	LCMS: 95.23 % @ 225 nm; m/z 440.9 (M+H).

5 Parte D: Síntesis del compuesto 75

El compuesto 75 fue preparado utilizando procedimientos análogos a los usados para preparar el compuesto 42, sustituyendo el Intermediario 19D por el Intermediario I (esquema G). El Intermediario 19D fue preparado como se muestra en el esquema I (más abajo), invirtiendo las etapas en los esquemas A y C de tal manera que la bromometil cetona 19 se hizo reaccionar con el Intermediario A antes de la reacción con 1H-1,2,3-triazol.

Esquema I: Síntesis del Intermediario 19D



15 A una solución en agitación del Intermediario 19 (0.75 g – preparado por analogía con el precursor bromocetona para el compuesto 88) en tolueno (6.0 ml) se agregó el Intermediario A (1.53 g), PTSA (0.076 g) y tamices moleculares (0.5 g) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción fue agitada a temperatura de reflujo durante 24 horas.

20 La terminación de la reacción fue monitorizada por TLC utilizando hexano:acetato de etilo (5:5) como fase móvil. Después de la terminación de la reacción, la mezcla resultante fue enfriada hasta temperatura ambiente y vertida en agua (10 ml) y neutralizada con solución saturada de bicarbonato de sodio. La capa acuosa fue extraída con acetato de etilo (10 ml x 2). Las capas orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄ y evaporadas bajo vacío para dar una mezcla cruda de los Intermediarios 19A y 19A' la

25 cual fue utilizada en la siguiente etapa sin purificación adicional. Peso de mezcla de Intermediario 19A y el Intermediario 19A': 1.0 g (crudo). LCMS: 33.84 %; m/z: 276 (M + 2).

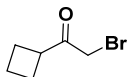
- A una solución en agitación del Intermediario 19A y 19A' (1.0 g) en MDC (10.0 ml) se agregó piridina (0.58 ml) a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. A la mezcla resultante, se agregó gota a gota cloruro de benzoilo (0.43 ml) antes de que la mezcla fuera dejada en agitación a temperatura ambiente durante la noche. La terminación de la reacción fue monitorizada por TLC utilizando hexano:acetato de etilo (5:5) como fase móvil. Después de la terminación de la reacción, la mezcla resultante fue vertida en agua (10 ml). La capa acuosa fue extraída con MDC (10 ml x 2). Las capas orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄ y evaporadas bajo vacío para dar un aceite espeso que fue purificado posteriormente por HPLC preparativa (ACN:agua que contenía 0.1% de ácido fórmico). Las fracciones de producto fueron liofilizadas para obtener el Intermediario 19B. Peso del Intermediario 19B: 0.20 g (Rendimiento: 14.5%). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃ δ ppm): 3.89-3.97 (m, 2H), 4.15-4.22 (m, 2H), 4.54-4.61 (m, 3H), 7.29-7.33 (m, 1H), 7.46-7.50(m, 2H), 7.58-7.62 (m, 1H), 7.65-7.67 (m, 1H), 7.75-7.79 (m, 1H), 8.09-8.11 (m, 2H), 8.69-8.70 (d, 1H). LCMS: 100% pureza; m/z: 380 (M + 2).
- A una solución en agitación del Intermediario 19B (0.20 g) en DMF (3.0 ml) se agregó sal de triazol potasio (0.14 g) a temperatura ambiente bajo atmósfera de argón. La mezcla resultante fue calentada con agitación a 130°C durante 24 horas. La terminación de la reacción fue monitorizada por TLC utilizando hexano: acetato de etilo (5:5) como fase móvil. Después de la terminación de la reacción, la mezcla resultante fue enfriada hasta temperatura ambiente y se eliminó el DMF bajo vacío. El residuo fue disuelto en THF (4.0 ml) antes de la adición de solución acuosa de NaOH al 32% (4.0 ml). La mezcla resultante fue agitada a temperatura de reflujo durante 3 horas. La terminación de la hidrólisis fue monitorizada por TLC utilizando MDC: MeOH (9:1) como fase móvil. Después de la terminación de la reacción, la mezcla resultante fue enfriada hasta temperatura ambiente y vertida en agua (10 ml). La capa acuosa fue extraída con acetato de etilo (10 ml x 2). Las capas orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄ y evaporadas bajo vacío para dar un aceite espeso el cual fue purificado posteriormente por cromatografía de columna (acetato de etilo al 60% en hexanos) para proveer el Intermediario 19C. Peso del Intermediario 19C: 0.045 g (Rendimiento: 32.6%). ¹H-RMN (400 MHz, CDCl₃ δ ppm): 2.19 (s, 1H), 3.33-3.37 (d, J=3.2 Hz, 1H), 3.84-3.94 (m, 2H), 4.05-4.08 (m, 1H), 4.32(s, 1H), 4.99-5.03 (d, J=14.0 Hz, 1H), 5.25-5.29 (d, J=14.0 Hz, 1H), 7.35-7.36 (m, 1H), 7.57-7.59 (d, J=9.2 Hz, 1H), 7.66 (s, 2H), 7.75-7.78 (m, 1H), 8.76 (s, 1H). LCMS: 99.27% pureza por UV; m/z: 263 (M + 1).
- A una solución en agitación del Intermediario 19C (0.045 g) en diclorometano (1.5 ml) se cargó trietilamina (0.04 ml) a temperatura ambiente bajo atmosfera de argón. La mezcla resultante fue enfriada a 0°C y se agregó a ella p-TSCI (0.04 g) y la mezcla fue calentada hasta temperatura ambiente y agitada durante 3 horas a temperatura ambiente. La terminación de la reacción fue monitorizada sobre TLC utilizando hexano: acetato de etilo (5:5) como fase móvil. Después de la terminación de la reacción, la mezcla resultante fue vertida en agua (10 ml) y neutralizada con solución saturada de bicarbonato de sodio. La capa acuosa fue extraída con acetato de etilo (10 ml x 2). Las capas orgánicas fueron combinadas, secadas sobre Na₂SO₄ y evaporadas bajo vacío para dar el Intermediario 19B en forma de un aceite espeso. Peso del Intermediario 19D: 0.075 g (crudo). ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃ δ ppm) 2.49 (s, 3H), 3.22-3.28 (m, 1H), 3.69-3.73 (m, 1H), 3.85-3.89 (m, 1H), 3.98-4.01 (m, 1H), 4.42-4.43 (d, J=4.4 Hz, 1H), 5.01-5.12 (m, 2H), 7.19-7.21 (d, J=8.0 Hz, 1H), 7.39-7.44 (m, 2H), 7.44-7.48 (m, 3H), 7.78-7.83 (m, 3H), 7.94-7.96 (d, J=8.4 Hz, 1H), 8.84-8.85(d, J=4.0 Hz, 1H). LCMS: 88.74% pureza por UV; m/z: 417 (M + 1).
- El compuesto 78 fue preparado por analogía con el compuesto 75 excepto que se utilizó 2-acetil tiazol en vez de 2-acetilpiridina como material de partida inicial. La bromación fue llevada a cabo por analogía con la síntesis del precursor de bromocetona del compuesto

88.

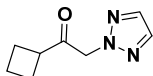
Parte E: Síntesis del compuesto 88

El compuesto 88 es preparado utilizando procedimientos análogos a los usados para preparar el compuesto 42, sustituyendo ciclobutil-(N2)triazolilo cetona por el Intermediario 14 (esquema C).

Síntesis de ciclobutil-(N2)triazolilo cetona



A una solución enfriada de ciclobutil-metilo cetona (1 equivalente) en MeOH se agregó bromo (1 equivalente) gota a gota a 0°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción resultante fue agitada a la misma temperatura durante aproximadamente 2 horas, y luego a temperatura ambiente durante otros 30 minutos. El bromo sin reaccionar fue detenido cuidadosamente con la solución acuosa al 10% de Na₂S₂O₃. La mezcla fue extraída entonces con éter, y lavada con NaHCO₃ y salmuera. El extracto orgánico combinado fue secado sobre MgSO₄ anhidro, filtrado y concentrado para generar la bromocetona deseada.



A la solución de bromocetona (1.0 equivalente) y triazol (1.2 equivalentes) en ACN se agregó DIPEA (1.2 equivalentes). La mezcla de reacción resultante fue calentada entonces a reflujo durante 1 hora. La mezcla de reacción fue concentrada y purificada por cromatografía de columna instantánea para generar la ciclobutil-triazolil cetona deseada en forma de un aceite amarillo pálido el cual solidifico lentamente con el tiempo.

Los compuestos adicionales que aparecen en la Tabla 1 fueron preparados usando procedimientos análogos a los procedimientos precedentes.

25 Ejemplos biológicos

Ejemplo I: Ensayos biológicos

Se estableció un ensayo de imágenes de contenido alto, con base en tinción con α -SMA y cambios morfológicos en las células asociados con la transdiferenciación de fibroblastos a miofibroblastos, usando fibroblastos de pulmón humanos primarios y HSCs de roedores primarios. Se identificaron condiciones, que involucraban ayuno de suero y subsecuente tratamiento con TGF- β , que facilitan la transdiferenciación robusta *in vitro* en un formato miniaturizado (placa de 384 pozos) que es adecuada para una criba de moléculas pequeñas de alto rendimiento. Se utilizó un inhibidor selectivo del receptor ALK-5 TGF- β 1 (SB-431542) como control positivo. El ensayo de 4 días de duración fue adecuado para cribas del orden de 100,000 pozos y facilitó la identificación de compuestos que inhiben selectivamente la transdiferenciación de fibroblastos a miofibroblastos. Este ensayo fue utilizado para identificar un compuesto de acierto (itraconazol) y fue utilizado para evaluar paneles enfocados de análogos del itraconazol generados a partir de esfuerzos de química medicinal.

La actividad del Itraconazol y sus análogos fue confirmada analizando cambios en la expresión genética de múltiples genes asociados con la transdiferenciación de fibroblastos a miofibroblastos usando métodos bioquímicos (esto es, inmunoprecipitación Western y RT-PCR). Estos ensayos de 4 días fueron utilizados para evaluar conjuntos de 6 compuestos a la vez en una forma de respuesta a dosis de 4 puntos.

Ensayos α -SMA

Células en estrella hepáticas de ratas quiescentes fueron sembradas en placas de 384 pozos (350 células por pozo) recubiertas con poli-D-lisina en un medio para células en estrella (Sciencell). Después de 24 horas de incubación, las células fueron tratadas con las dosis indicadas de itraconazol durante 48 horas en la presencia de 10 ng/mL de TGF- β 1 en medio para células de estrella hepática. Después de la fijación y tinción con un anticuerpo antiactina de músculos lisos, se analizó la morfología celular con un lector de imágenes internas de células Cellomics (figura 1 para imágenes representativas). Las células fueron analizadas en cuanto al área celular media de una tinción con α -SMA (figura 5a) o intensidad de fluorescencia media de tinción con SMA (figura 5b). En este ensayo la reproducibilidad con itraconazol indujo descensos dependientes de la dosis tanto en el área celular media como en la tinción con la alfa actina de músculos lisos, indicando la inhibición de la transdiferenciación y activación de los miofibroblastos.

Análisis por inmunoprecipitación Western de proteínas relacionadas con la fibrosis en células expuestas a TGF- β e itraconazol (Itra)

Se sembraron fibroblastos de pulmón humanos a 10^5 células por pozo en placas de 6 pozos en medio de ensayo (suero bovino fetal al 2%, DMEM). Después de 24 horas de incubación, el medio fue cambiado al medio de ensayo que contenía TGF- β 1 (10 ng/mL) y fue tratado simultáneamente con itraconazol (10 μ M), SB431542 (10 μ M) o control con vehículo (figura 6). Después de incubar durante 48 horas, las células fueron recolectadas por tripsinización rápida y centrifugación. Las células fueron sometidas a lisis en Cell Lytic M (Sigma) y las concentraciones del lisado fueron normalizadas a través de lecturas de absorción a 260 nm. Las muestras fueron hervidas en regulador para muestras 2X y beta-mercaptoetanol al 10%. Tres microgramos de lisado fueron cargados en cada carril del gel y luego separados por SDS-PAGE sobre geles de Bis-Tris al 10% y luego transferidos a través de transferencia semiseca a membranas de PVDF. Después de bloquear en leche al 5% en solución salina regulada con TRIS con Tween-20 (0.1%), las membranas fueron expuestas a anticuerpos primarios apropiados. Las siembras fueron incubadas con anticuerpos secundarios conjugados con HRP y visualizadas utilizando película y el SuperSignal West Dura Chemiluminescent Substrate (Pierce). En este ensayo el itraconazol indujo de manera reproducible descensos dependientes de la dosis en los niveles de proteína alfa actina de músculos lisos inducidos, indicando la inhibición de la transdiferenciación y activación de miofibroblastos.

Análisis de la expresión genética de fibroblastos de pulmón humano tratados con itraconazol

Fibroblastos de pulmón humano fueron sembrados a 10^5 células por pozo en placas de 6 pozos en medio de ensayo (suero bovino fetal al 2% en DMEM). Después de 24 horas, el medio fue cambiado a medio de ensayo que contenía TGF- β 1 (10 ng/mL) e itraconazol (500 nM). Después de 48 horas de incubación a 37°C, las células fueron recolectadas por tripsinización rápida y centrifugación. Se extrajo el ARN usando el kit RNeasy kit (Qiagen) y el ADNc fue amplificado utilizando el kit SuperScript III First-Strand Synthesis kit (Life Technologies). Las reacciones de qPCRs fueron llevadas a cabo entonces utilizando un kit enfocado en fibrosis RT2 Profiler PCR Array con placa y reactivos suministrados. Los

datos fueron analizados utilizando N=1 por reacción por condición de tratamiento. Los datos fueron expresados como la regulación de plegamiento con respecto a una muestra no tratada con TGF- β 1 (figura 7a). Los datos netos del RT2 Profiler PCR Array enfocado en fibrosis se muestran en la figura 7b. En este ensayo el itraconazol indujo de manera reproducible cambios dependientes de la dosis en múltiples genes relacionados con la fibrosis, indicando la inhibición de la transdiferenciación y activación de miofibroblastos.

La actividad antifibrótica del itraconazol y análogos del mismo no resultó de la inhibición de P450 asociada con actividad antifúngica. El Itraconazol inhibió las rutas de señalización profibróticas de VEGF y Hedgehog.

10 Análisis por qPCR de genes relacionados con Hedgehog en células en estrella hepáticas de rata tratadas con itraconazol

Las células en estrella hepáticas de rata fueron sembradas a 10^5 células por pozo en placas de 6 pozos recubiertas con poli-D-lisina en medio para células en estrella (Sciencell) y se dejaron proliferar hasta una confluencia completa (~2 semanas). El medio fue conmutado entonces a DMEM y suero bovino fetal al 0.5% con 1 μ g/mL de SHH-N (R&D Systems). Las células fueron tratadas con SHH-N y los compuestos (ciclopamina 5 μ M (control positivo), itraconazol 1 μ M) durante 24 horas. Las células fueron recolectadas por tripsinización rápida y centrifugación. El ARN fue extraído utilizando el kit RNeasy kit (Qiagen) y el ADNc fue amplificado utilizando el kit SuperScript III First-Strand Synthesis kit (Life Technologies). El qPCR fue llevado a cabo usando una mezcla maestra verde SYBR (Takara). Los niveles relativos de PTCH1 (homólogo 1 parchado con proteína) y GLI1 (familia de dedo de zinc 1 GLI) ARNm (véase figuras 8a y 8b; datos netos para ambos experimentos de qPCR se muestran en la figura 8c) indicó que el itraconazol inhibe la señalización de Hedgehog en células de estrella hepáticas de ratas.

25 Análisis por inmunoprecipitación Western de COL1-GFP HSCs después de la anulación de *Smoothend*

Se sembró COL1-GFP HSCs (una línea de células en estrella hepáticas de ratón immortalizadas con GFP anulado en el locus del colágeno) a 7.5^5 células por pozo en medio de ensayo (suero bovino fetal al 10%, DMEM). Después de 24 horas, las células fueron transducidas con partículas lentivirales. Después de 24 horas de incubación con partículas virales, las células fueron conmutadas a medio de ensayo fresco e incubadas durante 48 horas. Las células fueron sometidas a lisis en Cell Lytic M (Sigma) y las concentraciones del lisado fueron normalizadas a través de lecturas de absorción a 260 nm. Las muestras fueron hervidas en regulador para muestra 2X y beta-mercaptoetanol al 10%. Se cargaron cantidades iguales de lisado en cada carril del gel y luego se separaron por SDS-PAGE sobre geles de Bis-Tris al 10% y luego fueron transferidos vía transferencia semiseca a membranas PVDF. Después de bloquear en leche al 5% en solución salina regulada con TRIS con Tween-20 (0.1%), las membranas fueron expuestas a anticuerpos primarios apropiados. Las siembras fueron incubadas con anticuerpos secundarios conjugados con HRP y visualizadas utilizando película y SuperSignal West Dura Chemiluminescent Substrate (Pierce); véase figura 9. Los constructos para los ARNsh liberados por vía lentiviral fueron obtenidos de Sigma como soluciones de reserva en glicerol MISSION. Los lentivirus fueron empacados utilizando células 293T y vectores de empaque pMD2.G y pSPAX2. Los clones 71, 12, y 95 corresponden a ARNsh a SMO y pLKO en el plásmido SCH002 el cual codifica ARNsh no direccionado. El ARNsh medió la anulación de SMO y la inhibición resultante de la señalización Hedgehog en células en estrella hepáticas de rata recapituló parcialmente la actividad antifibrótica del itraconazol.

Análisis por inmunoprecipitación Western de patrón de migración de VEGFR2 después del tratamiento con itraconazol

Se sembraron células en estrella hepáticas de rata quiescente a 10^5 células por pozo en placas de 6 pozos recubiertas con poli-D-Lisina en medio para células en estrella (Sciencell). Después de 24 horas de incubación, las células fueron tratadas con diversas dosis de itraconazol durante 24 horas. Las células fueron recolectadas por tripsinización rápida y centrifugación. Las células fueron sometidas a lisis en Cell Lytic M (Sigma) y las concentraciones de los lisados fueron normalizadas a través de lecturas de absorción a 260 nm. Las muestras fueron hervidas en regulador para muestras 2X y beta-mercaptoetanol al 10%. Se cargaron cantidades iguales de lisado en cada carril del gel y luego se separaron por SDS-PAGE sobre geles de Bis-Tris al 10% y luego se transfirieron a través de membranas semiseca a membranas PVDF. Después de bloquear en leche al 5% en solución salina regulada con TRIS con Tween-20 (0.1%), las membranas fueron expuestas a anticuerpos primarios apropiados. Las siembras fueron incubadas con anticuerpos secundarios conjugados con HRP y visualizadas utilizando película y SuperSignal West Dura Chemiluminescent Substrate (Pierce); véase figura 10. El itraconazol inhibió la glicosilación y el tráfico por VEGFR2, causando por lo tanto una inhibición de la señalización de VEGF profibrótica en células en estrella hepáticas de rata.

Análisis por inmunoprecipitación Western de células en estrella hepáticas de ratas tratadas con combinaciones de compuestos inhibidores de VEGFR y Hedgehog

Se sembraron células en estrella hepáticas de rata quiescentes a 10^5 células por pozo en placas de 6 pozos recubiertas con poli-D-Lisina en medio para células en estrella (Sciencell). Después de 24 horas de incubación, las células fueron conmutadas a medio para células en estrella que contenía 10 ng/mL de TGF- β 1 y las combinaciones indicadas de compuestos. Después de 48 horas de tratamiento, las células fueron recolectadas por tripsinización rápida y centrifugación. Las células fueron sometidas a lisis en Cell Lytic M (Sigma) y las concentraciones de los lisados fueron normalizadas a través de lecturas de absorción a 260 nm. Las muestras fueron hervidas en regulador para muestra 2X y beta-mercaptoetanol al 10%. Se cargaron tres microgramos de lisado en cada carril del gel y luego se separaron por SDS-PAGE sobre geles Bis-Tris al 10% y luego se transfirieron a través de transferencia semiseca a membranas PVDF. Después de bloquear en leche al 5% en solución salina regulada con TRIS con Tween-20 (0.1%), las membranas fueron expuestas a anticuerpos primarios apropiados. Las siembras fueron incubadas con anticuerpos secundarios conjugados con HRP y visualizadas utilizando película y SuperSignal West Dura Chemiluminescent Substrate (Pierce); véase figura 11. La inhibición farmacológica en señalización VEGF o Hedgehog en células en estrella hepáticas de rata recapitulo parcialmente la actividad antifibrótica del itraconazol o análogos del mismo. La inhibición farmacológica dual de la señalización de VEGF y Hedgehog en células en estrella hepáticas de ratas recapitulo la actividad antifibrótica del itraconazol.

Actividad de itraconazol y compuesto 42 en un ensayo de informador Hedgehog

Se recolectaron células TM3-GLI-LUC (clon estable de células TM3 de ratón que expresan el informador Gli-Luc) y luego se sembraron a 5,000 células por pozo en placas de 384 pozos en 40 μ L de medio de ensayo (DMEM:F12 y suero bovino fetal al 2%). Los compuestos fueron disueltos en DMSO en diluciones en serie y transferidos a las placas de ensayo utilizando una cabeza de pasadores de 100 nL sobre una estación de trabajo automatizada Biomek. Después de transferir los compuestos, se agregaron 10 μ L de medio de ensayo que contenía la molécula SAG agonista de Hedgehog de tal manera que la concentración de ensayo final de SAG fue 10 nM o 400 nM. Las placas de ensayo

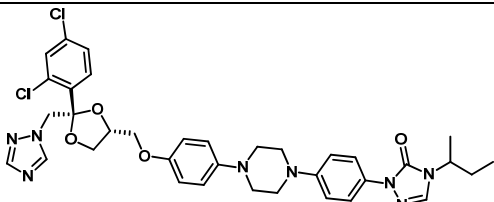
fueron incubadas durante 48 horas antes de utilizar los reactivos Bright-Glo para determinar las señales de luminancia sobre un lector de placas Envision. La actividad relativa de GLI-LUC de las células TM3-GLI-LUC expuestas a SAG 10 Nm y las dosis indicadas de inhibidor se muestran en la figura 12a. La actividad relativa de GLI-LUC de células TM3-GLI-LUC expuestas a SAG 400 nM y las dosis indicadas de inhibidor se muestran en la figura 12b. N=3 por dosis. El itraconazol y los análogos del mismo inhibieron la señalización profibrótica Hedgehog en células en estrella hepáticas de rata.

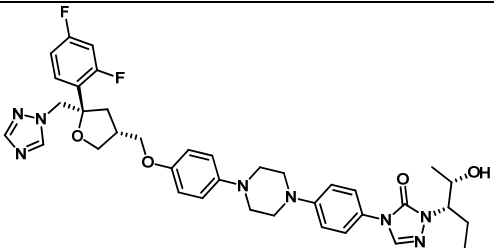
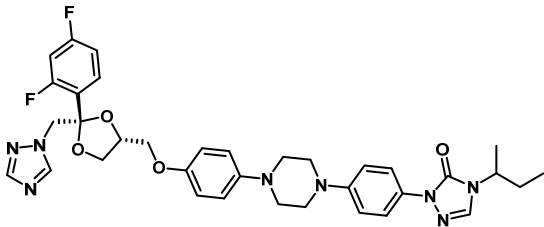
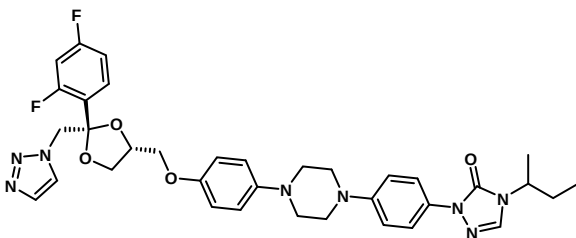
Análisis de inmunoprecipitación Western de células en estrella hepáticas humanas LX2 después de la anulación de VEGFR1, VEGFR2, o SMO.

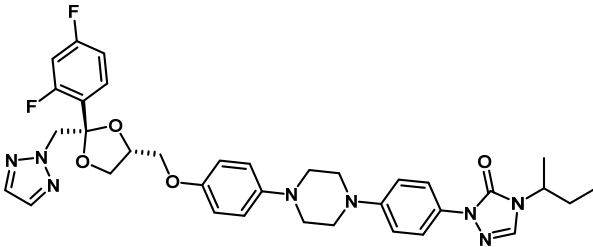
Se sembraron células LX2 (una línea de células en estrella hepáticas humanas inmortalizadas, laboratorio de Scot Friedman) a 10^5 células por pozo en medio de ensayo (suero bovino fetal al 10%, DMEM). Después de 24 horas, las células fueron transducidas con partículas lentivirales. Después de 24 horas de incubación con partículas virales, las células fueron conmutadas a medio de ensayo fresco e incubadas durante 48 horas. Las células fueron sometidas a lisis en Cell Lytic M (Sigma) y las concentraciones de los lisados fueron normalizadas a través de lecturas de absorción a 260 nm. Las muestras fueron hervidas en regulador de muestra 2X y beta-mercaptoetanol al 10%. Se cargaron cantidades iguales de lisado en cada carril del gel y luego se separaron por SDS-PAGE sobre geles Bis-Tris al 10% y luego fueron transferidas mediante transferencia semiseca a membranas PVDF. Después de bloquear en leche al 5% en solución salina TRIS con Tween-20 (0.1%), las membranas fueron expuestas a anticuerpos primarios apropiados. Las siembras fueron incubadas con anticuerpos secundarios conjugados con HRP y visualizadas utilizando película y SuperSignal West Dura Chemiluminescent Substrate (Pierce); véase figura 13. Los constructos para ARNsh administrados por vía lentiviral fueron obtenidos de Sigma como soluciones de reserva en glicerol MISSION. Los lentivirus fueron empacados utilizando células 293T y vectores de empaque pMD2.G y pSPAX2. El clon 65 corresponde a un ARNsh que apunta a SMO, 31 y 32 corresponden a un ARNsh que apunta a VEGFR1, los clones 86 y 87 corresponden a ARNsh que apunta a VEGFR2, y pLKO es el plásmido SCH002 que codifica una ARNsh no direccionado. La anulación genética de la señalización de VEGF y Hedgehog en células en estrella humanas inhibe la activación profibrótica de miofibroblastos y parcialmente recapituló la actividad antifibrótica del itraconazol y análogos del mismo.

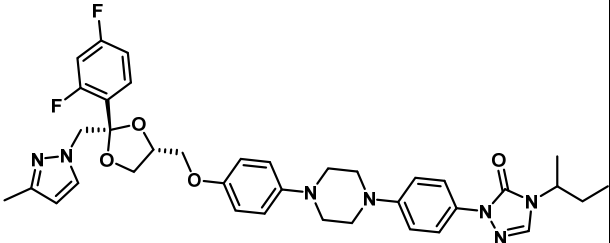
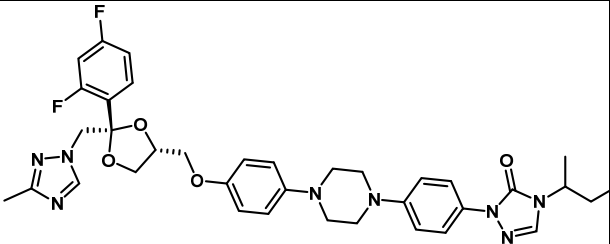
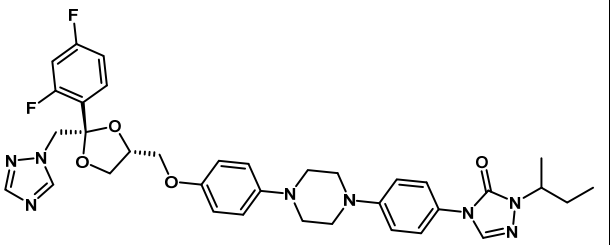
La Tabla 1 a continuación muestra los datos analíticos de los compuestos (RMN y MS) así como su actividad biológica. La EC_{50} para la actividad (basada en imágenes y western) se clasifica como: +++ = <500 nM; ++ = 500 nM a 5 μ M; + = 5 a 30 μ M).

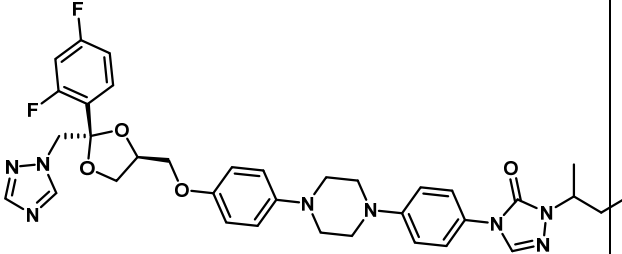
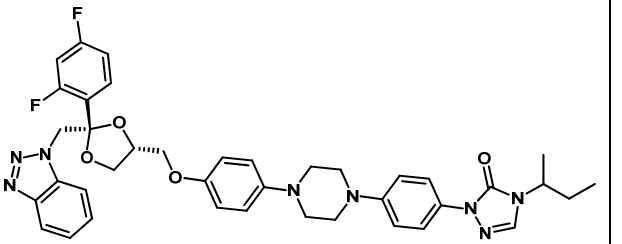
Tabla 1

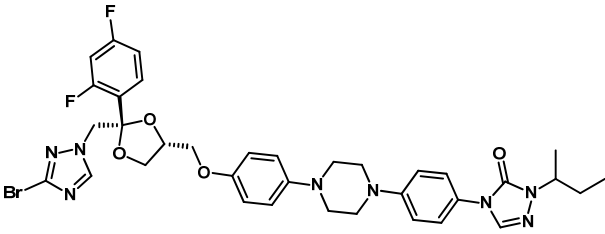
Comp. #	Estructura	Datos de caracterización (RMN y LCMS)	Actividad
ITZ		Cis racemato	+++

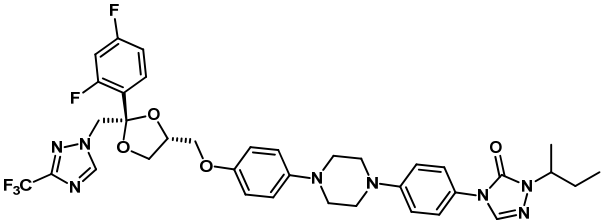
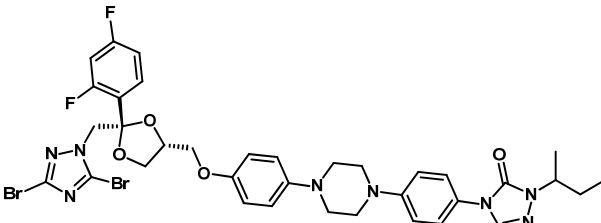
POS		Cis racemato	+
1		Cis racemato LC-MS: m/z 673.0 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 8.21 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.49 (m, 1H), 7.42 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.03 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 6.94 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 6.88 (m, 2H), 6.79 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 4.70 (dd, J = 16.4 Hz, 11.6 Hz, 2H), 4.41 (m, 1H), 4.29 (m, 1H), 3.98 (dd, J = 6.8 Hz, 5.2 Hz, 1H), 3.83-3.77 (m, 2H), 3.49 (dd, J = 8.0 Hz, 5.2 Hz, 1H), 3.37-3.35 (m, 4H), 3.24-3.22 (m, 4H), 1.86 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.38 (d, J = 5.2 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 6.0 Hz, 3H).	++
2		LC-MS: m/z 673.0 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 7.73 (d, J = 0.8 Hz, 1H), 7.65 (d, J = 0.8 Hz, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.49 (m, 1H), 7.43 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.03 (d,	++

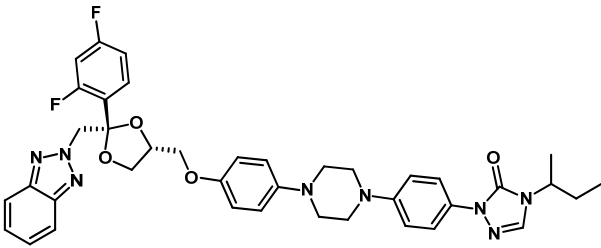
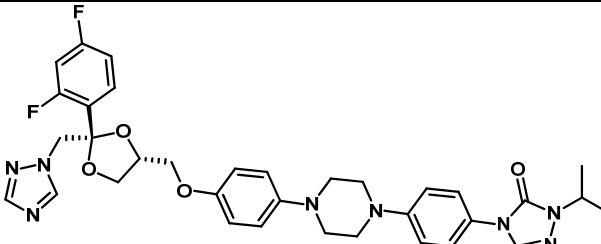
		J = 7.2 Hz, 2H), 6.93 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 6.87 (m, 2H), 6.77 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 4.90 (s, 2H), 4.41 (m, 1H), 4.29 (m, 1H), 3.96 (dd, J = 6.8 Hz, 5.6 Hz, 1H), 3.81 (dd, J = 9.6 Hz, 4 Hz, 1H), 3.75 (dd, J = 7.6 Hz, 3.6 Hz, 1H), 3.38-3.35 (m, 5H), 3.24-3.22 (m, 4H), 1.85 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.39 (d, J = 5.2 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 6.0 Hz, 3H).	
3		LC-MS: m/z 673.0 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 7.62 (s, 1H), 7.58 (s, 1H), 7.57 (s, 1H), 7.46-7.42 (m, 3H), 7.03 (m, 2H), 6.95 (m, 2H), 6.87 (m, 2H), 6.81 (m, 2H), 5.00 (dd, J = 24.4 Hz, 11.6 Hz, 2H), 4.42 (m, 1H), 4.30 (m, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.97-3.81 (m, 2H), 3.50 (dd, J = 7.6 Hz, 5.6 Hz, 1H), 3.37 (m, 4H), 3.25 (m, 4H), 1.87 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.38 (d, J = 5.2 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 6.0 Hz, 3H).	+

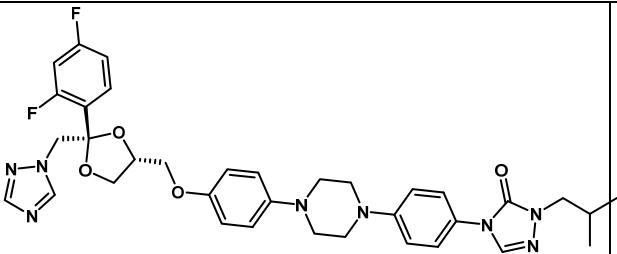
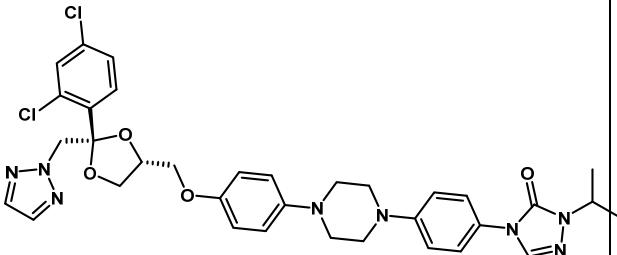
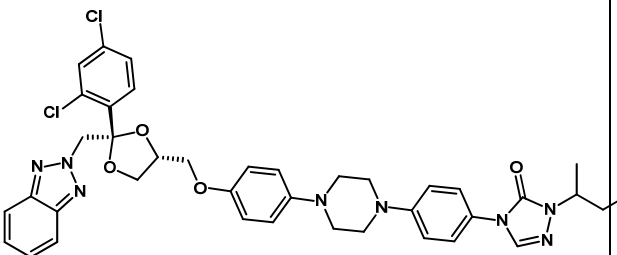
4		LC-MS: m/z 686.1 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃): 7.62 (s, 1H), 7.55 (m, 1H), 7.44-7.30 (m, 3H), 7.03 (m, 2H), 6.95 (m, 2H), 6.87 (m, 2H), 6.76 (m, 2H), 6.01 (m, 1H), 4.55 (dd, J = 28.8 Hz, 2H), 4.38 (m, 1H), 4.29 (m, 1H), 3.92 (m, 1H), 3.82-3.71 (m, 3H), 3.37 (br s, 4H), 3.25 (m, 4H), 2.25 (s, 3H), 1.86 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.39 (d, J = 6.4 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 6.0 Hz, 3H).	+
5		LC-MS: m/z 687.0 (M+H)	+
6		Cis quirial LC-MS: m/z 673.0 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃): 8.21 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.49 (m, 1H), 7.42 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.03 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 6.94 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 6.88 (m, 2H), 6.79 (d, J = 5.2 Hz, 2H), 4.70 (dd, J = 16.4 Hz, 11.6 Hz, 2H), 4.41	++

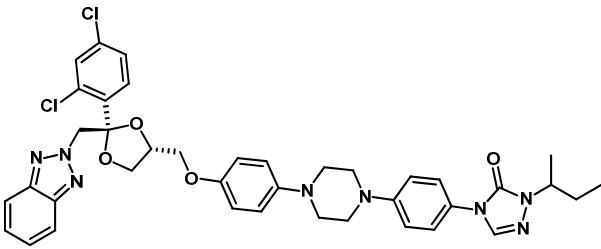
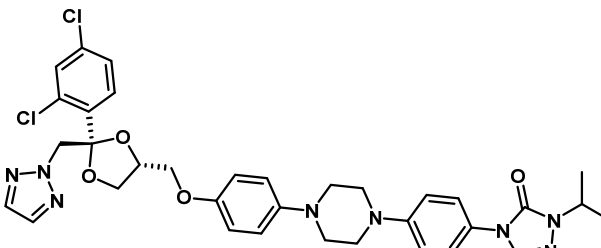
		(m, 1H), 4.29 (m, 1H), 3.98 (dd, J = 6.8 Hz, 5.2 Hz, 1H), 3.83-3.77 (m, 2H), 3.49 (dd, J = 8.0 Hz, 5.2 Hz, 1H), 3.40 (br s, 4H), 3.28 (br s, 4H), 1.86 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.38 (d, J = 5.2 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 6.0 Hz, 3H).	
7		Trans racemato LC-MS: m/z 673.0 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 8.20 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.52 (m, 1H), 7.44 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.04 (d, J = 5.6 Hz, 2H), 6.88-6.80 (m, 4H), 6.72 (m, 2H), 4.66 (dd, J = 16.8 Hz, 11.6 Hz, 2H), 4.29 (m, 1H), 4.18 (m, 1H), 4.01 (dd, J = 6.8 Hz, 5.2 Hz, 1H), 3.93 (dd, J = 7.2 Hz, 3.6 Hz, 1H), 3.85 (m, 2H), 3.50-3.11 (m, 8H), 1.86 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.38 (d, J = 5.6 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 6.0 Hz, 3H).	+
8		LC-MS: m/z 723.0 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 8.02 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.74 (d, J = 6.8 Hz, 1H), 7.62 (s, 1H),	++

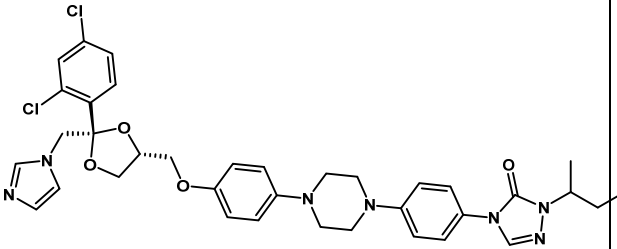
		7.54 (m, 1H), 7.47-7.42 (m, 3H), 7.34 (m, 1H), 7.03 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 6.95-6.86 (m, 4H), 6.53 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 5.15 (dd, J = 20.4 Hz, 12.0 Hz, 2H), 4.35 (m, 1H), 4.29 (m, 1H), 3.88 (dd, J = 6.8 Hz, 5.2 Hz, 1H), 3.62 (dd, J = 6.8 Hz, 3.6 Hz, 1H), 3.41-3.37 (m, 5H), 3.22 (br s, 4H), 2.88 (m, 1H), 1.86 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.39 (d, J = 5.6 Hz, 3H), 0.91 (t, J = 6.0 Hz, 3H).	
9		LC-MS: m/z 750.9 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃): 8.12 (s, 1H), 7.62 (s, 1H), 7.51 (m, 1H), 7.44 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.03 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 6.95-6.88 (m, 4H), 6.84 (m, 2H), 4.65 (dd, J = 15.6 Hz, 12.0 Hz, 2H), 4.42 (m, 1H), 4.30 (m, 1H), 3.98 (dd, J = 6.8 Hz, 5.6 Hz, 1H), 3.86 (dd, J = 6.8 Hz, 4.0 Hz, 1H), 3.82 (dd, J = 7.6 Hz, 3.6 Hz, 1H), 3.52 (dd, J = 7.6 Hz, 4.8 Hz, 1H), 3.37 (br s, 4H), 3.25 (br s, 4H), 1.86 (m, 1H),	+

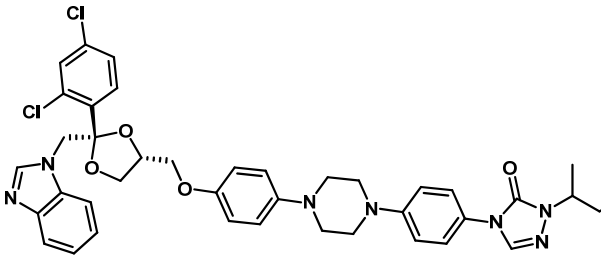
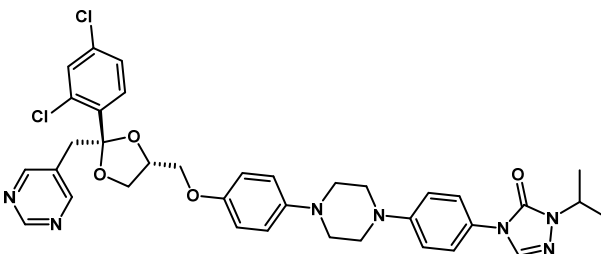
		1.72 (m, 1H), 1.39 (d, J = 5.6 Hz, 3H), 0.91 (t, J = 5.6 Hz, 3H).	
10		LC-MS: m/z 741.0 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃): 8.33 (s, 1H), 7.63 (s, 1H), 7.53 (m, 1H), 7.44 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 7.04 (d, J = 6.4 Hz, 2H), 6.93-6.89 (m, 4H), 6.82 (br s, 2H), 4.74 (dd, J = 14.0 Hz, 11.6 Hz, 2H), 4.43 (m, 1H), 4.30 (m, 1H), 3.99 (dd, J = 6.8 Hz, 5.6 Hz, 1H), 3.83 (dd, J = 6.8 Hz, 4.4Hz, 1H), 3.79 (m, 1H), 3.51 (m, 1H), 3.38 (br s, 4H), 3.25 (br s, 4H), 1.85 (m, 1H), 1.73 (m, 1H), 1.39 (d, J = 5.6 Hz, 3H), 0.91 (t, J = 5.6 Hz, 3H).	+
11		LC-MS: m/z 829.3 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃): 7.62 (s, 1H), 7.54 (m, 1H), 7.42 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 7.03 (d, J = 6.8 Hz, 2H), 6.96-6.88 (m, 4H), 6.83 (m, 2H), 4.67 (dd, J = 24.0 Hz, 11.6 Hz, 2H), 4.43 (m, 1H), 4.29 (m, 1H), 3.97 (m, 1H), 3.90 (dd, J = 7.2 Hz, 4.0Hz, 1H), 3.85 (dd, J = 7.6 Hz,	+

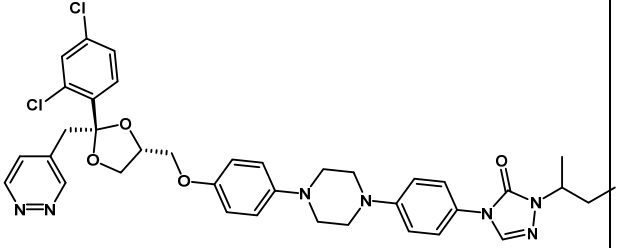
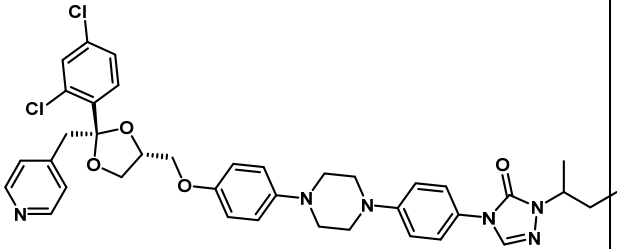
		4.0 Hz, 1H), 3.50 (m, 1H), 3.37 (br s, 4H), 3.26 (br s, 4H), 1.87 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.39 (d, J = 5.2 Hz, 3H), 0.91 (t, J = 6.0 Hz, 3H).	
12		LC-MS: m/z 723.0 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃): 7.88-7.87 (m, 2H), 7.62 (s, 1H), 7.54 (m, 1H), 7.43 (m, 4H), 7.04 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 6.94-6.83 (m, 4H), 6.41 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 5.30 (dd, J = 37.6 Hz, 9.6 Hz, 2H), 4.42 (m, 1H), 4.27 (m, 1H), 3.94 (dd, J = 7.2 Hz, 4.8 Hz, 1H), 3.89 (dd, J = 6.8 Hz, 3.2 Hz, 1H), 3.53 (br s, 1H), 3.36 (br s, 4H), 3.22 (br s, 4H), 2.99 (m, 1H), 1.85 (m, 1H), 1.72 (m, 1H), 1.39 (d, J = 5.2 Hz, 3H), 0.91 (t, J = 6.0 Hz, 3H).	+
13		LC-MS: m/z 659.0 (M+H)	+

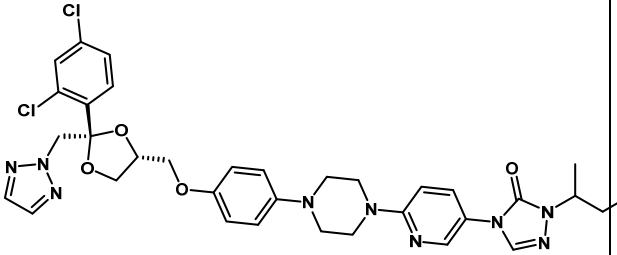
14		LC-MS: m/z 673.0 (M+H)	+
15		LC-MS: m/z 705.2 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ 7.64 (d, J = 0.7 Hz, 1H), 7.61 (s, 2H), 7.56 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.51 – 7.40 (m, 3H), 7.23 (dd, J = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 7.09 – 7.03 (m, 2H), 6.98 – 6.91 (m, 2H), 6.84 – 6.77 (m, 2H), 5.25 – 5.03 (m, 3H), 4.46 – 4.36 (m, 1H), 4.36 – 4.27 (m, 1H), 3.98 – 3.84 (m, 3H), 3.48 (dd, J = 9.5, 7.1 Hz, 1H), 3.39 (m, 4H), 3.26 (m, 4H), 1.89 (m, 2H), 1.74 (m, 1H), 1.42 (d, J = 6.8 Hz, 3H), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 3H).	++
16		LC-MS: m/z 755.3 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, MeOD) δ 8.12 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 7.86 – 7.77 (m, 2H), 7.65 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.58 – 7.53 (m, 2H), 7.48 – 7.36 (m, 4H), 7.33 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 7.27 – 7.20 (m, 2H),	+

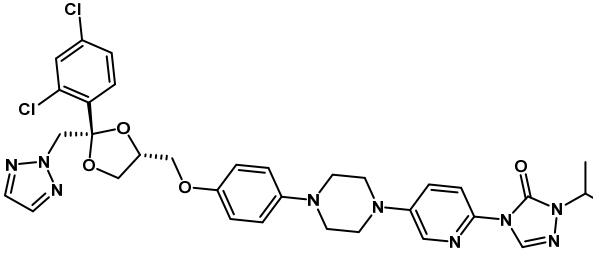
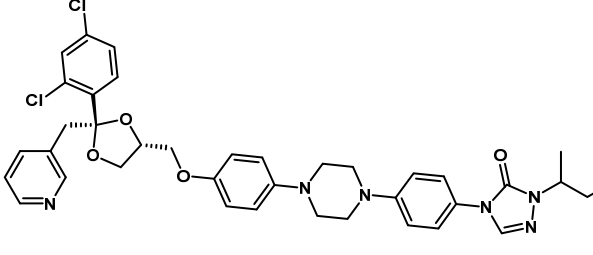
		6.72 (d, $J = 8.8$ Hz, 2H), 5.54 – 5.29 (m, 2H), 4.56 – 4.37 (m, 1H), 4.34 – 4.18 (m, 1H), 4.04 – 3.84 (m, 2H), 3.68 (m, 8H), 3.61 – 3.44 (m, 2H), 1.88 (m, 1H), 1.76 (m, 1H), 1.41 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 0.90 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H).	
17		Trans racémico LC-MS: m/z 755.3 ($M+H$) ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.95 – 7.86 (m, 2H), 7.63 (dd, $J = 4.6, 3.9$ Hz, 2H), 7.49 – 7.37 (m, 5H), 7.18 (m, 1H), 7.08 – 7.01 (m, 2H), 6.92 – 6.84 (m, 2H), 6.72 – 6.61 (m, 2H), 5.42 – 5.27 (m, 3H), 4.38 – 4.22 (m, 2H), 4.01 – 3.90 (m, 2H), 3.89 – 3.76 (m, 2H), 3.36 (m, 4H), 3.22 (m, 4H), 1.90 (m, 1H), 1.74 (m, 1H), 1.41 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.87 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H).	+
18		Trans racémico LC-MS: m/z 705.2 ($M+H$) ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.63 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 7.55 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.49 – 7.39 (m, 3H), 7.17 (dd, $J = 8.5, 2.1$ Hz, 1H), 7.08 – 6.99	+

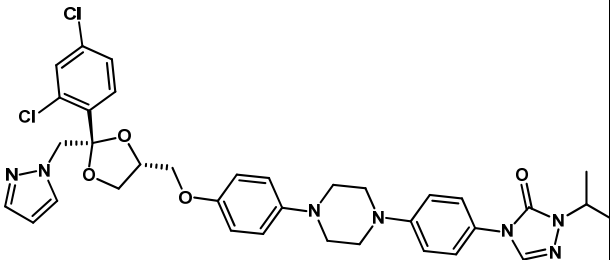
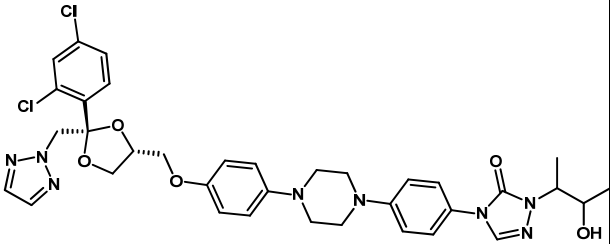
		(m, 2H), 6.96 – 6.84 (m, 2H), 6.77 – 6.63 (m, 2H), 5.19 – 4.96 (m, 2H), 4.32 (m, 2H), 4.03 (m, 2H), 3.95 (m, 1H), 3.86 (m, 1H), 3.75 (m, 1H), 3.30 – 3.15 (m, 4H), 1.88 (m, 1H), 1.81 – 1.64 (m, 1H), 1.41 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.92 (t, J = 7.4 Hz, 3H).	
19		LC-MS: m/z 704.3 ($M+H$) ^1H RMN (400 MHz, $CDCl_3$) δ 7.64 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 7.60 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.54 (s, 1H), 7.49 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.47 – 7.41 (m, 2H), 7.31 – 7.25 (m, 1H), 7.09 – 7.01 (m, 3H), 6.99 – 6.91 (m, 3H), 6.87 – 6.77 (m, 2H), 4.62 – 4.40 (m, 2H), 4.39 – 4.26 (m, 2H), 3.89 (dd, J = 8.4, 6.5 Hz, 1H), 3.82 – 3.71 (m, 2H), 3.41 – 3.34 (m, 4H), 3.31 (dd, J = 9.6, 6.8 Hz, 1H), 3.29 – 3.18 (m, 4H), 1.95 – 1.81 (m, 1H), 1.79 – 1.66 (m, 1H), 1.41 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.92 (t, J = 7.4 Hz, 3H).	++

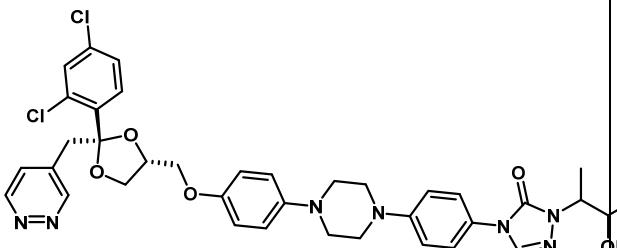
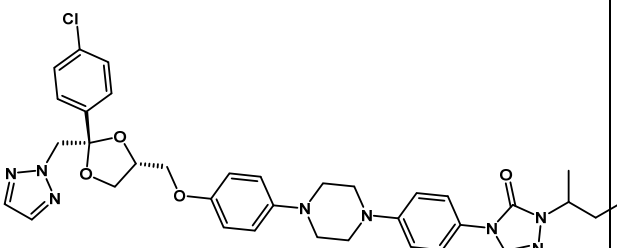
20		LC-MS: m/z 754.3 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ 9.43 (s, 1H), 8.11 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 8.08 – 7.99 (m, 1H), 7.86 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.73 – 7.67 (m, 2H), 7.62 (m, 1H), 7.58 – 7.46 (m, 4H), 7.21 (m, 3H), 6.57 (d, J = 8.9 Hz, 2H), 5.33 – 5.05 (m, 3H), 4.51 – 4.36 (m, 2H), 4.33 – 4.17 (m, 1H), 3.89 (dd, J = 8.5, 7.4 Hz, 1H), 3.79 (dd, J = 8.5, 4.9 Hz, 1H), 3.71 (dd, J = 10.6, 3.1 Hz, 1H), 3.60 – 3.46 (m, 9H), 1.89 (m, 1H), 1.82 – 1.72 (m, 1H), 1.41 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 7.4 Hz, 3H).	++
21		LC-MS: m/z 716.2 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, MeOD) δ 8.98 (s, 1H), 8.65 (s, 2H), 8.10 (s, 1H), 7.63 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.58 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.54 – 7.46 (m, 2H), 7.36 (dd, J = 8.5, 2.1 Hz, 1H), 7.20 (m, 4H), 6.87 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 4.35 (m, 1H), 4.25 (m, 2H), 3.96 – 3.66 (m, 4H), 3.57 – 3.38 (m, 8H), 1.89	++

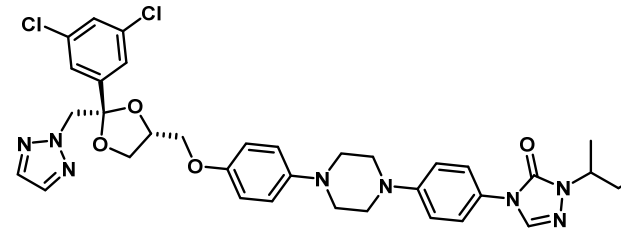
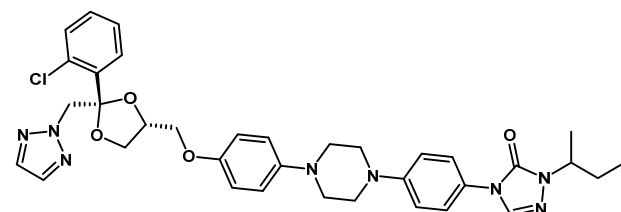
		(m, 1H), 1.75 (m, 1H), 1.40 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 0.90 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H).	
22		LC-MS: m/z 716.2 (M+H) ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 9.13 (dd, $J = 2.2, 1.2$ Hz, 1H), 9.03 (dd, $J = 5.2, 1.2$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 0.6$ Hz, 1H), 7.53 – 7.48 (m, 2H), 7.48 – 7.42 (m, 2H), 7.36 (dd, $J = 5.2, 2.3$ Hz, 1H), 7.24 (dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, 1H), 7.08 – 7.04 (m, 2H), 6.99 – 6.93 (m, 2H), 6.79 – 6.73 (m, 2H), 4.36 – 4.28 (m, 2H), 3.85 (dd, $J = 8.4, 6.8$ Hz, 1H), 3.79 (dd, $J = 8.5, 5.0$ Hz, 1H), 3.74 (dd, $J = 9.7, 5.0$ Hz, 1H), 3.56 – 3.51 (m, 1H), 3.48 (d, $J = 13.8$ Hz, 1H), 3.44 – 3.35 (m, 5H), 3.26 (dd, $J = 6.5, 3.6$ Hz, 4H), 1.87 (m, 1H), 1.80 – 1.71 (m, 1H), 1.42 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 0.93 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H).	+++
23		LC-MS: m/z 715.2 (M+H) ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8.51 – 8.44 (m, 2H), 7.64 (m, 1H), 7.51 – 7.42 (m, 4H), 7.24 – 7.15 (m, 3H),	+++

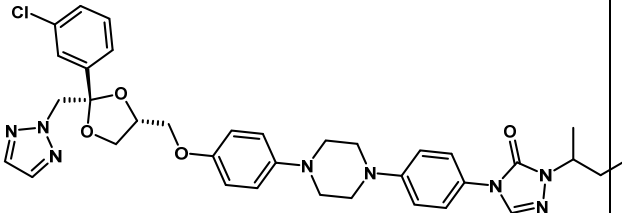
		7.10 – 7.03 (m, 2H), 7.00 – 6.91 (m, 2H), 6.80 – 6.71 (m, 2H), 4.39 – 4.27 (m, 2H), 3.90 – 3.79 (m, 2H), 3.59 – 3.45 (m, 3H), 3.45 – 3.33 (m, 5H), 3.32 – 3.19 (m, 4H), 1.87 (m, 1H), 1.78 (m, 1H), 1.42 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 0.93 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H).	
24		LC-MS: m/z 706.3(M+H) ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8.28 (dd, $J = 2.8, 0.7$ Hz, 1H), 7.75 (dd, $J = 9.1, 2.8$ Hz, 1H), 7.61 (d, $J = 2.2$ Hz, 3H), 7.56 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.23 (dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, 1H), 6.99 – 6.91 (m, 2H), 6.84 – 6.76 (m, 3H), 5.26 – 4.97 (m, 2H), 4.46 – 4.36 (m, 1H), 4.34 – 4.24 (m, 1H), 4.01 – 3.83 (m, 3H), 3.83 – 3.73 (m, 4H), 3.46 (dd, $J = 9.5, 7.1$ Hz, 1H), 3.27 – 3.14 (m, 4H), 1.89 (m, 1H), 1.80 – 1.72 (m, 1H), 1.42 (s, 2H), 0.94 (d, $J = 7.4$ Hz, 3H).	++

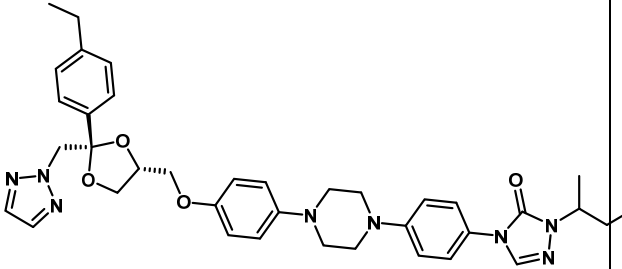
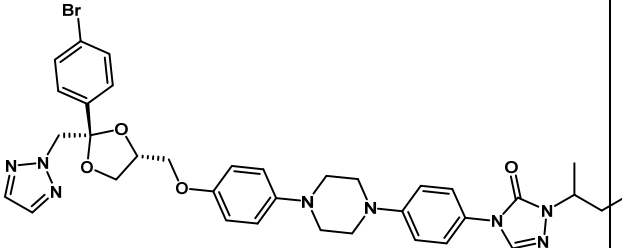
25		LC-MS: m/z 706.2 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ 8.28 (dd, <i>J</i> = 2.8, 0.7 Hz, 1H), 7.75 (dd, <i>J</i> = 9.1, 2.8 Hz, 1H), 7.61 (d, <i>J</i> = 2.2 Hz, 3H), 7.56 (d, <i>J</i> = 8.4 Hz, 1H), 7.48 (d, <i>J</i> = 2.1 Hz, 1H), 7.23 (dd, <i>J</i> = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 6.99 – 6.91 (m, 2H), 6.84 – 6.76 (m, 3H), 5.26 – 4.97 (m, 2H), 4.46 – 4.36 (m, 1H), 4.34 – 4.24 (m, 1H), 4.01 – 3.83 (m, 3H), 3.83 – 3.73 (m, 4H), 3.46 (dd, <i>J</i> = 9.5, 7.1 Hz, 1H), 3.27 – 3.14 (m, 4H), 1.89 (m, 1H), 1.80 – 1.72 (m, 1H), 1.42 (d, <i>J</i> = 6.4 Hz, 3H), 0.94 (d, <i>J</i> = 7.4 Hz, 3H).	+
26		LC-MS: m/z 715.3 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ 8.48 (m, 2H), 7.64 (m, 1H), 7.55 (m, 1H), 7.46 (m, 4H), 7.23 (dd, <i>J</i> = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 7.16 (m, 1H), 7.05 (m, 2H), 6.94 (m, 2H), 6.75 (m, 2H), 4.31 (m, 2H), 3.81 (m, 2H), 3.72 (m, 1H), 3.49-3.34 (m, 7H), 3.27 – 3.14 (m, 4H), 1.89 (m, 1H), 1.80 –	++

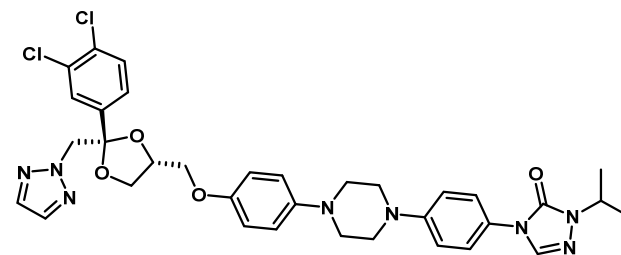
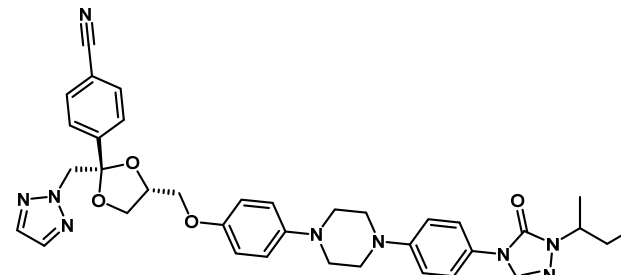
		1.72 (m, 1H), 1.42 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.4$ Hz, 3H).	
27		LC-MS: m/z 704.2 (M+H) ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7.64 (d, $J = 0.6$ Hz, 1H), 7.60 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.51 (td, $J = 2.3$, 0.7 Hz, 2H), 7.49 – 7.41 (m, 3H), 7.25 (dd, J $= 8.4, 2.1$ Hz, 1H), 7.08 – 7.02 (m, 2H), 6.99 – 6.90 (m, 2H), 6.83 – 6.74 (m, 2H), 6.24 (t, $J =$ 2.1 Hz, 1H), 4.91 – 4.63 (m, 2H), 4.45 – 4.24 (m, 2H), 3.94 – 3.74 (m, 3H), 3.43 – 3.30 (m, 5H), 3.29 – 3.15 (m, 4H), 1.94 – 1.85 (m, 1H), 1.76 (m, 1H), 1.42 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H), 0.94 (d, $J = 7.4$ Hz, 3H).	+
28		LC-MS: m/z 721.3 (M+H) ^1H RMN (400 MHz, MeOD) δ 8.09 (s, 1H), 7.57 – 7.50 (m, 5H), 7.43 (d, $J =$ 8.9 Hz, 2H), 7.30 (dd, $J =$ 8.6, 2.1 Hz, 2H), 7.24 – 7.17 (m, 2H), 7.12 – 7.02 (m, 2H), 5.11 (m, 2H), 4.49 – 4.38 (m, 1H), 4.17 (m, 1H), 3.99 (m, 3H), 3.93 – 3.76 (m, 2H), 3.70 – 3.50 (m, 8H), 1.40 (d,	++

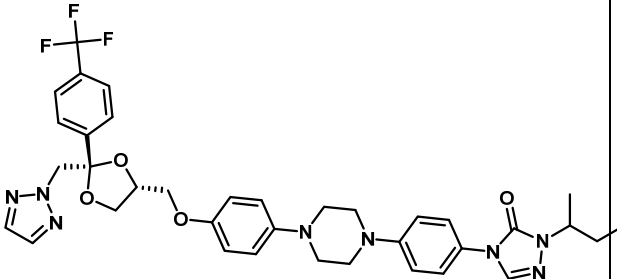
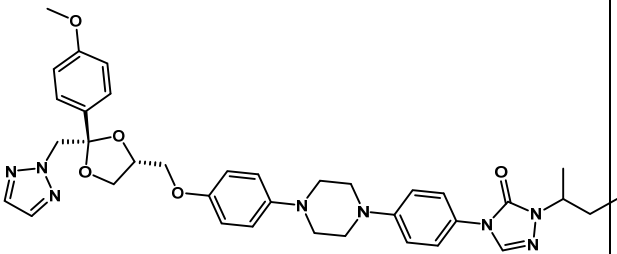
		$J = 6.9 \text{ Hz, 3H),}$ $1.28 \text{ (d, } J = 6.4 \text{ Hz, 3H).}$	
29		LC-MS: m/z 732.2 (M+H) $^1\text{H RMN (400 MHz, MeOD) } \delta$ 9.16 (s, 1H), 9.04 (s, 1H), $8.10 \text{ (d, } J = 7.5 \text{ Hz, 1H),}$ $7.72 \text{ (d, } J = 4.0 \text{ Hz, 1H),}$ $7.67 \text{ (d, } J = 8.5 \text{ Hz, 1H),}$ $7.59 \text{ (d, } J = 2.1 \text{ Hz, 1H),}$ $7.54 \text{ (dd, } J = 9.1, 2.7 \text{ Hz, 2H),}$ $7.49 \text{ (d, } J = 7.7 \text{ Hz, 2H),}$ $7.39 \text{ (dd, } J = 8.5, 2.1 \text{ Hz, 1H),}$ $7.29 - 7.17 \text{ (m, 2H),}$ $6.95 \text{ (d, } J = 8.7 \text{ Hz, 2H),}$ $4.42 - 4.33 \text{ (m, 1H),}$ $4.16 \text{ (h, } J = 7.1 \text{ Hz, 1H),}$ $4.04 - 3.95 \text{ (m, 1H),}$ $3.92 - 3.79 \text{ (m, 3H),}$ 3.72 (s, 4H), $3.64 \text{ (q, } J = 6.8, 5.1 \text{ Hz, 4H),}$ $3.61 - 3.50 \text{ (m, 2H),}$ $1.48 \text{ (d, } J = 6.8 \text{ Hz, 3H),}$ $1.15 \text{ (d, } J = 6.3 \text{ Hz, 3H).}$	+++
30		LCMS: 100 % @ 262 nm; m/z 671.41 (M+H). $^1\text{HRMN (400 MHz, CDCl}_3\text{):}$ $0.90\text{-}0.94 \text{ (t, } J=7.2 \text{ Hz, 3H)}$ $, 1.40\text{-}1.42 \text{ (d, } J=6.4 \text{ Hz, 3H)}$ $, 1.72\text{-}1.77 \text{ (m, 1H),}$ $1.85\text{-}1.90 \text{ (m, 1H),}$ $3.17\text{-}3.36 \text{ (m, 4H),}$ $3.41\text{-}3.43 \text{ (m, 5H),}$ $3.77\text{-}3.80 \text{ (m, 1H),}$ $3.86\text{-}3.90 \text{ (m, 2H),}$	++

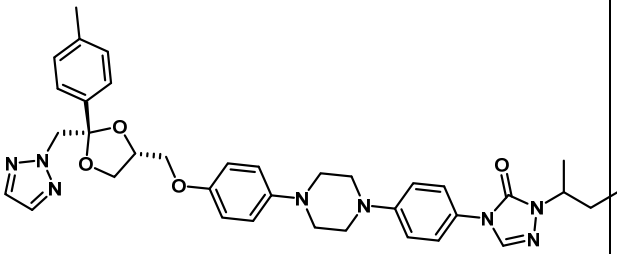
		4.29-4.34 (m, 1H), 4.37-4.38 (m, 1H), 4.84 (s, 2H), 6.82 (s, 2H), 6.90-6.91 (m, 2H), 7.05-7.07 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.35-7.37 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.46-7.54 (d, J=8.4 Hz, 4H), 7.63-7.65 (m, 3H).	
31		LCMS: 100 % @ 262 nm; m/z 705.46 (M+H). ¹ HRMN (400 MHz, CDCl ₃): 0.90-0.94 (t, J=7.2 Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, J=6.4 Hz, 3H), 1.70-1.77 (m, 1H), 1.85-1.92 (m, 1H), 3.27-3.39 (s, 4H), 3.39-3.47 (s, 4H), 3.48-3.51 (m, 1H), 3.80-3.84 (m, 1H), 3.89-3.95 (m, 2H), 4.29-4.34 (m, 1H), 4.38-4.42 (m, 1H), 4.83 (s, 2H), 6.80-6.82 (d, J=8.8 Hz, 2H), 6.961 (s, 2H), 7.04-7.07 (d, J=9.2 Hz, 2H), 7.36-7.40 (m, 3H), 7.44-7.46 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.64 (d, J=2.8 Hz, 3H).	++
32		LCMS: 100 % @ 262 nm; m/z 671.41 (M+H). ¹ HRMN (400 MHz, CDCl ₃): 0.90-0.94 (t, J=7.6 Hz, 3H), 1.40-1.43 (d, J=4.4 Hz, 3H)	+

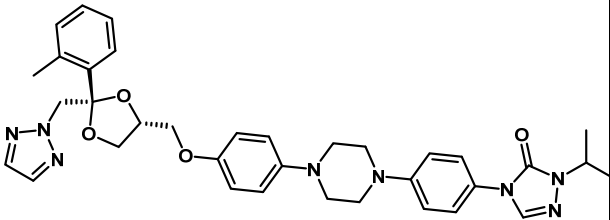
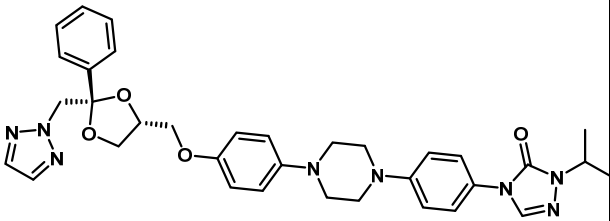
		, 1.69-1.79 (m, 1H), 1.85-1.92 (m, 1H), 3.26-3.51 (m, 9H), 3.82-3.88 (m, 2H), 3.93-3.96 (m, 1H), 4.29-4.34 (m, 1H), 4.37-4.43 (m, 1H), 5.08-5.11 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 5.22-5.25 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 6.79-6.81 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 6.91-6.95 (m, 2H), 7.02-7.07 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.24-7.28 (m, 1H), 7.31-7.35 (m, 1H), 7.44-7.48 (m, 3H), 7.63-7.68 (m, 4H).	
33		LCMS: 99.39% @ 262 nm; m/z 671.41 (M+H). ^1HRMN (400 MHz, CDCl_3): 0.90-0.94 (t, $J=7.6$ Hz, 3H), 1.40-1.43 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.69-1.79 (m, 1H), 1.83-1.92 (m, 1H), 3.27-3.44 (m, 9H), 3.77-3.81 (m, 1H), 3.86-3.94 (m, 2H), 4.29-4.34 (m, 1H), 4.36-4.42 (m, 1H), 4.84 (s, 2H), 6.79-6.81 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 6.95 (s, 2H), 7.02-7.07 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.30-7.37 (m, 2H), 7.41-7.46 (m, 3H), 7.53-7.54 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 7.63-7.65 (m,	++

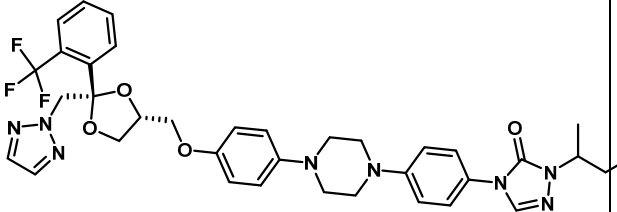
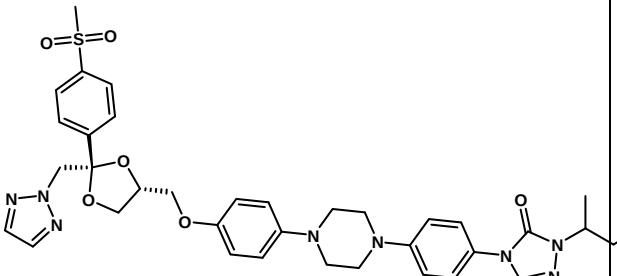
		3H).	
34		LCMS: 100% @ 262 nm; m/z 682.56 (M+H). ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): 0.90-0.94 (t, J=7.6 Hz, 3H), 1.25-1.28 (t, J=7.6 Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, J=6.8 Hz, 3H), 1.68-1.77 (m, 1H), 1.85-1.90 (m, 1H), 2.66-2.71 (q, 2H), 3.29-3.33 (m, 5H), 3.42 (s, 4H), 3.72-3.75 (m, 1H), 3.80-3.83 (m, 1H), 3.89-3.93 (t, J=8.4 Hz, 1H), 4.29-4.39 (m, 2H), 4.85 (s, 2H), 6.78-6.80 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.02-7.07 (m, 4H), 7.23-7.25 (d, J=8.4 Hz, 2H), 7.44-7.50 (q, 4H), 7.64 (s, 3H).	++
35		LCMS: 99.39% @ 262 nm; m/z 717.46 (M+H). ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): 0.90-0.94 (t, J=7.2 Hz, 3H), 1.40-1.43 (d, J=6.8 Hz, 3H), 1.70-1.77 (m, 1H), 1.85-1.92 (m, 1H), 3.28 (s, 4H), 3.41-3.45 (m, 5H), 3.77-3.81 (m, 1H), 3.86-3.92 (m, 2H), 4.29-4.39 (m, 2H), 4.84 (s, 2H), 6.80-6.82 (d, J=6.8 Hz, 2H), 6.95-6.96	++

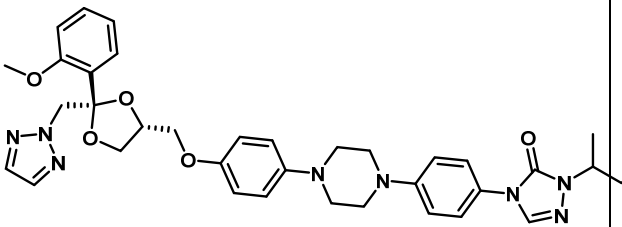
		(s, 2H), 7.05-7.07 (d, $J=9.2$ Hz, 2H), 7.40-7.47 (m, 4H), 7.51-7.53 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.62-7.64 (d, $J=7.2$ Hz, 3H).	
36		LCMS: 100% @ 262 nm; m/z 705.36 (M+H). $^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): 0.90-0.94 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.72-1.75 (m, 1H), 1.84-1.88 (m, 1H), 3.26 (s, 4H), 3.39 (s, 4H), 3.46-3.50 (q, 1H), 3.79-3.83 (m, 1H), 3.91-3.92 (d, $J=5.2$ Hz, 2H), 4.30-4.41 (m, 2H), 4.84 (s, 2H), 6.80-6.82 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 6.95 (s, 2H), 7.04-7.06 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.32-7.35 (dd, $J_1=10.4$ Hz y $J_2=2.0$ Hz, 3H), 7.44-7.46 (m, 3H), 7.60-7.64 (m, 4H).	+
37		LCMS: 99.81% @ 262 nm; m/z 662.55 (M+H). $^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): 0.90-0.94 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.40-1.43 (d, $J=4.8$ Hz, 3H), 1.70-1.77 (m, 1H), 1.85-1.92 (m, 1H), 3.28 (s, 4H), 3.40 (s, 4H), 3.51-3.58 (q, 1H), 3.84-	++

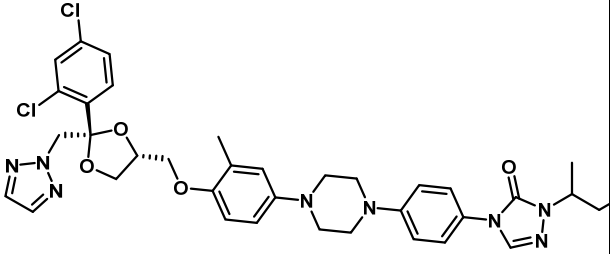
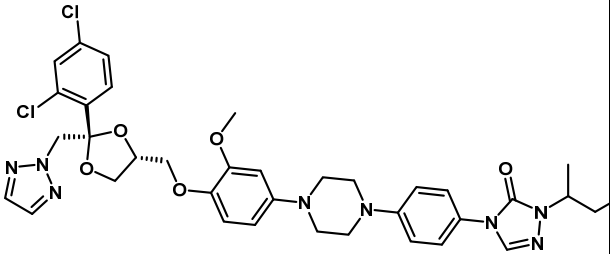
		3.89 (m, 1H), 3.92-3.96 (m, 2H), 4.29-4.34 (m, 1H), 4.37-4.40 (m, 1H), 4.86 (s, 2H), 6.81-6.83 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 6.97 (s, 2H), 7.02-7.04 (d, 2H), 7.44-7.46 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.61-7.64 (m, 5H), 7.66-7.69 (m, 2H).	
38		LCMS: 100% @ 262 nm; m/z 705.41 ($M+H$). $^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): 0.91-0.94 (t, $J=7.6$ Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.72-1.77 (m, 1H), 1.85-1.90 (m, 1H), 3.17 (s, 1H), 3.27 (s, 2H), 3.41-3.48 (m, 6H), 3.78-3.82 (m, 1H), 3.89-3.92 (m, 2H), 4.29-4.41 (m, 2H), 4.87 (s, 2H), 6.83-6.92 (m, 4H), 7.06-7.08 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.46-7.48 (d, $J=6.0$ Hz, 2H), 7.63-7.67 (m, 6H), 7.78-7.98 (m, 1H).	++
39		LCMS: 96.30% @ 261 nm; m/z 667.46 ($M+H$). $^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): 0.90-0.94 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, $J=6.4$ Hz, 3H), 1.70-1.77 (m,	++

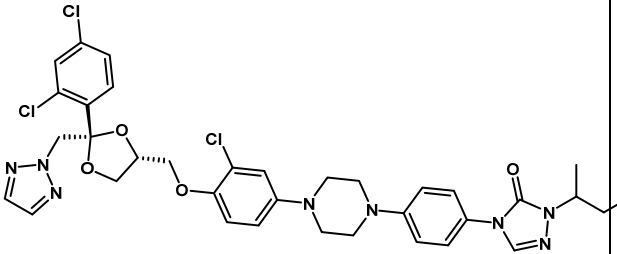
		1H), 1.85-1.92 (m, 1H), 3.26-3.39 (m, 9H), 3.73-3.76 (m, 1H), 3.82-3.92 (m, 5H), 4.29-4.39 (m, 2H), 4.84 (s, 2H), 6.80 (s, 2H), 6.90- 6.92 (m, 4H), 7.05-7.07 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.45-7.49 (m, 4H), 7.63-7.64 (d $J=4.8$ Hz, 3H).	
40		LCMS: 100% @ 262 nm; m/z 651.45 (M+H). ¹ HRMN (400 MHz, CDCl ₃): 0.90-0.94 (t, $J=7.2$ Hz, 3H) , 1.40-1.42 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.70-1.77 (m, 1H), 1.85-1.90 (m, 1H), 2.38 (s, 3H), 3.16- 3.39 (m, 8H), 3.72-3.76 (m, 2H), 3.82-3.85 (m, 1H), 3.88-3.92 (m, 1H), 4.29-4.38 (m, 2H), 4.85 (s, 2H), 6.80 (s, 2H), 6.89- 6.94 (m, 2H), 7.02-7.07 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.20-7.22 (d, $J=8.0$ Hz, 2H), 7.44-7.46 (d, $J=8.0$ Hz, 4H), 7.64-7.65 (m, 3H).	++

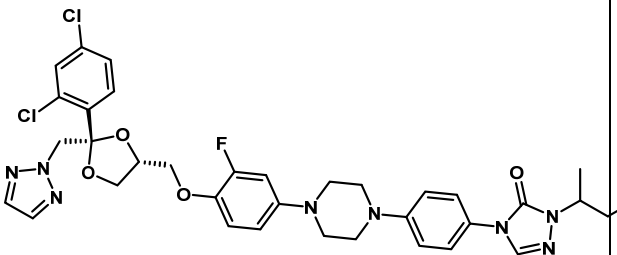
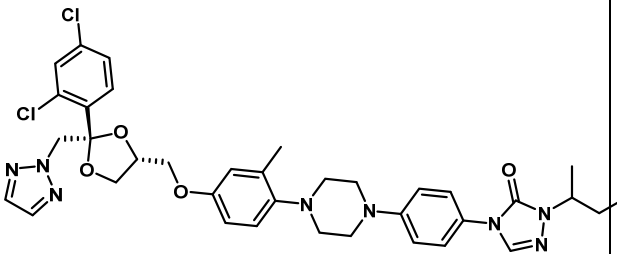
41		LCMS: 100% @ 261 nm; m/z 651.55 (M+H). ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): 0.91-0.94 (t, J=7.6 Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, J=6.8 Hz, 3H), 1.72-1.77 (m, 1H), 1.85-1.90 (m, 1H), 2.65 (s, 3H), 3.29- 3.33 (m, 5H), 3.41 (s, 4H), 3.76-3.81 (m, 2H), 3.88-3.92 (m, 1H), 4.30-4.36 (m, 2H), 4.87-4.95 (q, 2H), 6.78-6.81 (d, J=8.4 Hz, 2H), 6.97-7.00 (m, 2H), 7.02-7.07 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.21-7.24 (m, 2H), 7.45-7.47 (d, J=8.8 Hz, 3H), 7.63-7.67 (m, 4H).	++
42		LCMS: 100 % @ 261 nm; m/z 637.45 (M+H). ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): 0.92 (t, J=7.6 Hz, 3H), 1.41 (d, J=6.8 Hz, 3H), 1.72-1.77 (m, 1H), 1.86-1.89 (m, 1H), 3.30-3.43 (m, 9H), 3.73-3.78 (m, 1H), 3.83-3.86 (m, 1H), 3.89-3.93 (m, 1H), 4.30-4.33 (m, 1H), 4.37-4.40 (m, 1H), 4.87 (s, 2H), 6.79-6.81 (d, J=8.0 Hz, 2H), 7.02-7.07 (m, 4H), 7.38-7.42	+++

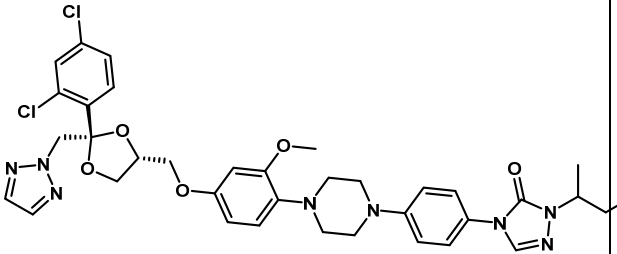
		(m, 3H), 7.44-7.47(d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.56-7.59(m, 2H), 7.64 (m, 3H)	
43		LCMS: 100% @ 262 nm; m/z 705.61 (M+H). $^1\text{HMRN}$ (400 MHz, CDCl_3): 0.91-0.94 (t, $J=7.6$ Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, $J=6.4$ Hz, 3H), 1.70-1.77 (m, 1H), 1.85-1.92 (m, 1H), 3.26 (s, 4H), 3.37- 3.41 (m, 4H), 3.82-3.87 (m, 2H), 3.90-3.94 (m, 1H), 4.29-4.34 (m, 3H), 4.94-5.04.(q, 2H), 6.78-6.80 (d, $J=7.6$ Hz, 2H), 6.95 (s, 2H), 7.04-7.07 (d, $J=8.8$ Hz,2H), 7.44-7.46 (d, $J=8.4$ Hz, 2H), 7.50-7.55 (m, 2H), 7.63-7.64 (m, 3H), 7.74-7.75 (d, $J=6.8$ Hz,1H), 7.80-7.83 (m, 1H).	+
44		LCMS: 99.84% @ 261 nm; m/z 715.31 (M+H). $^1\text{HMRN}$ (400 MHz, CDCl_3): 0.91-0.94 (t, $J=7.6$ Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, $J=6.8$ Hz,3H), 1.70-1.77 (m, 1H), 1.85-1.92 (m, 1H), 3.08-3.09 (s, 3H), 3.25- 3.27 (m, 4H), 3.37-3.40 (m, 4H), 3.51-3.55 (m, 1H),	+

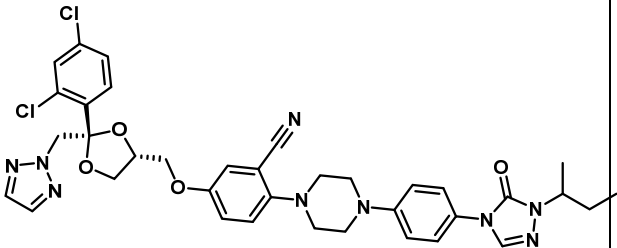
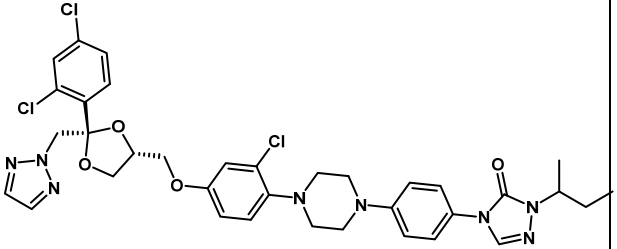
		3.83-3.85 (m, 1H), 3.92-3.94 (m, 2H), 4.30-4.33 (m, 1H), 4.38-4.40 (m, 1H), 4.88 (s, 2H), 6.80-6.82 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 6.95-6.97 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.04-7.06 (d, $J=9.2$ Hz, 2H), 7.44-7.46 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.62-7.64 (d, $J=8.0$ Hz, 3H), 7.72-7.75 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.95-7.97 (d, $J=8.8$ Hz, 2H).	
45		LCMS: 100% @ 262 nm; m/z 667.36 (M+H). ^1HRMN (400 MHz, CDCl_3): 0.91-0.94 (t, $J=7.6$ Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.72-1.77 (m, 1H), 1.85-1.90 (m, 1H), 3.26 (s, 4H), 3.34-3.39 (m, 5H), 3.74-3.77 (m, 1H), 3.82-3.85 (m, 3H), 3.89-3.91 (m, 2H), 4.31-4.38 (m, 2H), 4.84 (s, 2H), 6.77-6.81 (s, 2H), 6.90-6.93 (d, $J=8.8$ Hz, 4H), 7.02-7.07 (d, $J=9.2$ Hz, 2H), 7.47-7.54 (m, 4H), 7.63-7.65 (m, 3H).	+

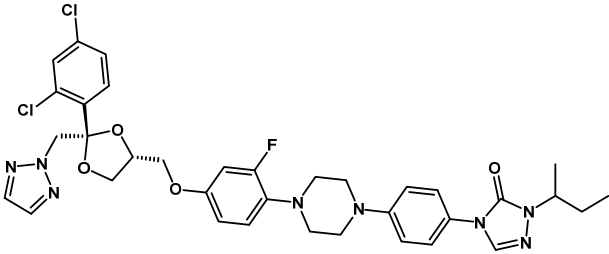
46		LCMS: 100% @ 262 nm; m/z 719.51 (M+H). ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): 0.91-0.94 (t, J=7.2 Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, J=6.8 Hz, 3H), 1.72-1.77 (m, 1H), 1.85-1.90 (m, 1H), 2.16-2.19 (s, 3H), 3.25 (s, 4H), 3.38 (s, 4H), 3.48-3.52 (q, 1H), 3.91-4.00 (m, 3H), 4.29-4.34 (m, 1H), 4.39-4.41 (m, 1H), 5.06-5.09 (d, J=14.0 Hz, 1H), 5.17-5.20 (d, J=14.0 Hz, 1H), 6.69-6.71 (d, J=8.0 Hz, 1H), 6.78-6.84 (m, 2H), 7.04-7.06 (d, J=9.2 Hz, 2H), 7.20-7.23 (dd, J₁=10.4 Hz y J₂=2.0 Hz, 1H), 7.44-7.48 (m, 3H), 7.52-7.54 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.60-7.64 (m, 3H).	+
47		LCMS: 100% @ 262 nm; m/z 752.51 (M+H). ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): 0.90-0.94 (t, J=7.6 Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, J=6.8 Hz, 3H), 1.69-1.77 (m, 1H), 1.83-1.92 (m, 1H), 3.34 (s, 4H), 3.45-3.52 (m, 5H), 3.85 (s, 3H), 3.94-3.98 (m, 3H), 4.29-	+

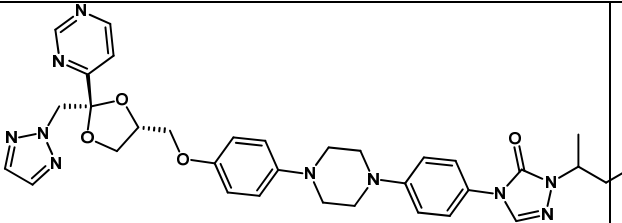
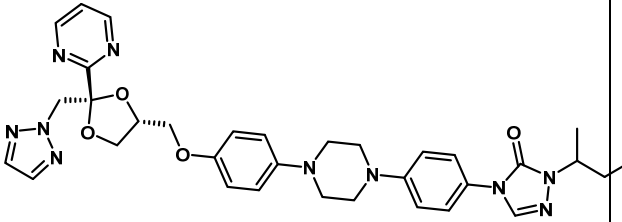
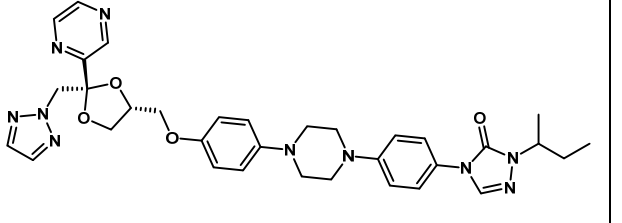
		4.34 (q, 1H), 4.41-4.44 (q, 1H), 5.06-5.10 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 5.14-5.21 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 6.60 (s, 1H), 6.73 (s, 1H), 6.82-6.84 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.05-7.07 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.19-7.22 (dd, $J_1=10.4$ Hz y $J_2=2.0$ Hz 1H), 7.44-7.47 (m, 3H), 7.51-7.53 (d, $J=8.4$ Hz, 1H), 7.60-7.65 (m, 3H).	
48		LCMS: 100% @ 262 nm; m/z 758.56 (M+H). ^1HRMN (400 MHz, CDCl_3): 0.90-0.94 (t, $J=7.6$ Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.70-1.77 (m, 1H), 1.85-1.92 (m, 1H), 3.27-3.28 (s, 4H), 3.37-3.38 (s, 4H), 3.50-3.54 (q, 1H), 3.96-4.03 (m, 3H), 4.29-4.34 (q, 1H), 4.40-4.41 (q, 1H), 5.07-5.10 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 5.16-5.20 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 6.86 (s, 2H), 7.02-7.06 (m, 3H), 7.20-7.22 (dd, $J_1=10.4$ Hz y $J_2=2.0$ Hz 1H), 7.44 (s, 1H), 7.46-7.47 (m, 2H), 7.52-7.54 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.60 (s,	++

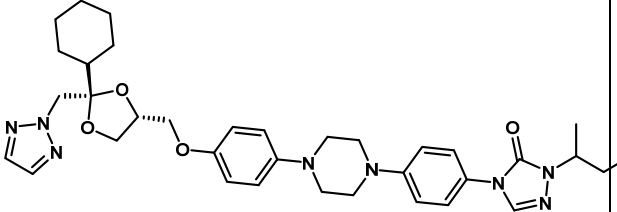
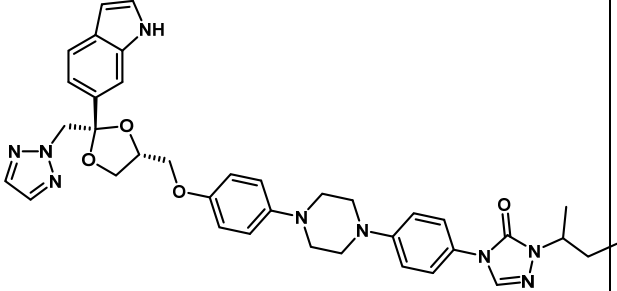
		2H), 7.64 (s, 1H).	
49		LCMS: 100% @ 263 nm; m/z 723.81 (M+H). ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): 0.90-0.94 (t, J=7.2 Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, J=6.8 Hz, 3H), 1.70-1.77 (m, 1H), 1.84-1.92 (m, 1H), 3.25-3.28 (m, 4H), 3.36-3.38 (m, 4H), 3.50-3.55 (q, 1H), 3.92-3.95 (m, 3H), 4.29-4.34 (q, 1H), 4.37-4.42 (q, 1H), 5.04-5.08 (d, J=14.4 Hz, 1H), 5.16-5.20 (d, J=14.4 Hz, 1H), 6.65-6.66 (m, 1H), 6.67-6.76 (dd, J₁=16.8 Hz y J₂=3.2 Hz 1H), 6.86-6.90 (t, J=9.2 Hz, 1H), 7.03-7.06 (d, J=8.8 Hz, 2H), 7.20-7.23 (dd, J₁=10.4 Hz y J₂=2.0 Hz 1H), 7.43-7.47 (m, 3H), 7.52-7.55 (d, J=8.4 Hz, 1H), 7.58-7.64 (m, 3H).	++
50		LCMS: 100% @ 265 nm; m/z 719.61 (M+H). ¹HRMN (400 MHz, CDCl₃): 0.90-0.94 (t, J=7.2 Hz 3H), 1.40-1.42 (d, J=6.8 Hz, 3H), 1.70-1.77 (m, 1H), 1.85-1.92 (m, 1H), 2.34 (s,	++

		3H), 3.05 (s, 4H), 3.38-3.47 (m, 5H), 3.86-3.96 (m, 3H), 4.29-4.41 (m, 2H), 5.05-5.09 (d, , $J=14.4$ Hz 1H), 5.17-5.21 (d, , $J=14.4$ Hz 1H), 6.64-6.73 (m, 2H), 7.02-7.04 (m, 3H), 7.21-7.24 (dd, $J_1=10.4$ Hz y $J_2=2.0$ Hz 1H), 7.44-7.48 (m, 3H), 7.54-7.57 (d, $J=6.8$ Hz, 1H), 7.62-7.65 (m, 3H).	
51		LCMS: 100% @ 262 nm; m/z 735.31 (M+H). $^1\text{HMRN}$ (400 MHz, CDCl_3): 0.90-0.94 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.72-1.77 (m, 1H), 1.85-1.90 (m, 1H), 3.16-3.18 (s, 4H), 3.40-3.42 (m, 4H), 3.47-3.50 (m, 1H), 3.84-3.97 (m, 5H), 4.29-4.34 (q, 1H), 4.39-4.41 (q, 1H), 5.05-5.09 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 5.18-5.22 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 6.34-6.37 (dd, $J_1=11.2$ Hz y $J_2=2.8$ Hz 1H), 6.47-6.48 (d, $J=2.8$ Hz, 1H), 6.89-6.91 (d, $J=8.8$ Hz, 1H), 7.04-7.06 (d, $J=8.8$ Hz, 2H), 7.22-7.24	++

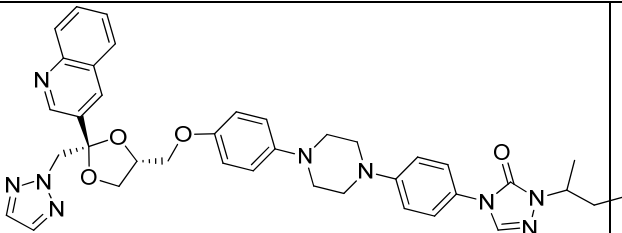
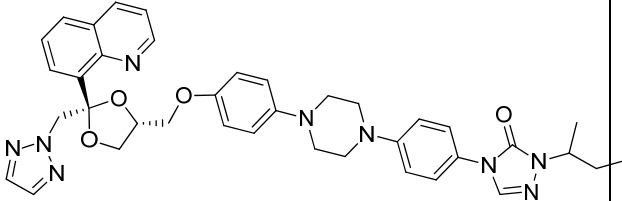
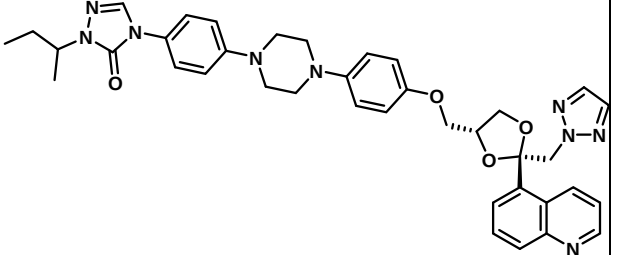
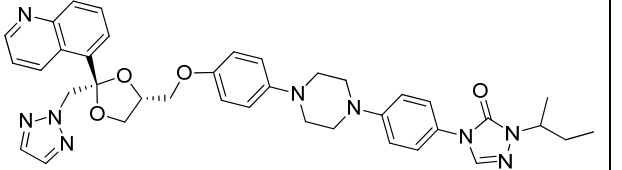
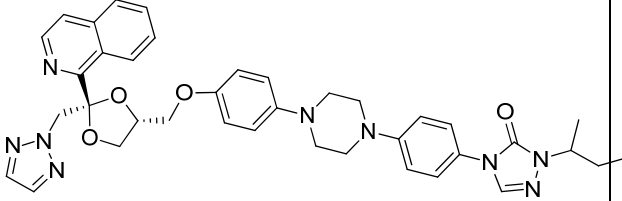
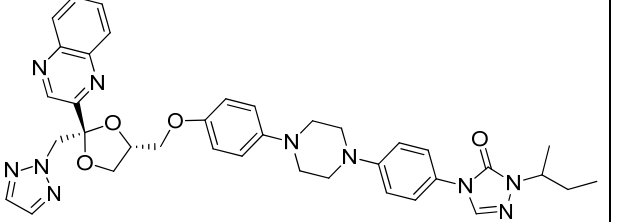
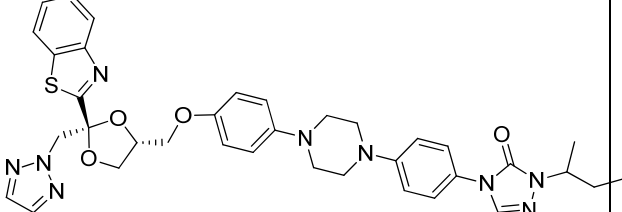
		(dd, $J_1=10.4$ Hz y $J_2=2.0$ Hz 1H), 7.42-7.48 (m, 3H), 7.55-7.64 (m, 4H).	
52		LCMS: 99.78% @ 265 nm; m/z 730.51 (M+H). $^1\text{HMRN}$ (400 MHz, CDCl_3): 0.91-0.94 (t, $J=7.6$ Hz, 3H), 1.41-1.42 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.71-1.78 (m, 1H), 1.85-1.89 (m, 1H), 3.30-3.37 (m, 5H), 3.47-3.51 (m, 4H), 3.80-3.83 (m, 1H), 3.86-3.89 (m, 1H), 3.93-3.97 (m, 1H), 4.31-4.33 (q, 1H), 4.39-4.42 (q, 1H), 5.05-5.09 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 5.17-5.20 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 7.02-7.10 (m, 3H), 7.20-7.26 (m, 3H), 7.46-7.59 (m, 4H), 7.64-7.67 (m, 3H).	++
53		LCMS: 100% @ 263 nm; m/z 741.56 (M+H). $^1\text{HMRN}$ (400 MHz, CDCl_3): 0.91-0.94 (t, $J=7.6$ Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.71-1.77 (m, 1H), 1.85-1.90 (m, 1H), 3.17 (s, 4H), 3.41-3.46 (m, 4H), 3.51 (s, 1H), 3.81-3.84 (m, 1H), 3.87-3.96 (m, 2H), 4.29-4.36 (q,	++

		1H), 4.37-4.41 (q, 1H), 5.05-5.08 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 5.17-5.20 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 6.73-6.76 (dd, $J_1=11.6$ Hz y $J_2=2.8$ Hz 1H), 6.92-6.93 (d, $J=302$ Hz, 1H), 7.02-7.07 (m, 3H), 7.22-7.25 (dd, $J_1=10.4$ Hz y $J_2=2.0$ Hz 1H), 7.44-7.49 (m, 3H), 7.54-7.57 (m, 1H), 7.63-7.64 (m, 3H).	
54		LCMS: 100% @ 263 nm; m/z 723.81 (M+H). $^1\text{HRMN}$ (400 MHz, CDCl_3): 0.90-0.94 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 1.40-1.42 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 1.70-1.77 (m, 1H), 1.85-1.92 (m, 1H), 3.17-3.20 (m, 4H), 3.38-3.46 (m, 5H), 3.80-3.83 (m, 1H), 3.86-3.96 (m, 2H), 4.29-4.36 (q, 1H), 4.37-4.40 (q, 1H), 5.04-5.08 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 5.17-5.21 (d, $J=14.4$ Hz, 1H), 6.56-6.64 (m, 2H), 6.92-6.97 (t, 1H), 7.04-7.06 (d, $J=9.2$ Hz, 2H), 7.22-7.25 (dd, $J_1=10.4$ Hz y $J_2=2.0$ Hz 1H), 7.43-7.48 (m, 3H), 7.55-7.59 (m, 1H), 7.62-7.64 (m, 3H).	+++

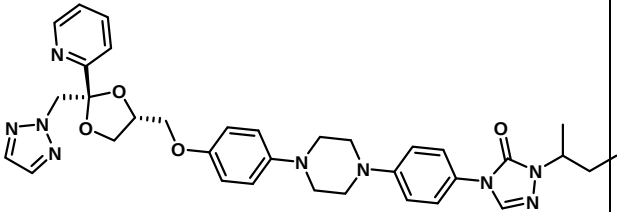
55			
56		LC-MS: m/z 639.2 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃): 8.77 (d, J = 8.63 Hz, 1H), 7.61 (s, 1H), 7.59 (s, 2H), 7.47 (m, 1H), 7.26 (m, 1H), 6.95 (m, 2H), 6.87 (m, 2H), 6.81 (m, 2H), 5.27 (dd, J = 24.4 Hz, 11.6 Hz, 2H), 4.42 (m, 1H), 4.30 (m, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.97- 3.81 (m, 2H), 3.50 (dd, J = 7.6 Hz, 5.6 Hz, 1H), 3.37 (m, 4H), 3.25 (m, 4H), 1.87 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.38 (d, J = 5.2 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 6.0 Hz, 3H).	+
57		LC-MS: m/z 639.1 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ 8.85 (d, J = 1.5 Hz, 1H), 8.66 (dd, J = 2.5, 1.5 Hz, 1H), 8.61 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 0.6 Hz, 1H), 7.62 (s, 2H), 7.48 – 7.40 (m, 2H), 7.08 – 7.01 (m, 2H), 6.94 – 6.86 (m, 2H), 6.79 – 6.69 (m, 2H), 5.22 – 5.05 (m, 2H), 4.42 (m, 1H),	+

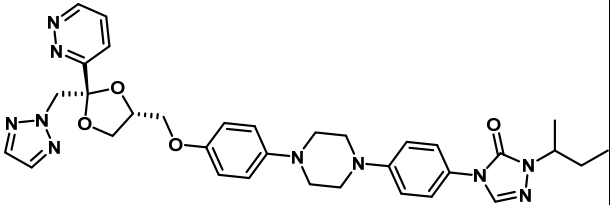
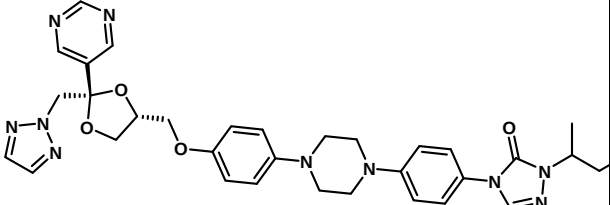
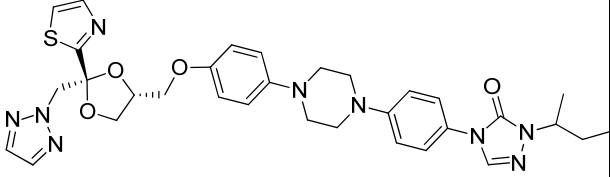
		4.37 – 4.22 (m, 1H), 4.15 (m, 3H), 4.09 – 3.93 (m, 4H), 3.37 (m, 4H), 3.23 (m, 4H), 1.98 – 1.83 (m, 1H), 1.82 – 1.72 (m, 1H), 1.41 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.92 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H).	
58		LC-MS: m/z 643.2 (M+H) ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7.66 (d, $J = 0.6$ Hz, 2H), 7.64 (t, $J = 0.7$ Hz, 1H), 7.49 – 7.42 (m, 2H), 7.11 – 7.03 (m, 2H), 6.97 (m, 2H), 6.85 (d, $J = 8.4$ Hz, 2H), 4.70 (s, 2H), 4.44 – 4.37 (m, 1H), 4.32 (dt, $J = 8.6, 6.4$ Hz, 1H), 4.18 (dd, $J = 8.3, 6.3$ Hz, 1H), 3.93 (dd, $J = 9.7, 4.8$ Hz, 1H), 3.60 (dd, $J = 9.6, 6.0$ Hz, 1H), 3.50 – 3.12 (m, 9H), 2.08 – 1.65 (m, 7H), 1.42 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 1.22 (m, 6H), 0.93 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H).	+
59			

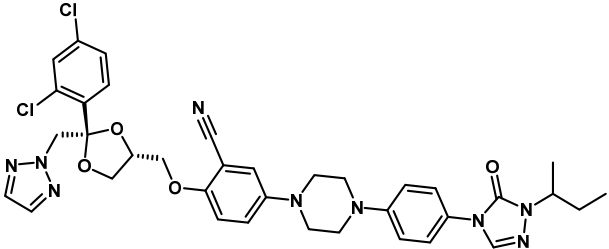
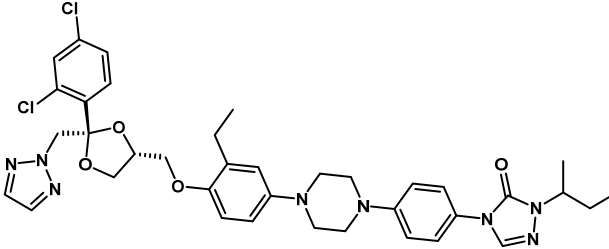
60			
61			
62			
63		LC-MS: m/z 687.1 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 8.81 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.92 (m, 3H), 7.71-7.63 (m, 4H), 7.58 – 7.48 (m, 4H), 7.09-6.71 (m, 6H), 5.24 – 5.05 (m, 2H), 4.44 (d, J = 7.6 Hz, 1H), 4.40 – 4.27 (m, 1H), 3.99 (dd, J = 8.5, 6.3 Hz, 1H), 3.82 (td, J = 10.6, 9.8, 4.8 Hz, 2H), 3.73 – 3.04 (m, 9H), 1.89 (m, 1H), 1.76 (m, 1H), 1.42 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 3H).	+

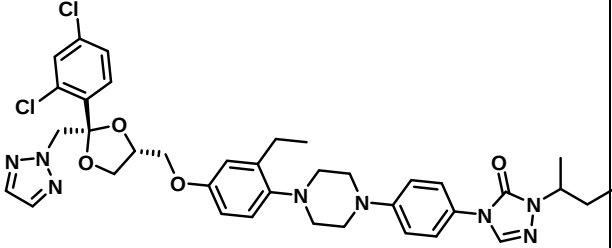
64			
65			
66			
67			
68			
69			
70			

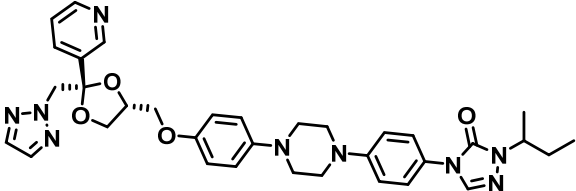
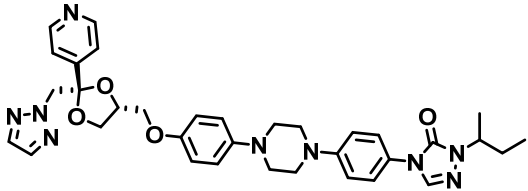
71			
72		LC-MS: m/z 713.1 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.73 – 7.56 (m, 9H), 7.53 – 7.43 (m, 4H), 7.43 – 7.35 (m, 1H), 7.06 (d, J = 9.0 Hz, 2H), 6.97 (m, 2H), 6.81 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 4.91 (s, 2H), 4.43 (ddd, J = 9.4, 6.8, 4.6 Hz, 1H), 4.37 – 4.26 (m, 1H), 3.97 (dd, J = 8.5, 6.5 Hz, 1H), 3.87 (dd, J = 8.5, 4.3 Hz, 1H), 3.79 (dd, J = 9.4, 5.1 Hz, 1H), 3.52 – 3.07 (m, 9H), 1.89 (m, 1H), 1.74 (m, 1H), 1.42 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.95 (t, J = 7.4 Hz, 3H).	+
73			
74		LC-MS: m/z 662.1 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.77 (dd, J = 7.5, 1.4 Hz, 1H), 7.64 (d, J = 0.7 Hz, 1H), 7.62 – 7.48 (m, 5H), 7.45 (dd, J = 9.1, 2.2 Hz, 2H),	++

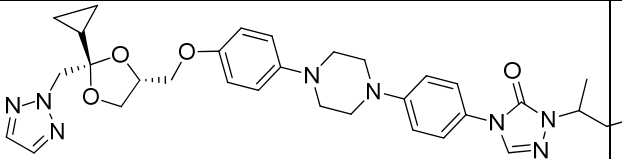
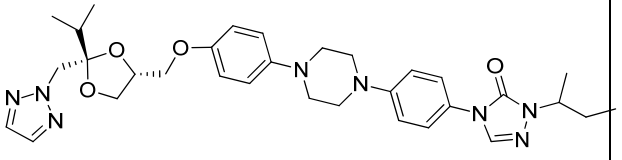
		7.10 – 7.03 (m, 2H), 7.01 – 6.93 (m, 2H), 6.89 – 6.81 (m, 2H), 5.17 – 5.01 (m, 2H), 4.46 (tt, J = 6.8, 4.6 Hz, 1H), 4.39 – 4.26 (m, 1H), 4.09 (dd, J = 8.6, 4.7 Hz, 1H), 4.07 – 3.95 (m, 2H), 3.70 (dd, J = 9.6, 7.0 Hz, 1H), 3.39 (m, 4H), 3.26 (m, 4H), 1.89 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.42 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 3H).	
75		LC-MS: m/z 638.1 (M+H) ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 8.73 (ddt, J = 4.9, 1.7, 0.8 Hz, 1H), 7.76 – 7.68 (m, 1H), 7.64 (d, J = 0.7 Hz, 1H), 7.60 (m, 2H), 7.54 (dd, J = 7.7, 1.2 Hz, 1H), 7.49 – 7.41 (m, 2H), 7.30 (m, 1H), 7.13 – 7.03 (m, 2H), 7.02 – 6.92 (m, 2H), 6.88 – 6.70 (m, 2H), 5.15 (m, 2H), 4.49 (ddd, J = 11.6, 6.7, 4.9 Hz, 1H), 4.42 – 4.26 (m, 1H), 4.07 (dd, J = 8.5, 6.4 Hz, 1H), 3.92 (td, J = 9.0, 8.4, 4.8 Hz, 2H), 3.56 (dd, J = 9.5, 7.2 Hz, 1H), 3.47 – 3.36 (m, 4H), 3.26 (m, 4H),	+

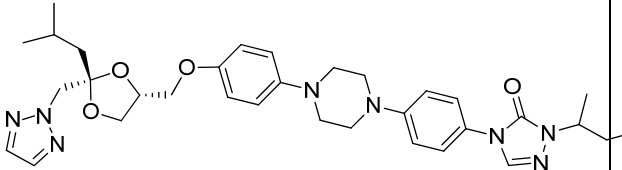
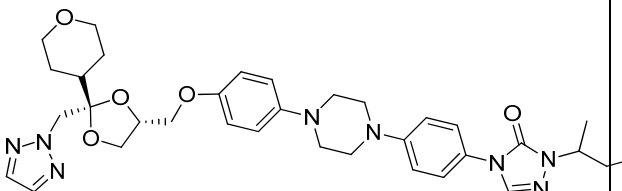
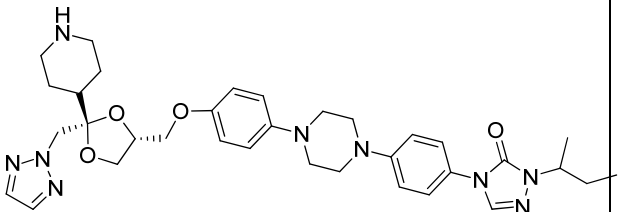
		1.92 (m, 1H), 1.74 (m, 1H), 1.42 (d, $J = 6.7$, 3H), 0.91 (t, $J =$ 7.4 Hz, 3H).	
76			
77			
78		LC-MS: m/z 644.1 (M+H) ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7.91 (dd, $J =$ 6.5, 3.2 Hz, 1H), 7.68-7.64 (m, 3H), 7.47 – 7.41 (m, 2H), 7.39 (t, $J = 3.3$ Hz, 1H), 7.05 (dd, $J =$ 9.0, 3.7 Hz, 2H), 7.00 – 6.93 (m, 2H), 6.85 – 6.76 (m, 2H), 5.31 – 5.12 (m, 2H), 4.62 (dq, $J =$ 6.8, 5.4 Hz, 1H), 4.39 – 4.25 (m, 1H), 4.21 (dd, J $= 8.6, 6.3$ Hz, 1H), 3.88 (ddd, $J = 10.5, 9.1,$ 5.1 Hz, 2H), 3.52 (dd, $J =$ 9.6, 7.0 Hz, 1H), 3.45 – 3.32 (m, 4H), 3.30 – 3.14 (m, 4H), 1.98 – 1.83 (m, 1H), 1.82 – 1.72 (m, 1H), 1.42 (d, $J =$ 6.8 Hz, 3H), 0.93 (t, $J = 7.4$	+

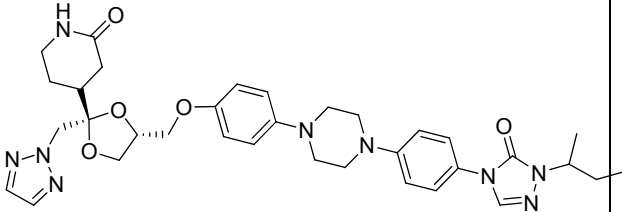
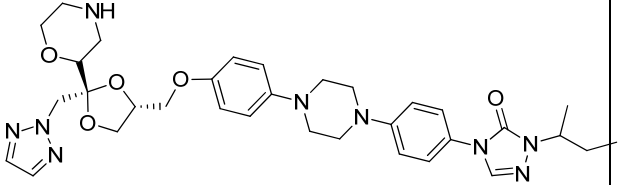
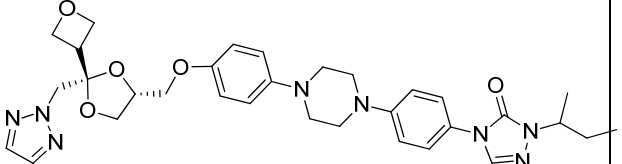
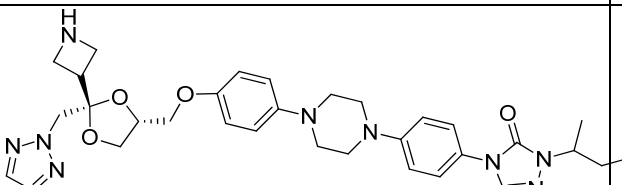
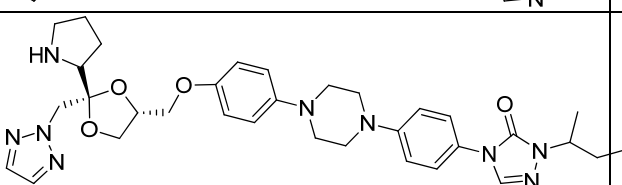
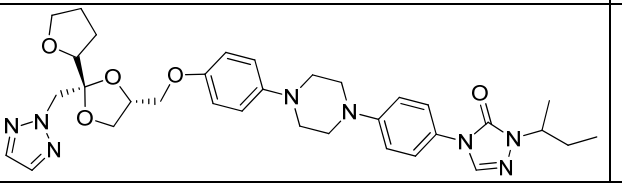
		Hz, 3H).	
79		LC-MS: m/z 730.2 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.64 (m, 3H), 7.55 (d, J = 8.5 Hz, 1H), 7.52 – 7.46 (m, 2H), 7.24 (dd, J = 8.4, 2.1 Hz, 2H), 7.15 (d, J = 3.0 Hz, 1H), 7.09 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 6.89 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 5.21 – 5.07 (m, 2H), 4.46 (m, 1H), 4.33 (m, 1H), 3.99 (dtd, J = 18.1, 8.9, 4.6 Hz, 3H), 3.52 (dd, J = 9.5, 7.6 Hz, 1H), 3.41 (m, 4H), 3.31 (m, 4H), 1.96 – 1.88 (m, 1H), 1.79 – 1.72 (m, 1H), 1.42 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 3H).	++
80		LC-MS: m/z 733.2 (M+H) ¹H RMN (400 MHz, CDCl₃) δ 7.69 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.61 (s, 2H), 7.54 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.48 (d, J = 2.1 Hz, 1H), 7.47 – 7.42 (m, 2H), 7.21 (dd, J = 8.4, 2.1 Hz, 1H), 7.09 – 7.00 (m, 2H), 6.87 (d, J = 2.8 Hz, 1H), 6.71 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 5.25 – 4.97 (m, 2H),	+

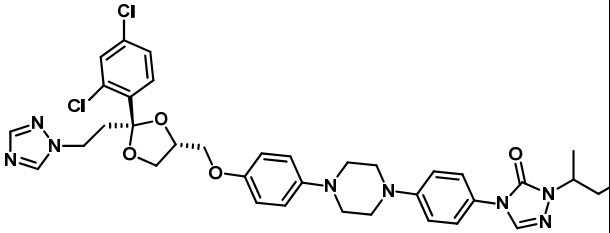
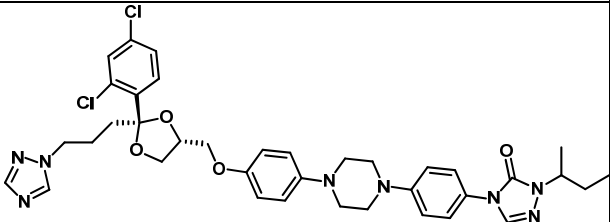
		4.44 – 4.37 (m, 1H), 4.37 – 4.27 (m, 1H), 4.05 – 3.86 (m, 3H), 3.50 (dd, $J = 9.4, 7.4$ Hz, 1H), 3.39 (m, 4H), 3.32 – 3.25 (m, 4H), 2.58 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.88 (m, 1H), 1.81 – 1.72 (m, 1H), 1.42 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 1.17 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H), 0.92 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H).	
81		LC-MS: m/z 733.2 (M+H) ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7.65 (s, 1H), 7.62 (s, 2H), 7.57 (d, $J = 8.4$ Hz, 1H), 7.48 (d, $J = 2.1$ Hz, 1H), 7.47 – 7.40 (m, 2H), 7.23 (dd, $J = 8.4, 2.1$ Hz, 1H), 7.11 – 7.01 (m, 3H), 6.75 (d, $J = 2.9$ Hz, 1H), 6.65 (dd, $J = 8.6, 3.0$ Hz, 1H), 5.27 – 5.00 (m, 2H), 4.40 (m, 1H), 4.32 (dt, $J = 8.7, 6.4$ Hz, 1H), 4.02 – 3.83 (m, 3H), 3.44 (dd, $J = 9.4, 7.4$ Hz, 1H), 3.41 – 3.28 (m, 4H), 3.09 – 2.91 (m, 4H), 2.74 (q, $J = 7.5$ Hz, 2H), 1.98 – 1.85 (m, 1H), 1.81 – 1.70 (m, 1H), 1.43 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 1.17 (t, $J = 8.0$ Hz, 3H), 0.92 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H).	+

82		LC-MS: m/z 638.1 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, MeOD) δ 8.10 (s, 1H), 7.67 (s, 2H), 7.54 – 7.38 (m, 3H), 7.34 (m, 2H), 7.27 (m, 1H), 7.24-7.09 (m, 4H), 6.94 (d, J = 7.6 Hz, 2H), 4.44 (m, 1H), 4.24 (m, 2H), 4.06 – 3.71 (m, 5H), 3.54-3.43 (m, 8H), 1.96 – 1.85 (m, 2H), 1.31, (d, J = 7.0 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 7.5 Hz, 3H).	+
83		LC-MS: m/z 638.2 (M+H) ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃): 8.62 (d, J = 8.63 Hz, 2H), 7.61 (s, 1H), 7.59 (s, 2H), 7.46-7.42 (m, 3H), 7.03 (m, 2H), 6.95 (m, 2H), 6.87 (m, 2H), 6.81 (m, 2H), 5.00 (dd, J = 24.4 Hz, 11.6 Hz, 2H), 4.42 (m, 1H), 4.30 (m, 1H), 3.99 (m, 1H), 3.97-3.81 (m, 2H), 3.50 (dd, J = 7.6 Hz, 5.6 Hz, 1H), 3.37 (m, 4H), 3.25 (m, 4H), 1.87 (m, 1H), 1.70 (m, 1H), 1.38 (d, J = 5.2 Hz, 3H), 0.90 (t, J = 6.0 Hz, 3H).	+

		6H), 4.59 – 4.47 (m, 2H), 4.26 (m, 2H), 4.15 – 3.88 (m, 2H), 3.82 – 3.72 (m, 1H), 3.60 (t, $J = 8.1$ Hz, 1H), 3.41-3.22 (m, 8H), 2.67 (m, 1H), 2.12-1.70 (m, 8H), 1.40 (m, 3H), 0.97 (m, 3H).	
89			
90		LC-MS: m/z 603.1 (M+H) ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7.72 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H), 7.69 (d, $J = 1.0$ Hz, 1H), 7.64 (d, $J = 0.6$ Hz, 1H), 7.49 – 7.41 (m, 2H), 7.09 – 7.02 (m, 2H), 7.01 – 6.92 (m, 2H), 6.88 – 6.78 (m, 2H), 4.73 – 4.56 (m, 2H), 4.51 – 4.43 (m, 1H), 4.32 (dp, $J = 8.6, 6.6$ Hz, 1H), 4.19 (dd, $J = 8.3, 6.5$ Hz, 1H), 3.82 (dd, $J = 10.0, 4.4$ Hz, 1H), 3.61 (dd, $J = 9.9, 5.2$ Hz, 1H), 3.55 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 3.44 – 3.35 (m, 4H), 3.31 – 3.20 (m, 4H), 1.95 – 1.80 (m, 2H), 1.74 (m, 1H), 1.41 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H), 1.07 (dd, $J =$	+

		11.5, 6.9 Hz, 6H), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 3H).	
91			
92		LC-MS: m/z 645.1 (M+H) ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) δ 7.69 (s, 1H), 7.67 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.48 – 7.41 (m, 2H), 7.05 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 7.00 – 6.93 (m, 2H), 6.91 – 6.81 (m, 2H), 4.74 – 4.59 (m, 2H), 4.50 – 4.38 (m, 1H), 4.38 – 4.14 (m, 2H), 4.12 – 3.84 (m, 4H), 3.78 (dd, J = 9.9, 5.5 Hz, 1H), 3.60 (t, J = 8.3 Hz, 1H), 3.45 – 3.29 (m, 5H), 3.30 – 3.18 (m, 4H), 1.97 – 1.81 (m, 3H), 1.80 – 1.70 (m, 3H), 1.41 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.93 (t, J = 7.4 Hz, 3H).	+
93		LC-MS: m/z 644.1 (M+H) ^1H RMN (400 MHz, MeOD) δ 8.11 (d, J = 1.6 Hz, 1H), 7.77 (d, J = 7.2 Hz, 2H), 7.50 (dd, J = 9.2, 2.7 Hz, 2H), 7.31 (dd, J = 16.7, 9.0 Hz, 2H), 7.19 (dd, J = 9.2, 3.1 Hz, 2H), 7.09 – 6.96 (m, 2H), 4.78 –	+

		4.67 (m, 2H), 4.35 – 4.20 (m, 2H), 4.19 – 3.95 (m, 3H), 3.88 (m, 1H), 3.51 (m, 10H), 2.95 (m, 2H), 2.31 – 1.64 (m, 7H), 1.40 (d, $J = 6.7$ Hz, 3H), 0.90 (t, $J = 7.4$ Hz, 3H).	
94			
95			
96			
97			
98			
99			

100		LC-MS: m/z 719.2(M+H) ¹ H RMN (400 MHz, CDCl ₃) δ 8.10 (s, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.64 (s, 1H), 7.58 (d, J = 8.4 Hz, 1H), 7.51 – 7.42 (m, 3H), 7.28 – 7.24 (m, 1H), 7.10 – 7.03 (m, 2H), 7.00 (d, J = 8.7 Hz, 2H), 6.96 – 6.87 (m, 2H), 4.53 – 4.21 (m, 4H), 4.19 – 4.03 (m, 3H), 3.90 (t, J = 7.8 Hz, 1H), 3.40 (m, 4H), 3.27 (m, 4H), 2.82 – 2.64 (m, 2H), 1.98 – 1.84 (m, 1H), 1.83 – 1.64 (m, 1H), 1.41 (d, J = 6.7 Hz, 3H), 0.92 (t, J = 7.4 Hz, 3H).	+++
101		LC-MS: m/z 733.2 (M+H)	+

Ensayo de inhibición reversible Cyp

El propósito de este ensayo fue determinar la inhibición reversible de la enzima Cyp con un compuesto dado utilizando un retorno de sonda de sustrato como subrogado para inhibición. Esto se hizo con microsomas de hígado humano en vez de una enzima aislada para tener en cuenta los metabolitos del fármaco original que llevan a una interacción potencial fármaco-fármaco a través de la inhibición de Cyp. El retorno del sustrato (por ejemplo conversión de midazolam a hidroxil midazolam) fue monitorizado por LCMSMS (Q1/Q2 = 342.2/203.2). Los compuestos de prueba fueron ensayados en una curva de respuesta a dosis de 7 puntos que partía de 50 µM hasta 50 nM (serie de dilución ~3 veces). Para Cyp 3A4, el compuesto de control positivo fue ketoconazol con un IC₅₀ ~ 25 nM.

El protocolo detallado fue como sigue:

- Compuestos de prueba preparados y solución de trabajo de inhibidores estándar

- (100x).
- Microsomas extraídos del congelador a -80°C para descongelar sobre hielo, marcados con la fecha y regresados al congelador inmediatamente después del uso.
 - 5 • Se agregaron 20 μL de las soluciones de sustrato a los pozos correspondientes.
 - Se agregaron 20 μL de PB a los pozos con Blanco.
 - Se agregaron 2 μL de los compuestos de prueba y de solución de trabajo de control positivo a los pozos correspondientes.
 - Se agregaron 2 μL de MeOH a pozos Sin Inhibidor y pozos con Blanco.
 - 10 • Se preparó solución de trabajo de HLM.
 - Se agregaron 158 μL de la solución de trabajo de HLM a todos los pozos de la placa de incubación.
 - Se precalentó la placa durante aproximadamente 10 minutos a 37°C en baño de agua.
 - 15 • Se preparó solución de cofactor NADPH.
 - Se agregaron 20 μL del cofactor NADPH a todos los pozos de incubación.
 - Se mezcló e incubó durante 10 minutos a 37°C en baño de agua.
 - En el punto de tiempo, se terminó la reacción agregando 400 μL de solución de detención fría (200 ng/mL de tolbutamida en ACN).
 - 20 • Se centrifugaron las muestras a 4000 rpm durante 20 minutos para precipitar la proteína.
 - Se transfirieron 200 μL de sobrenadante a 200 μL de agua para HPLC y se agitó durante 10 minutos.
 - Se analizaron las muestras por LC/MS/MS.
 - 25 •

Los datos para los compuestos obtenidos por este ensayo se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

Compuesto #	Cyp 3A4 midazolam LCMS IC ₅₀ (μM)	Cyp 3A4 testosterona LCMS IC ₅₀ (μM)
1		4.5
2		>30
15	>50; >50	>50
19	0.0031	0.0069
21	0.144	0.12
22	>50, >50	>50, >50
23	0.321	
24		>10, >30
26	0.18	0.283
27	>50, >50	>50, >50
30	>50	>50
32	>50	>50
36	>50	>50
41	>50, >50	>50
42	>50, >50	>50, >50
49	>50	>50
54	>50	>50

Compuesto #	Cyp 3A4 midazolam LCMS IC ₅₀ (μM)	Cyp 3A4 testosterona LCMS IC ₅₀ (μM)
74	>50	>50
79	>50	>50
84	2.55, 2.35	1.77
100	0.372	0.545
ITZ	0.0447, 0.0546	0.0127

Ensayo de inhibición dependiente del tiempo (TDI) con Cyp

El propósito de este ensayo fue establecer la capacidad de los compuestos para formar aductos con el citocroma P450 irreversiblemente inhibido (también conocido como inhibición basada en mecanismo (MBI)) en microsomas de hígado humano. En comparación con la inhibición con CYP competitiva, se ha reconocido que el MBI es una preocupación mucho mayor en el descubrimiento y desarrollo de fármacos, puesto que la inactivación de CYPs puede llevar a una farmacocinética no lineal y a subestimar el potencial de interacción fármaco-fármaco. Los datos de este ensayo fueron utilizados en conjunción con el ensayo de inhibición reversible. El ensayo TDI se lleva a cabo en general en microsomas de hígado para establecer el potencial TDI del fármaco original así como de los metabolitos. La lectura fue un desplazamiento de IC₅₀ con NADPH (el conjunto inactivación/TDI) para permitir que el compuesto sea convertido en una especie reactiva y sin NADPH (control fijado para corregir la degradación de la proteína durante la preincubación de 20 minutos). Luego ambos conjuntos de incubación fueron diluidos con regulador de ensayo fresco que contenía sustratos específicos para NADPH Cyp (midazolam para Cyp3A4) y la inhibición de la hidroxilación del midazolam fue medida por LC-MS/MS (Q1/Q2 = m/z 342.2/203.2). Un desplazamiento en IC₅₀ >1.5 veces fue considerado como positivo para la inhibición dependiente del tiempo cuando la preincubación de 20 minutos lleva a un incremento en potencia. Se utilizó troleandomicina como un compuesto de control positivo, que exhibe un desplazamiento de IC₅₀ para TDI de >20. Los compuestos de prueba fueron probados en una curva de respuesta a la dosis de 7 puntos partiendo de 50 μM hasta 50 nM (serie de diluciones ~3 veces).

El protocolo detallado fue como sigue:

Se prepararon compuestos de prueba y solución de trabajo de control positivo (100×) en DMSO/MeOH 1:1

- Se extrajeron los microsomas del congelador a -80°C para descongelar.
- Se preparó la mezcla de incubación y se agregaron 147.5 μL a todos los pozos de la placa de incubación.
- Se preparó solución de cofactor y solución de dilución del sustrato.
 - o Se agregaron 2.5 μL de los compuestos de prueba y de solución de trabajo de control positivo a los pozos correspondientes. Las concentraciones de compuestos finales en la curva de respuesta a la dosis de 7 puntos de 50 μM a 50 nM
 - o Se agregaron 2.5 μL de DMSO/MeOH 1:1 a los pozos NIC
- Se precalentó la placa durante aproximadamente 10 minutos a 37°C.
- Se agregaron 50 μL de cofactor a los pozos de preincubación.

- Se agregaron 50 µL de solución para dilución del sustrato a los pozos de incubación.
- 5
- Se mezcló y preincubó durante 20 minutos a 37°C en baño de agua.
 - Se agregaron 50 µL de cofactor a los pozos de incubación;
 - o Se agregaron 50 µL de solución para dilución del sustrato a los pozos de preincubación.
- 10
- Se mezcló e incubó durante 5 minutos a 37°C en baño de agua.
 - En el punto del tiempo, se terminó la reacción agregando 250 µL de solución de detención fría fortificada con es a todos los pozos.
- 15
- Se centrifugó la placa de incubación a 4000 rpm durante 20 minutos.
 - Se transfirieron 200 µL de sobrenadante sobre 200 µL de agua para HPLC y se agitó durante 10 minutos.
 - Se analizaron las muestras por LCMS.
- 20 Los datos para los compuestos obtenidos a partir de este ensayo se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3

Comp #	3A4-Midazolam IC ₅₀ (-) NADPH	3A4-Midazolam IC ₅₀ (+) NADPH	Relación TDI: (-) NADPH/ (+) NADPH
15	>50 µM	41 µM	~1.2 (no TDI)
42	>50 µM	>50 µM	~1 (no TDI)
22	>50 µM	>50 µM	~1 (no TDI)

Ensayo de activación PXR (Cyp 3A4)

- 25 El metabolismo de CYP3A4 fue evaluado utilizando el ensayo P450--Glo™ CYP3A4 Assay con Luciferina--IPA como sustrato de CYP3A4 y representado como RLU (Unidades de Luminiscencia Relativa). La activación de PXR fue evaluada utilizando un reactivo de detección de luciferasa, ONE--Glo™ y representado como RLU. La intensidad de luz de luminiscencia fue directamente proporcional al grado de activación de PXR y la
- 30 transcripción genética acompañante en las células DPX2. Los compuestos fueron probados a 10, 1, y 0.1 µM en el ensayo. Multiplicidad de inducción = (RLU/RFU de muestra tratada con compuesto)/(RLU/RFU de muestra tratada con vehículo), siendo RFU la señal de la viabilidad celular. RLU fue la señal del metabolismo de CYP3A y la activación de PXR. Se utilizó DMSO al 0.1% como vehículo. La viabilidad celular fue
- 35 detectada utilizando CellTiter--Fluor™ y se representa como RFU (Unidades de Fluorescencia Relativa).

La potencia de la activación fue definida como negativa, débil, moderada y fuerte. Activadores negativos, débiles, moderados y fuertes son aquellos que dan < 15%, <40%, <69% y >70%, respectivamente, de la respuesta producida por RSI 10 µM a 10 µM.

- 40 Los datos para los compuestos obtenidos a partir de este ensayo se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4

Comp #	Activación de PXR (multiplicidad de inducción comparada con Rifampicin)
15	~1x (no inducción)
42	~1.5x (no inducción)
22	~1.1x (no inducción)

Determinación de la potencia antifúngica MIC de *Candida albicans*

Se utilizó el tipo silvestre *Candida albicans* (ATCC 10231), y el Fluconazol, la amfotericina B, el itraconazol y la terbinafina fueron adquiridos en Sigma y utilizados como controles positivos.

La concentración de ensayo más alta para todos los compuestos de prueba y fluconazol fue 100 μ M. El fluconazol también fue probado a la concentración más alta de 64 μ g/ml y la amfotericina B y la terbinafina a 16 y 64 μ g/ml. Los compuestos de prueba estaban en solución de reserva en DMSO a una concentración de 10 mM. Se prepararon dos soluciones de reserva en DMSO para fluconazol a 10 mM y 6.4 mg/ml. Las soluciones de reserva de amfotericina B y terbinafina en DMSO fueron preparadas a 1.6 y 6.4 mg/ml.

Dilución en serie de soluciones de reserva 100X: se agregaron 4 μ l de solución de reserva en 196 μ l de RPMI1640 (regulada con MOPS y libre de HEPES y bicarbonato de sodio) en el primer pozo de una fila de una placa de 96 pozos estéril de fondo en U. El resto de los pozos fue llenado con 100 μ l de RPMI1640. La dilución seriada a 2 veces fue hecha secuencialmente transfiriendo 100 μ l de solución al siguiente pozo y mezclando con pipeta, hasta el pozo 11°. Los 100 μ l extra en el pozo 11° fueron descartados. Por lo tanto, los pozos de compuesto contenían 100 μ l de 2 $\times$ de concentraciones de prueba de fármacos en RPMI1640. El pozo 12° fue llenado con solamente 100 μ l de RPMI1640.

La solución de reserva congelada en glicerol de *C. albicans* 3147 (ATCC 10231) fue aplicada sobre agar dextrosa Sabouraud (SDA). La placa fue incubada a 35°C en atmósfera ambiental durante 20 horas. Las colonias individuales fueron suspendidas en solución salina estéril hasta que la turbidez alcanzó 0.1 (1-5 $\times$ 10⁶ CFU/ml) utilizando un medidor de turbidez Siemens. Esta suspensión fue diluida 50 $\times$ en RPMI1640 en un tubo cónico de 15 ml y luego fue diluida adicionalmente 20 $\times$ en RPMI1640 en un tubo cónico de 50 ml. Esto dio 1-5 $\times$ 10³ CFU/ml en suspensión y se utilizó como inóculo. La densidad celular en el inóculo fue contada sobre placa como 4.94 $\times$ 10³ CFU/ml.

Determinación de MIC: Al cabo de 15 minutos, se agregaron 100 μ l de inóculo bacteriano preparado en cada pozo de la placa que contenía el compuesto/RPMI1640. Las placas fueron incubadas a 35°C en atmósfera ambiental. Se tomaron las fotografías a las 24 horas y 48 horas. Los puntos finales de MIC para fluconazol y amfotericina B fueron leídos de acuerdo con el protocolo M27-A3 (Método de Referencia de Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Approved Standard-Tird Edition, M27-A3 estándar publicado 01/01/2008 por Clinical and Laboratory Standards Institute). El MIC para los compuestos de prueba y terbinafina (no mencionada en el protocolo M27-A3) fueron leídos como si fuesen azoles.

Los datos para los compuestos probados en este ensayo se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5

Compuesto #	<i>C. Albicans</i> MIC90 a 24 h (μ M)	<i>C. Albicans</i> MIC90 a 48 h (μ M)
15	>100	>100

Compuesto #	<i>C. Albicans</i> MIC90 a 24 h (μM)	<i>C. Albicans</i> MIC90 a 48 h (μM)
19	0.195	0.195
21	>100	>100
22	>100	>100
23	>100	>100
26	>100	>100
27	>100	>100
30	>100	>100
32	>100	>100
36	>100	>100
41	>100	>100
42	>100	>100
49	>100	>100
54	>100	>100
79	>100	>100
84	>100	>100
100	0.781	1.563
101	>100	>100

Estudios farmacocinéticos (PK) en ratón

Los compuestos con propiedades ADME apropiadas *in vitro* fueron promovidos a estudios de PK *in vivo*. Un formato de exposición instantánea en ratones fue utilizado para establecer rápidamente el potencial para los candidatos para ser biodisponibles oralmente. El formato de exposición instantánea involucra una dosis individual (típicamente 20 mg/kg) dada oralmente en un vehículo estándar (PEG/DMSO al 5% en agua por ejemplo). Los compuestos fueron infundidos directamente en el análisis MS para determinar la señal de MRM (monitorización de reacción múltiple) única que es dependiente de la concentración tanto en modos positivos como negativos a ESI. El análisis por HPLC utilizando diversos gradientes de solvente fue llevado a cabo a partir de solución orgánica y acuosa para asegurar una buena forma de pico de las masas Q1/Q2 deseadas. Las formulaciones incluían 45% de ciclodextrina en agua (tal como se utiliza clínicamente para el Itraconazol). Otras formulaciones que pueden ser usadas son solutol, Eudragit, MC/Tween, etc. Se generaron curvas estándar utilizando plasma al que se aplicó compuesto en diversas concentraciones (10 ng/mL hasta 2000 ng/mL) para determinar el rango lineal de señal de masa Q1/Q2 para la concentración de compuesto utilizando plasma heparinizado de ratón hembra. Los ratones fueron dosificados oralmente con el compuesto, se recolectaron las muestras de plasma por sangrados retroorbitales. Se recolectaron cinco puntos de tiempo (30 minutos, 1 hora, 4 horas, 8 horas, 24 horas) en tubos de recolección heparinizados. Se llevo a cabo la precipitación de proteína y el compuesto se extrajo en acetonitrilo frío y se analizó por MS. Se utilizó nonwinlina para la modelación de PK según fue necesario.

Los resultados del estudio se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6

Compuesto #	Resultados de estudio PK
42	20 mg/kg en 45% de ciclodextrina con agua: $AUC_{0-24h} = 42.67 \pm 4.90 \mu M \cdot h$

Compuesto #	Resultados de estudio PK
	$C_{\max} = 3.16 \pm 0.4 \mu\text{M}$
22	20 mg/kg en 0.5% MC/0.5% de vehículo de suspensión TW80: $AUC_{0-24h} = 2.21 \pm 0.02 \mu\text{M}\cdot\text{h}$ $C_{\max} = 0.17 \pm 0.03 \mu\text{M}$
22	20 mg/kg en 45% de ciclodextrina con agua: $AUC_{0-24h} = 8.08 \pm 1.72 \mu\text{M}\cdot\text{h}$ $C_{\max} = 1.71 \pm 0.44 \mu\text{M}$

Ejemplo II: Modelos animales

- 5 Para demostrar la actividad antifibrótica *in vivo*, se establecieron modelos de fibrosis en roedores en hígado inducida por tetracloruro de carbono (CCl_4) y pulmones y piel inducida por bleomicina. Estos dos ensayos *in vivo* tomaron 6-8 semanas para su terminación (incluyendo el análisis histológico completo). Los experimentos típicos consistían de grupos de 6-8 animales tratados con itraconazol (2-4 dosis), 1 o 2 análogos de itraconazol (2-4 dosis), vehículo, y tratamientos de referencia (pirfenidona y AM-152). El AM-152 (Amira Pharmaceuticals) es un antagonista del receptor de LPA1 (ácido lisofosfatídico 1). Este objetivo ha sido descrito como relevante para la exacerbación de los sistemas IPF en un modelo de bleomicina en ratones (British Journal of Pharmacology (2010), 160, 1699–1713). El AM-152 es un compuesto avanzado sobre este objetivo puesto que ha sido descrito previamente en más detalle en la WO 2012/078805 y fue utilizado como control positivo y comparador para el compuesto divulgado en esta solicitud.

Modelo de fibrosis en pulmón inducida por bleomicina

- Ratones macho B6 de nueve semanas de edad (Granjas Taconic) fueron implantados quirúrgicamente con bombas osmóticas que liberaban 25 mg/kg de bleomicina durante siete días. 17 días después de la cirugía los ratones fueron tratados con fármaco durante 2 semanas. Los tratamientos con fármaco fueron administrados como se describe en el diseño del estudio (figura 14). Se utilizaron fármacos antifibróticos previamente descritos AM-152 y pirfenidona como fármacos de control positivos. Se tiñeron secciones de pulmón con tricromo de Masson y después del escaneo, se tomaron ocho campos aleatorios por animal para el análisis. Los datos se representan como medias y s.e.m. (figura 15a). Una representación gráfica del modelo utilizado para evaluar fármacos antifibróticos se muestra en la figura 15b. En la figura 15c se muestran imágenes representativas del pulmón teñido con tricromo de Masson a partir de grupos de tratamiento indicados. Las secciones de pulmón teñidas fueron analizadas de acuerdo con un sistema de clasificación Ashcroft modificado (figura 16) y utilizando un método de análisis de imágenes automatizada no desplazadas. El área teñida con tricromo de Masson total fue generado utilizando un macro de análisis de imágenes automatizado en ImageJ. Cada imagen fue convertida entonces en un agrupamiento RGB, y el umbral para el área teñida fue fijado de tal manera que solamente se incluyó tejido de pulmón en el análisis mientras que los espacios vacíos tales como los ductos respiratorios y los alvéolos fueron excluidos. El área teñida total fue determinada entonces utilizando la función de medición de área de ImageJ. Los marcadores Ashcroft medios y los valores de porcentaje de área teñida medios indicaron que el itraconazol y análogos de los mismos hicieron disminuir dependiendo de la dosis la severidad de la enfermedad de fibrosis pulmonar en este modelo (figuras 17a y 17b). A una dosis de 10 mg/kg (SID), el compuesto 42 hizo disminuir la severidad de la enfermedad de fibrosis pulmonar con

eficacia que fue tan buena o mejor comparada con los compuestos de control AM-152 (30 mg/kg BID) y pirfenidona (400 mg/kg, BID).

Modelo de fibrosis de hígado inducida por tetracloruro de carbono

Se administraron tratamientos con fármaco tal como se describe en el diseño de estudio (figura 18). Secciones de hígado fueron teñidas con solución Sirius Red. Después del escaneo, se generaron 5 imágenes aleatorias por animal. El porcentaje de área total positiva para tinción por Sirius Red fue generado utilizando una macro de imagen automatizada en ImageJ. En resumen, cada imagen fue convertida a un agrupamiento RGB, y el umbral para el área teñida fue fijado de tal manera que no se incluyeron núcleos en el análisis. El área roja total fue determinada cuantitativamente utilizando la función de medición de área con ImageJ (figura 19a). Los datos numéricos del análisis de imágenes del modelo de fibrosis de hígado inducida por CCl₄ se muestran en la figura 19b. Las imágenes representativas de las secciones de hígado teñidas con Sirius Red del modelo de fibrosis de hígado inducida por CCl₄ se muestran en la figura 19c. Los niveles en hígado de alfa actina de músculos lisos (α SMA) fueron analizados por inmunoprecipitación western (figura 19d). Trozos de hígado del modelo de fibrosis de hígado inducida por CCl₄ fueron homogenizados en PBS con un homogeneizador y bolas de acero. Los residuos fueron descartados por centrifugación y el lisado concentrado fue determinado por mediciones de absorbancia Nanodrop a 260 nm. Se cargaron cantidades iguales de lisado en cada carril del gel y luego se separaron por SDS-PAGE sobre geles Bis-Tris al 10% y luego se transfirieron a través de transferencia semiseca a membranas PVDF. Después de bloquear en leche al 5% en solución salina regulada con TRIS con Tween-20 (0.1%), las membranas fueron expuestas a anticuerpos primarios apropiados. Las siembras fueron incubadas con anticuerpos secundarios conjugados con HRP y visualizadas utilizando película y SuperSignal West Dura Chemiluminescent Substrate (Pierce). La tinción con Siruis red y el análisis por inmunoprecipitación western indicó que el itraconazol hace disminuir de manera dependiente de la dosis la severidad de la enfermedad de fibrosis en el hígado.

Modelo de curación de heridas en roedores

El efecto del itraconazol y los análogos del mismo sobre la curación de heridas fue evaluado utilizando un modelo de curación de heridas en roedores estándar (diseño del estudio mostrado en la figura 20; resultados en la figura 21). Cinco días antes de la iniciación del modelo, los ratones fueron anestesiados y se retiró el pelo de la piel de la espalda utilizando Nair. En el día 1, los ratones fueron pesados y se hizo una punción de biopsia estéril (5 mm de diámetro) pinchando a través del espesor completo de la piel de la espalda plegada (2 x 5 mm de orificios dial en total). El tamaño de las heridas fue medido diariamente utilizando calibradores. El peso corporal fue monitorizado dos veces a la semana a lo largo del estudio. En el día 1 y hasta el final del estudio, el tratamiento con fármaco (25 mg/kg, SID de itraconazol, 25 mg/kg SID compuesto 42 o vehículo) fue administrado diariamente utilizando un volumen de dosificación de 5 ml/kg. En los días 7, 11 y 14, los animales fueron sometidos a eutanasia de cada grupo y las heridas fueron recolectadas para análisis histológico. Al recolectar las heridas, las heridas fueron cortadas incluyendo unos pocos mm de la piel circundante. Para cada animal, se recolectaron dos piezas de herida y se fijaron para análisis histológico. El itraconazol y el compuesto 42 no tuvieron efecto sobre la arquitectura del tejido o las tasas de curación de heridas normales en comparación con los vehículos de control, con base en el análisis histológico y en las mediciones diarias del calibre.

Ejemplo III: Estudio clínico en fase II para escleroderma

Un ensayo clínico ciego doble aleatorizado controlado con placebo en fase II demostró Prueba de Concepto para un análogo de itraconazol antifibrótico optimizado en pacientes con escleroderma cutánea difusa o escleroderma sistémica con involucramiento cutáneo difuso. Los pacientes que satisfacen los criterios de reclutamiento constituyeron dos grupos iguales de 30. El brazo experimental se da a una dosis alta individual de fármaco cada día durante 6 meses y el brazo comparador de placebo se da con placebo cada día durante 6 meses. La dosis alta individual de fármaco se determina con base en la eficacia preclínica, el enganchamiento del objetivo en un estudio de toxicología en *cynomolgus* preclínico y un estudio de seguridad en fase I. La medición resultante primaria es una comparación de la eficacia del fármaco versus el placebo con base en el porcentaje de variación en m-RSS (calificación 0-51, sitio 17) entre la inclusión y visitas mensuales. Las mediciones de resultados secundarios son una comparación de la eficacia del fármaco versus el placebo con base en la variación en m-RSS entre los puntos de inclusión y tiempos de seguimiento (1, 3 y 6 meses); el establecimiento del acoplamiento al objetivo se determina por los perfiles de expresión de los genes objetivo Hedgehog y VEGFR utilizando biopsias de piel obtenidas en el momento de la inclusión y a los 6 meses. El establecimiento del espesor de la piel en el momento de la inclusión y a los 6 meses utilizando biopsias de piel; establecimiento del tratamiento de síntomas no cutáneos en pacientes de escleroderma sistémica; establecimiento de la calidad de vida utilizando un cuestionario para establecimiento de la salud y la Dermatology Quality of Life Index; y establecimiento de la tolerancia al tratamiento utilizando monitorización clínica y de laboratorio de efectos colaterales (incluyendo establecimiento de signos de efectos inotrópicos negativos utilizando ultrasonido cardíaco). Se establecerá la Prueba Exitosa de Concepto si >40% de los pacientes tienen una mejora en m-RSS (definida como una declinación en m-RSS de ≥ 5.3 unidades entre la línea base y una visita final de estudio a los 6 meses).

La población de pacientes objetivo precisa consiste de pacientes diagnosticados con escleroderma cutánea difusa (o severa) (clasificación de piel Rodnan modificada, m-RSS $\geq 16/51$). Pacientes diagnosticados con escleroderma cutánea difusa localizada o escleroderma sistémica con involucramiento cutáneo difuso, tal como lo define el American College of Rheumatology, son los subconjuntos de pacientes conocidos.

Los criterios de inclusión y exclusión para el reclutamiento de pacientes de una prueba de fase II de estudio de conceptos son como sigue. Los pacientes tendrán 18 años de edad o mayor con diagnóstico documentado de escleroderma cutánea sistémica. Se requiere una línea base de m-RSS de $\geq 16/51$ indicativa de escleroderma cutánea difusa. Se requiere para la inclusión una clasificación de fracción de eyección por ultrasonido cardíaco en preinclusión de más de 55% (esto es normal). Los pacientes serán excluidos si han sido tratados con un fármaco (por ejemplo, metotrexato, corticosteroides, ciclofosfamida, bosentan) que tenga el potencial de interferir con el transcurso de la enfermedad durante un período de 3 meses antes del inicio del ensayo. Los pacientes que sufren de fallo severo de órganos, enfermedad hepática crónica (por ejemplo, cirrosis de hígado, hepatitis crónica), cáncer, enfermedades crónicas (por ejemplo, artritis reumatoide, lupus sistémico eritematoso, diabetes, VIH) o que tienen química sanguínea anómala serán excluidos. Los pacientes que han tenido una cirugía mayor menos de 4 semanas antes de la inclusión serán excluidos. Los pacientes que tienen contraindicación al itraconazol, tal como se especifica en las especificaciones del producto, serán excluidos. Específicamente, pacientes con evidencia de disfunción ventricular (por ejemplo, fallo cardíaco congestivo, CHF), en riesgo de CHF o que han sido tratados con fármacos inotrópicos serán excluidos. Pacientes que hayan sufrido de infarto del miocardio menos de 6 meses antes de la inclusión serán excluidos.

Los pacientes incluidos en una prueba de fase II de estudio de conceptos son

identificados y seleccionados para tratamiento en colaboración con médicos dermatológicos en múltiples sitios dentro de los Estados Unidos. Un investigador de coordinación que es miembro de la Scleroderma Clinical Trials Consortium supervisa el reclutamiento de pacientes y sirve como director del estudio. Los pacientes son diagnosticados con escleroderma cutánea difusa localizada o escleroderma sistémica con involucramiento cutáneo difuso. Los pacientes son estratificados con base en el diagnóstico de escleroderma (esto es, localizada o sistémica), sexo y edad para asegurar una distribución igual dentro de las poblaciones en tratamiento. Adicionalmente, los pacientes son estratificados con base en la severidad del involucramiento cutáneo para asegurar un número igual de pacientes con involucramiento cutáneo severo ((m-RSS $\geq$ 20/51) dentro de las poblaciones en tratamiento. Esta estratificación requiere una prueba de diagnóstico inicial que involucra una escala de induración cutánea y biopsia de piel. Se requiere que los pacientes experimenten una prueba de diagnóstico de ultrasonido cardíaco antes de la inclusión para asegurar una función cardíaca normal (marcador de fracción de eyección $>55\%$).

Puesto que actualmente no hay un tratamiento indicado directamente para inhibir la fibrosis en pacientes con escleroderma, no hay un agente comparador para ser utilizado en los estudios de los pacientes. El nuevo agente es dosificado solo. Los pacientes que toman cualquier medicación son monitorizados para asegurar que el nuevo agente no altera las propiedades farmacocinéticas y de metabolismo de la medicación que está siendo tomada.

La clasificación de piel Rodnan modificada (m-RSS) es un biomarcador identificado, medible y validado utilizado para evaluar la eficacia clínica de pacientes con escleroderma. En resumen, la superficie total de la piel es dividida arbitrariamente en 17 sitios. En cada área, se usa palpación manual para establecer un marcador de piel. El marcador de piel varía desde 0-3 con base en el grado de engrosamiento de la piel (0, no involucrado; 1, suave; 2, moderado; 3, severo). El marcador de piel total es la suma de marcadores de cada una de las 17 áreas (marcador máximo de 51). Los pacientes que tienen un marcador de entre 16 y 19 se clasifican como difusos y aquellos que tienen un marcador de símbolo de ≥ 20 se clasifican como severos. Se ha demostrado que este sistema de marcación de piel se correlaciona muy bien con el grado de fibrosis dérmica y también se correlaciona bien con el grado de fibrosis/disfunción en órganos internos (en pacientes con escleroderma sistémica). El enganchamiento objetivo en la piel fue establecido monitorizando cambios en la expresión de los genes objetivo Hedgehog y VEGFR utilizando biopsias de piel.

Ejemplo IV: Estudio clínico en fase II para fibrosis pulmonar idiopática

El propósito de este estudio es determinar la seguridad y eficacia del compuesto de la fórmula (I) y la fórmula (II) para el tratamiento de fibrosis pulmonar idiopática, en comparación con un placebo. El ensayo clínico es con intervención. La localización de los participantes en el estudio clínico es aleatorizada; el modelo de intervención es asignación paralela; y hay un doble enmascaramiento ciego del estudio (sujeto, a proveedor de cuidados, investigador). El presente estudio clínico mide primariamente la rata de cambio de la capacidad vital forzada, y en segundo lugar mide la seguridad con base en AEs, signos vitales y pruebas de laboratorio clínico.

Los criterios de inclusión para reclutamiento de pacientes son como sigue:

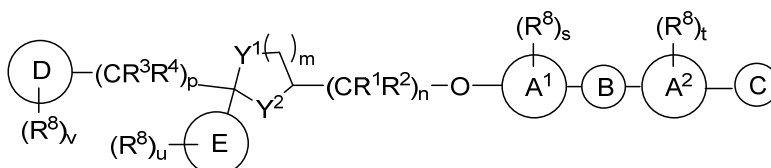
- Ambos géneros entre las edades de 40 y 80 años, inclusive, en aleatorización.
- Tiene síntomas clínicos consistentes con Fibrosis Pulmonar Idiopática (IPF).
- Han recibido primero un diagnóstico de IPF al menos 6 meses y no más de 48 meses

- antes de la aleatorización. La fecha de diagnóstico está definida como la fecha del primer HRCT disponible o biopsia pulmonar quirúrgica consistente con IPF/UIP.
- Tiene un diagnóstico de fibrosis pulmonar intersticial usual (UIP) o IPF por tomografía computarizada de alta resolución (HRCT) o biopsia pulmonar quirúrgica (SLB)
 - 5 • Extensión de cambios fibróticos (formación de colmena, cambios reticulares) mayor que la extensión del enfisema sobre el barrido por HRCT.
 - No tiene características que soporte un diagnóstico alternativo en la biopsia transbronquial, BAL, o SLB, si se llevan a cabo.
 - 10 • Tiene un porcentaje de FVC predicho postbroncodilatador entre 50% y 80%, inclusive, en la criba.
 - Tiene un cambio en la FVC postbroncodilatador (medido en litros) entre la criba y el día 1 que es menor de una diferencia relativa del 10%, calculada como: el valor absoluto de 100% (FVC (L) a la criba - FVC (L) a día 1) / FVC (L) a la criba.
 - 15 • Tiene capacidad de difusión de monóxido de carbono (DLCO) entre 30% y 80% (ajustada para hemoglobina y altitud, inclusive, en la criba).
 - No hay evidencia de mejora en las mediciones de severidad de la enfermedad IPF en el año precedente, en opinión del investigador.
 - Ser capaz de caminar 150 metros o más durante la prueba de caminata de 6 minutos (6MWT) en la criba.
 - 20 • Demostrar un descenso en la saturación de oxígeno de 2 puntos porcentuales o más durante la 6MWT en la criba (puede llevarse a cabo con titulación de oxígeno suplementario para mantener los niveles de saturación de oxígeno >88%).
 - Son capaces de entender y firmar una forma de consentimiento informado escrita.
 - 25 • Son capaces de entender la importancia de unirse al tratamiento en estudio y al protocolo del estudio y desean cumplir con todos los requerimientos del estudio, incluyendo las restricciones de medicación concomitantes, a lo largo del estudio.
 - Mujeres con potencial de embarazo (WOCBP) y hombres que son sexualmente activos con WOCBP deben usar métodos aceptables de control natal.
 - 30 Los criterios de exclusión para reclutamiento de pacientes son como sigue:
 - i) Exclusiones por enfermedad objetivo
 - (1) Tiene empeoramiento clínico significativo de IPF entre la criba y el día 1 (durante el proceso de criba) en la opinión del investigador.
 - 35 (2) Tiene volumen expiratorio forzado en 1 segundo relación (FEV1)/FVC menor de 0.8 después de la administración de broncodilatador en la criba.
 - (3) Tiene respuesta a broncodilatador, definida por un incremento absoluto de 12% o más y un incremento de 200 mL en FEV1 o FVC o ambos después del uso de broncodilatador en comparación con los valores antes del uso del broncodilatador en la criba.
 - 40 ii) Historia médica y enfermedades concurrentes
 - (1) Tiene una historia de exposición ambiental clínicamente significativa conocida a las causas de la fibrosis pulmonar.
 - (2) Tiene una explicación conocida de la enfermedad pulmonar intersticial.
 - 45 (3) Tiene un diagnóstico clínico de cualquier enfermedad de los tejidos conectivos.
 - (4) Actualmente tiene asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica clínicamente significativas.
 - (5) Tiene evidencia clínica de infección activa.
 - 50 (6) Tiene una historia de enfermedades malignas que probablemente den como resultado una incapacidad significativa o probablemente requieran intervención médica o quirúrgica significativa durante los próximos 2 años. Esto no incluye procedimientos quirúrgicos menores para un cáncer localizado (por ejemplo carcinoma de células basales).

- 5
- (7) Tiene una condición diferente a IPF, que, en opinión del investigador, que probablemente dará como resultado la muerte del sujeto dentro de los próximos 2 años.
- (8) Tiene una historia de enfermedad hepática en etapa final.
- (9) Tiene una historia de enfermedad renal terminal que requiere diálisis.
- (10) Tiene una historia de enfermedad cardíaca o pulmonar inestable o deteriorante (diferente a IPF) durante los 6 meses anteriores.
- (11) Tiene una historia de abuso de alcohol o sustancias en los 2 años anteriores.
- 10
- (12) Tiene una historia familiar o personal de síndrome QT prolongado y/o Torsades de Pointes (taquicardia ventricular polimórfica).
- (13) Ha utilizado cualquiera de las siguientes terapias específicas durante 7 días antes de la criba:
- 15
- (a) Terapia de investigación, definida como cualquier fármaco que no haya sido aprobado para comercialización para cualquier indicación en el país del sitio de participación.
- 20
- (b) Cualquier agente citotóxico, inmunosupresor, modulador de la citoquina o antagonista de receptor, que incluye, pero no se limita a, azatioprina, bosetan, ambrisentan, ciclofosfamida, ciclosporina, etanercept, iloprost, infliximab, antagonistas de leucotrieno, metotrexato, micofenolato mofetil, tacrolimus, montelukast, tetratiomolibdato, inhibidores del factor alfa de necrosis tumoral, NAC, imatinib mesilato, interferón gama-1b, pirfenidona, e inhibidores de la tirosina quinasa.
- 25
- (c) Colchicina, heparina, y warfarina. El sildenafil (uso diario) puede ser usado si se da para una indicación diferente a IPF si no hay una terapia alternativa clínicamente aceptable para la misma indicación; el uso intermitente para la disfunción eréctil es permitido.
- 30
- (d) El uso intermitente de corticosteroides es permitido para empeoramiento respiratorio agudo.
- (e) Se permiten ketoconazol, ciclosporina y esteroides para uso tópico y oftálmico.
- 35

REIVINDICACIONES

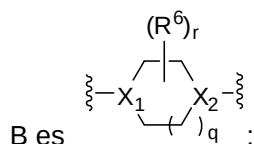
1. Un método para tratar fibrosis, un trastorno caracterizado por fibrosis, o una enfermedad caracterizada por fibrosis, comprendiendo el método la administración de una composición que comprende una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula (I), una sal, solvato, polimorfo, profármaco, metabolito, N-óxido, estereoisómero o isómero farmacéutica aceptable del mismo:



Fórmula (I)

- 10 en donde:

A¹ y A² son seleccionados independientemente de arilo o heteroarilo;



- 15 C es heterociclilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido, en donde el heterociclilo o el heteroarilo contiene 1 a 4 átomos de nitrógeno;

D es arilo o heteroarilo;

E es arilo, heteroarilo, carbociclilo, heterociclilo, o alquilo;

cada R¹, R², R³, y R⁴ es seleccionado independientemente de H, alquilo, haloalquilo, o alcoxi;

- 20 X₁ y X₂ son seleccionados independientemente de N y CR⁵;

R⁵ es H, OH, alquilo, o alcoxi;

cada R⁶ es independientemente alquilo, haloalquilo, halo, alcoxi, -alquilen(NR¹³R¹⁴), o arilo;

- 25 cada R⁸ es seleccionado independientemente de alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, halo, hidroxilo, nitrilo, azido, nitro, alcoxi, haloalcoxi, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), -alquilen(cicloalquil), -alquilen(heterociclil), arilo, heteroarilo, -SR¹³, -SOR¹³, -SO₂R¹³, -SO₂NR¹³R¹⁴, -NR¹³R¹⁴, -NR¹³SO₂R¹⁴, -NR¹³C(O)R¹⁴, -NR¹³C(O)OR¹⁴, -NR¹³C(O)NR¹³R¹⁴, -C(O)R¹⁴, -C(O)OR¹⁴, y -C(O)NR¹³R¹⁴; o dos R⁸ adyacentes forman un anillo heterociclilo;

- 30 cada R¹³ y R¹⁴ es seleccionado independientemente de H, alquilo, cicloalquilo, heterociclilalquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, arilo, y heteroarilo; o R¹³ y R¹⁴ tomados juntos forman un heterociclo con los átomos a los

cuales están unidos;

Y^1 y Y^2 son seleccionados independientemente de O, CH_2 , NH, y NR^{13} ;

n es 1, 2, o 3;

m es 1 o 2;

5 p es 1, 2, 3, o 4;

q es 1, 2, o 3;

r es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, o 8;

s es 0, 1, 2, 3, o 4;

t es 0, 1, 2, 3, o 4;

10 u es 0, 1, 2, 3, 4 o 5; y

v es 0, 1, 2, 3, o 4.

2. El método de la reivindicación 1, en donde X_1 y X_2 son N.

3. El método de la reivindicación 1, en donde X_1 es CR^5 y X_2 es N.

15 4. El método de la reivindicación 1, en donde X_1 es N y X_2 es CR^5 .

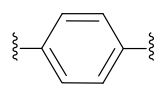
5. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 2-4, en donde q es 1 y r es 0.

6. El método de cualquiera de una de las reivindicaciones 1-5, en donde A^1 es arilo.

7. El método de la reivindicación 6 en donde A^1 es .

8. El método de cualquiera de una de las reivindicaciones 1-5, en donde A^1 es heteroarilo.

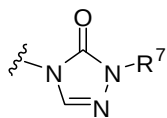
20 9. El método de cualquiera de una de las reivindicaciones 1-8, en donde A^2 es arilo.

10. El método de la reivindicación 9, en donde A^2 es .

11. El método de cualquiera de una de las reivindicaciones 1-8, en donde A^2 es heteroarilo.

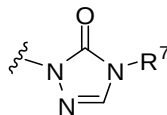
25 12. El método de la reivindicación 11, en donde A^2 es piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, o triazina.

13. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde C es



; y R^7 es alquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen($NR^{13}R^{14}$), cicloalquilo, heterociclilo, -alquilen(cicloalquil), o -alquilen(heterociclil).

14. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, en donde C es



5 cicloalquilo, heterociclilo, -alquilen(cicloalquil), o -alquilen(heterociclil).

15. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde E es alquilo.

16. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde E es cicloalquilo.

17. El método de la reivindicación 16, en donde E es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo.

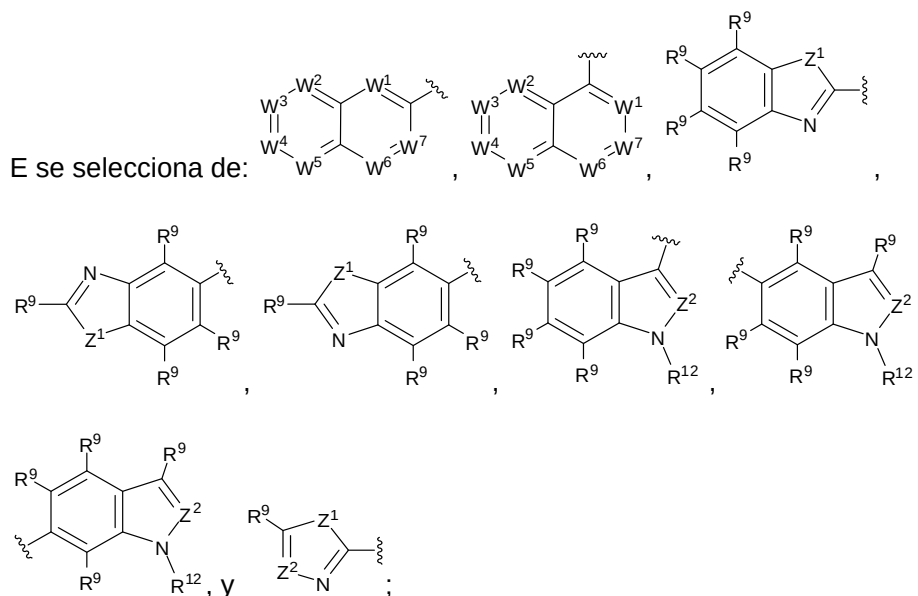
10 18. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde E es heterociclilo.

19. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde E es arilo.

20. El método de la reivindicación 19, en donde E es y u es 0, 1, 2, 3, 4, o 5.

21. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-14, en donde E es heteroarilo.

15 22. El método de la reivindicación 21, en donde



W^1 , W^2 , W^3 , W^4 , W^5 , W^6 , y W^7 son seleccionados independientemente de N y CR^9 ;

Z^1 es NR^{12} , S, o O;

Z^2 es N o CR^9 ;

cada R^9 es seleccionado independientemente de H, halógeno, CN, NO_2 , alquilo, $-SR^{10}$, $-OR^{10}$, $-NR^{10}R^{11}$, $NR^{10}C(O)(alquil)$, $-NR^{10}C(O)(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)(heterocicloalquil)$,

- 5 $-NR^{10}C(O)(aril)$, $-NR^{10}C(O)(heteroaril)$, $-C(O)NR^{10}R^{11}$, $-C(O)NR^{10}(cicloalquil)$,
 $-C(O)NR^{10}(heterocicloalquil)$, $-C(O)NR^{10}(aril)$, $-C(O)NR^{10}(heteroaril)$,
 $-NR^{10}C(O)NR^{10}R^{11}$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heterocicloalquil)$,
 $-NR^{10}C(O)NR^{11}(aril)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heteroaril)$, $-NR^{10}C(O)O(alquil)$,
 $-NR^{10}C(O)O(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)O(heterocicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)O(aril)$,

- 10 $-NR^{10}C(O)O(heteroaril)$, $-NR^{10}SO_2(alquil)$, $-NR^{10}SO_2(cicloalquil)$,
 $-NR^{10}SO_2(heterocicloalquil)$, $-NR^{10}SO_2(aril)$, $-NR^{10}SO_2(heteroaril)$, $-SO_2NR^{10}R^{11}$,
 $-SO_2NR^{10}(cicloalquil)$, $-SO_2NR^{10}(heterocicloalquil)$, $-SO_2NR^{10}(aril)$,
 $-SO_2NR^{10}(heteroaril)$, haloalquilo, arilo, y heteroarilo;

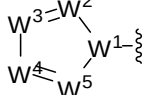
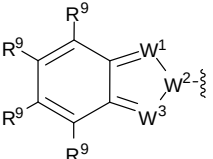
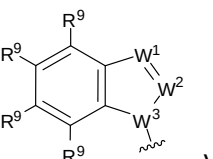
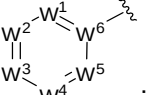
- 15 cada R^{10} y R^{11} es seleccionado independientemente de H y alquilo; o R^{10} y R^{11} tomados juntos forman un heterociclo con el nitrógeno al cual están unidos; y

R^{12} es H, alquilo o haloalquilo.

23. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-22, en donde D es arilo.

24. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-22, en donde D es heteroarilo.

25. El método de la reivindicación 24, en donde

- 20 D se selecciona de , , , y ;

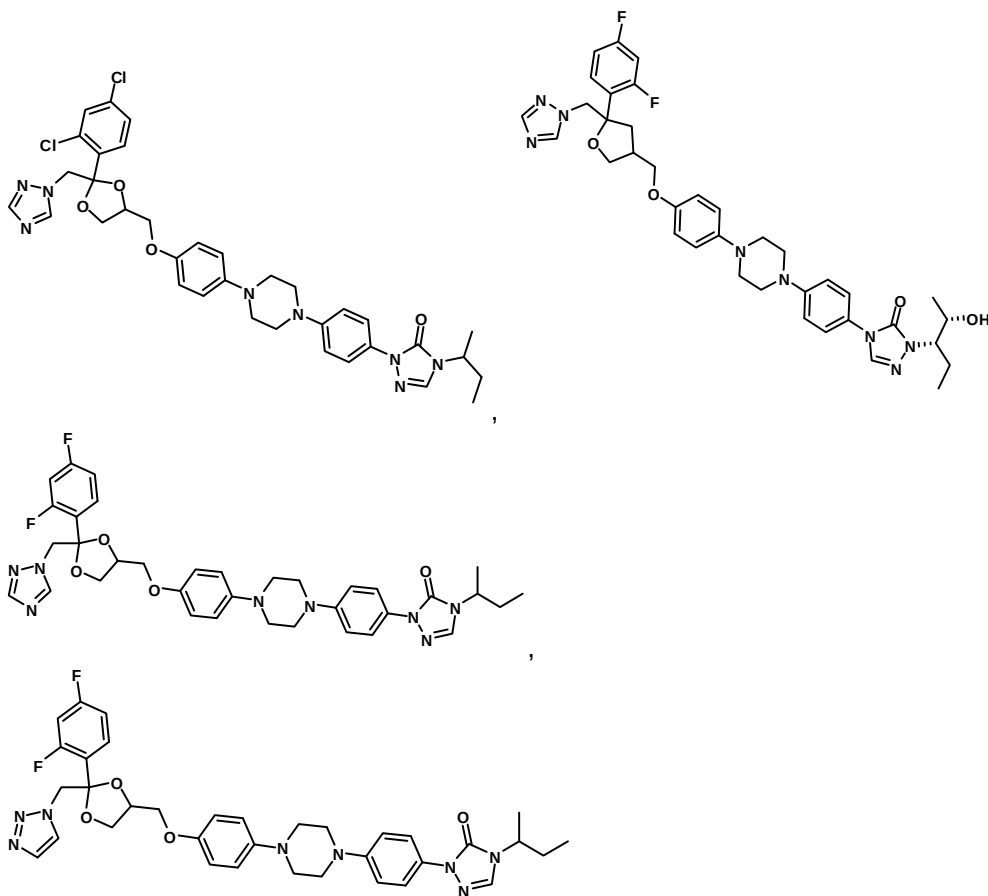
W^1 , W^2 , W^3 , W^4 , y W^5 son seleccionados independientemente de N y CR^9 ;

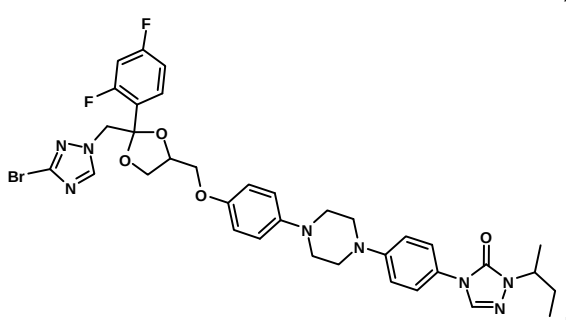
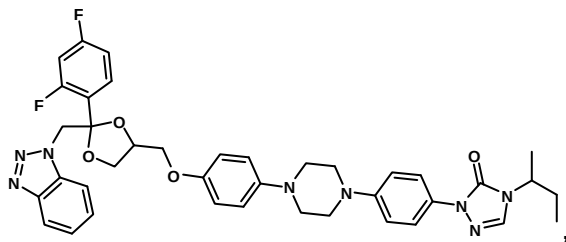
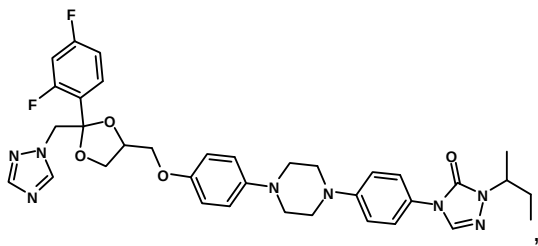
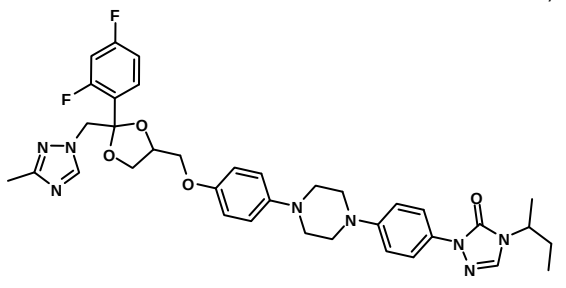
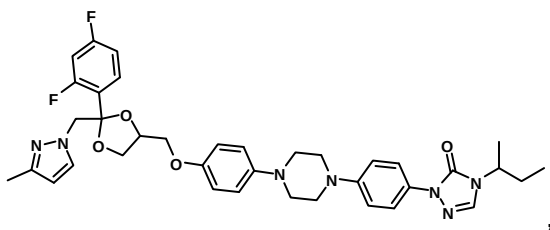
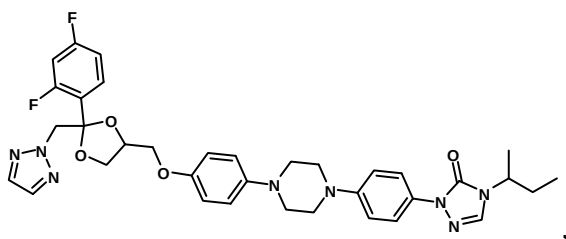
W^6 es N o C; y

cada R^9 es seleccionado independientemente de H, halógeno, CN, NO_2 , alquilo, $-SR^{10}$, $-OR^{10}$, $-NR^{10}R^{11}$, $NR^{10}C(O)(alquil)$, $-NR^{10}C(O)(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)(heterocicloalquil)$,

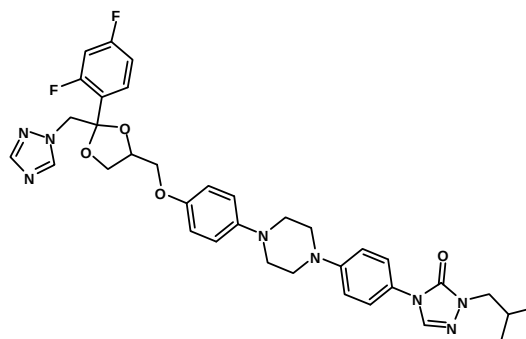
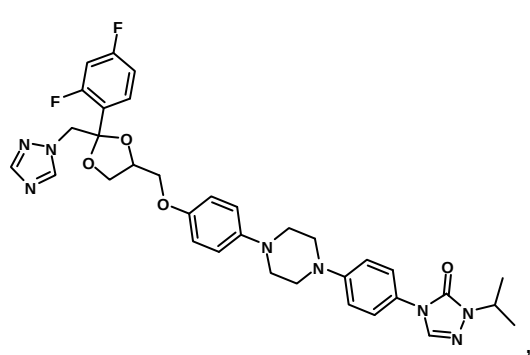
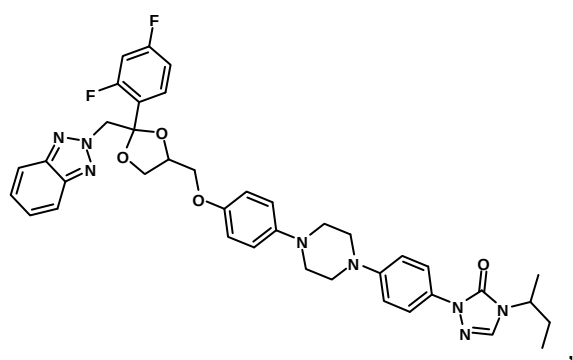
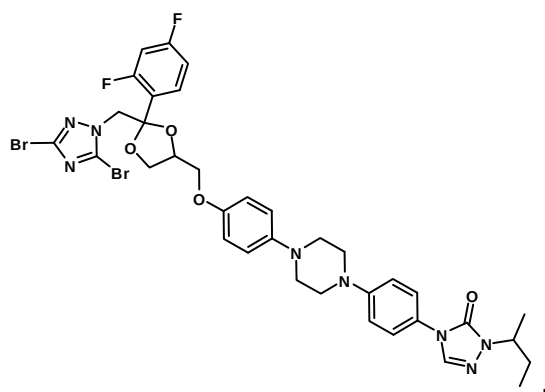
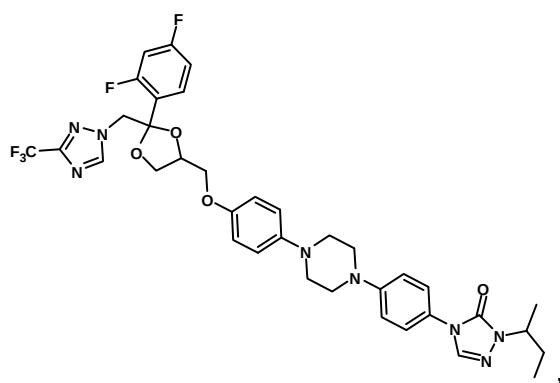
- 25 $-NR^{10}C(O)(aril)$, $-NR^{10}C(O)(heteroaril)$, $-C(O)NR^{10}R^{11}$, $-C(O)NR^{10}(cicloalquil)$,
 $-C(O)NR^{10}(heterocicloalquil)$, $-C(O)NR^{10}(aril)$, $-C(O)NR^{10}(heteroaril)$,
 $-NR^{10}C(O)NR^{10}R^{11}$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heterocicloalquil)$,

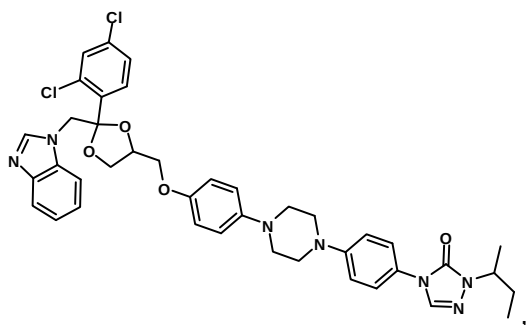
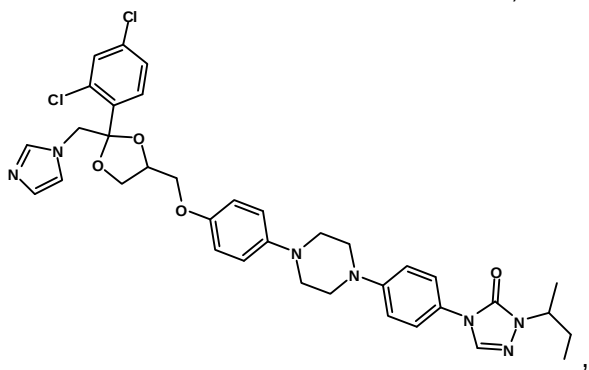
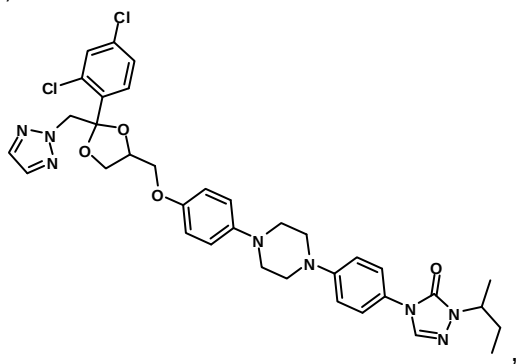
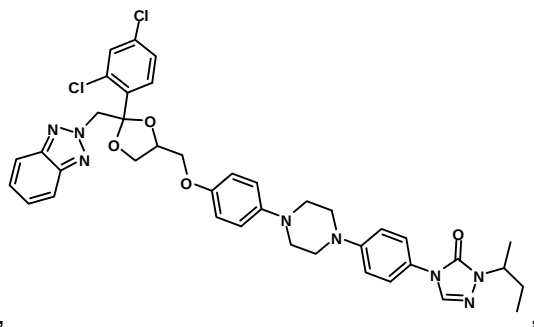
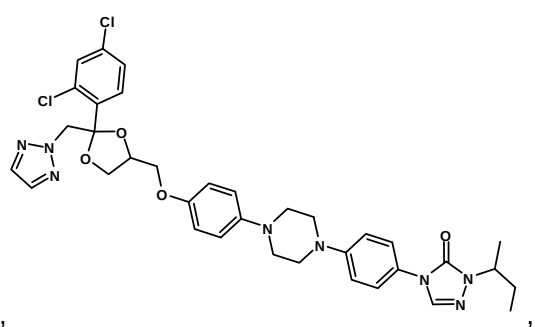
- NR¹⁰C(O)NR¹¹(aril), -NR¹⁰C(O)NR¹¹(heteroaril), -NR¹⁰C(O)O(alquil),
 -NR¹⁰C(O)O(cicloalquil), -NR¹⁰C(O)O(heterocicloalquil), -NR¹⁰C(O)O(aril),
 -NR¹⁰C(O)O(heteroaril), -NR¹⁰SO₂(alquil), -NR¹⁰SO₂(cicloalquil),
 -NR¹⁰SO₂(heterocicloalquil), -NR¹⁰SO₂(aril), -NR¹⁰SO₂(heteroaril), -SO₂NR¹⁰R¹¹,
 5 -SO₂NR¹⁰(cicloalquil), -SO₂NR¹⁰(heterocicloalquil), -SO₂NR¹⁰(aril),
 -SO₂NR¹⁰(heteroaril), haloalquilo, arilo, y heteroarilo.
26. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-25 en donde Y¹ y Y² son O.
27. El método de la reivindicación 26 en donde m es 1.
28. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-27 en donde p es 1, 2, o 3.
- 10 29. El método de la reivindicación 28 en donde p es 1.
30. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-29 en donde R¹, R², R³, y R⁴ son hidrógeno.
31. El método de la reivindicación 1 en donde el compuesto se selecciona de:

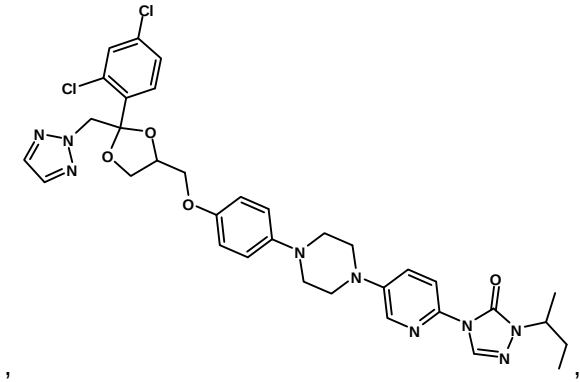
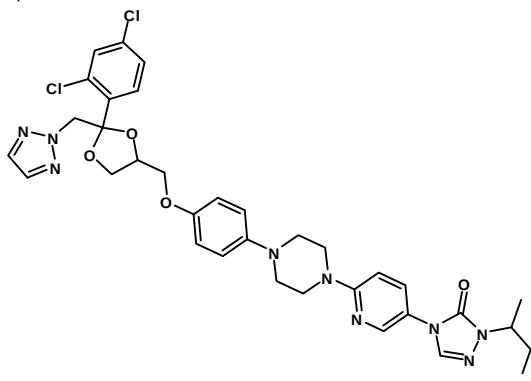
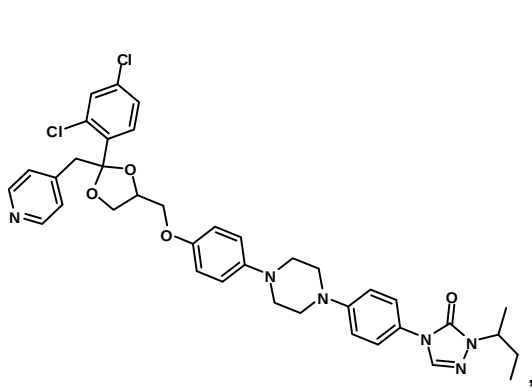
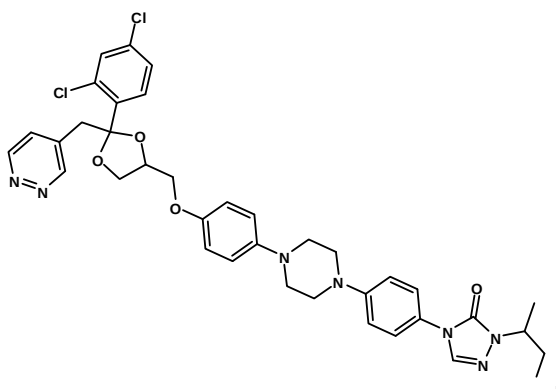
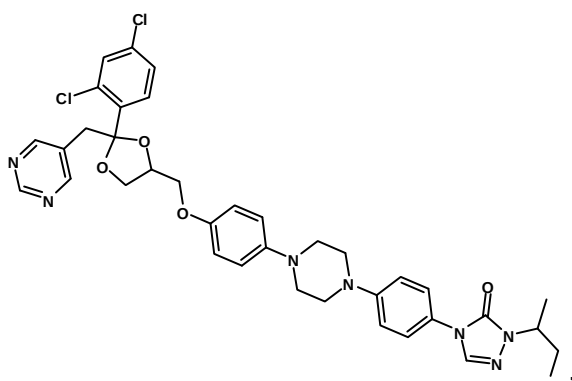


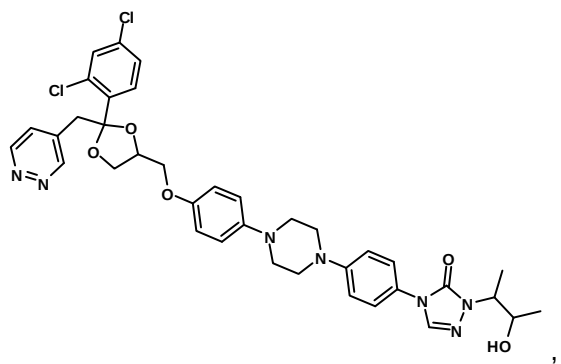
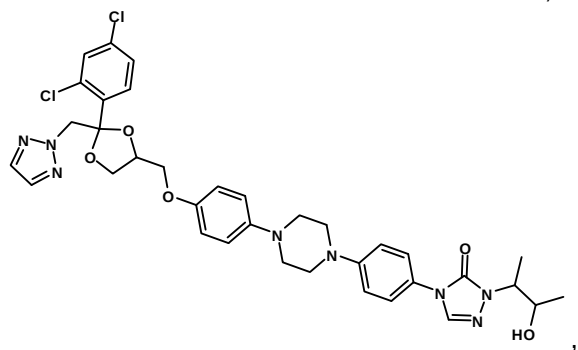
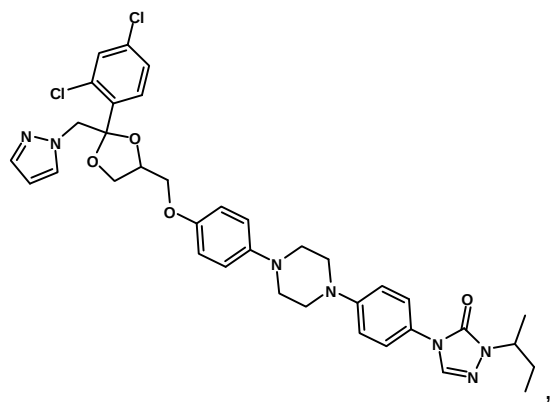
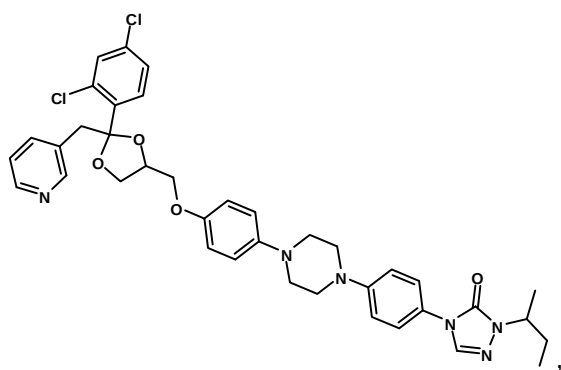


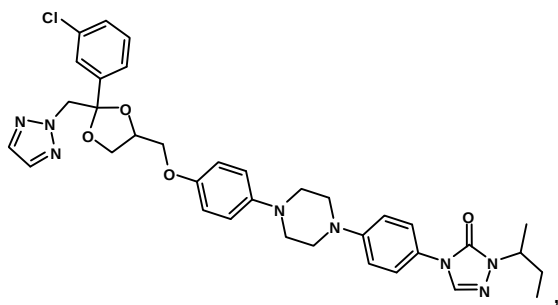
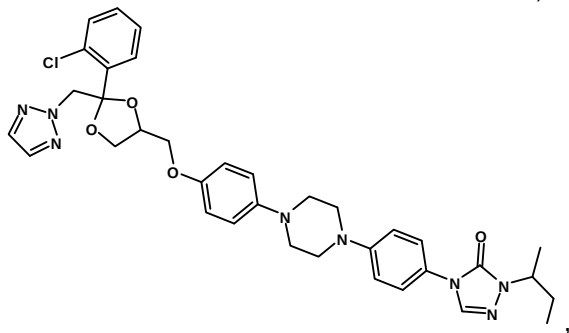
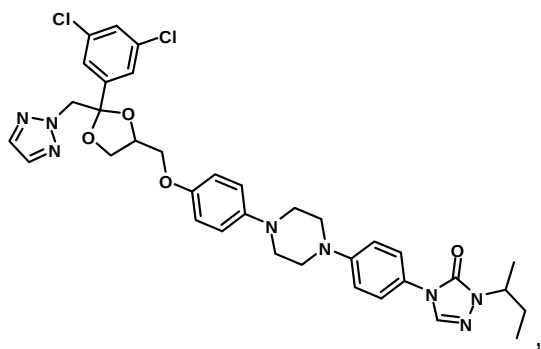
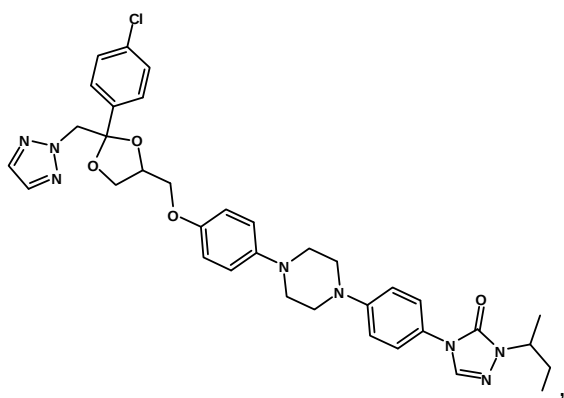
5

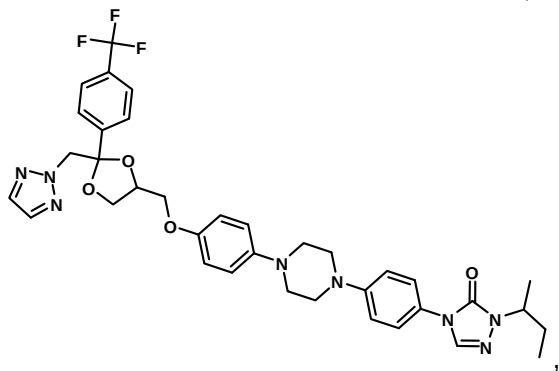
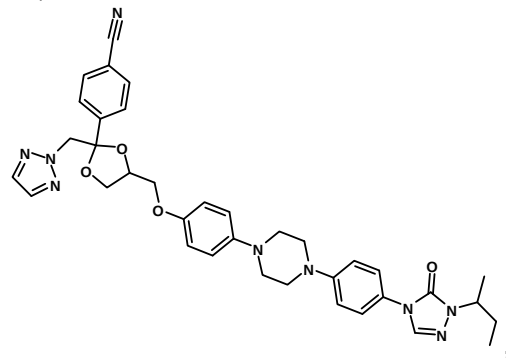
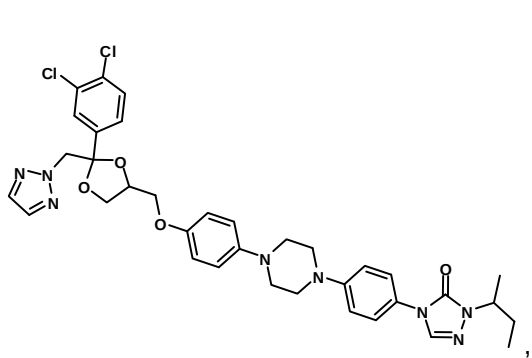
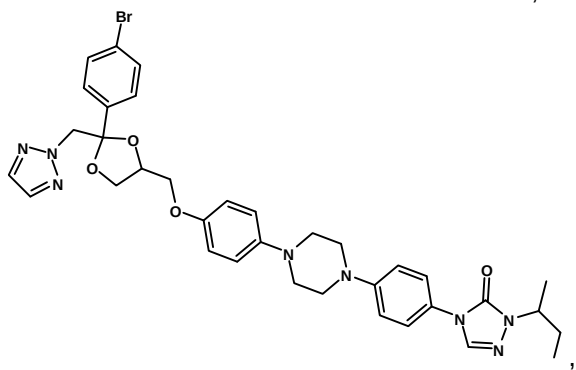
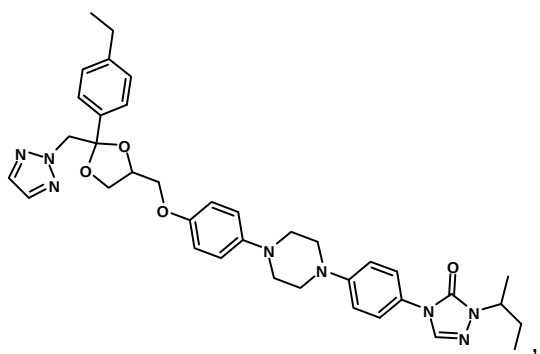


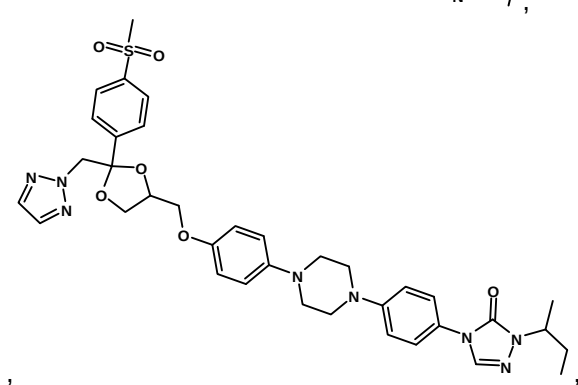
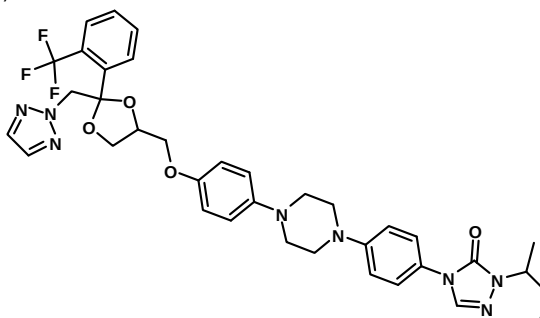
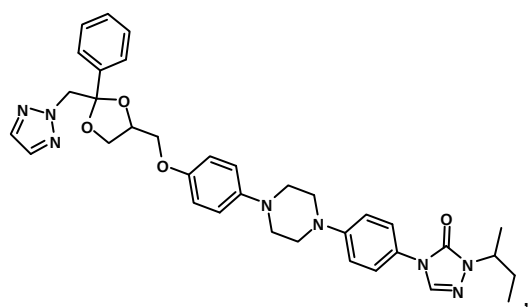
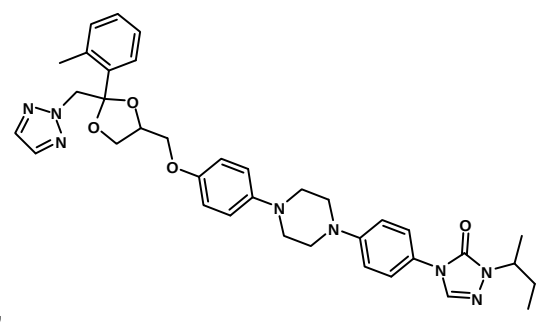
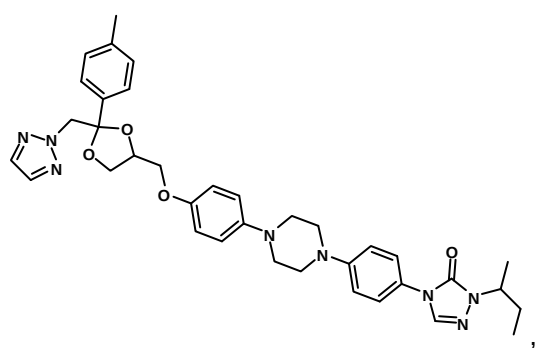
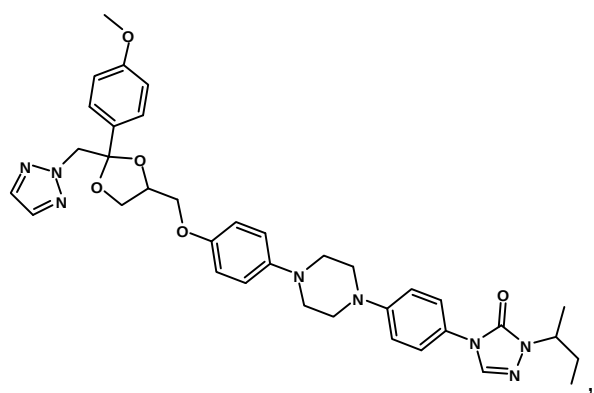


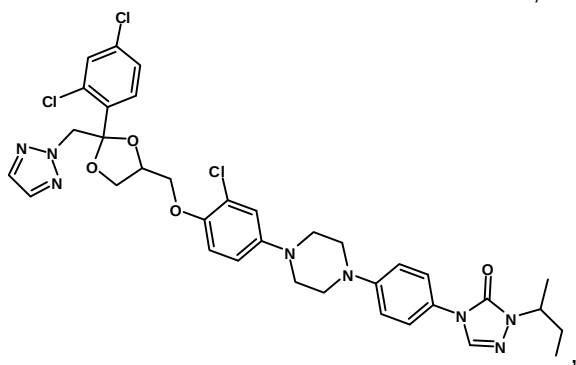
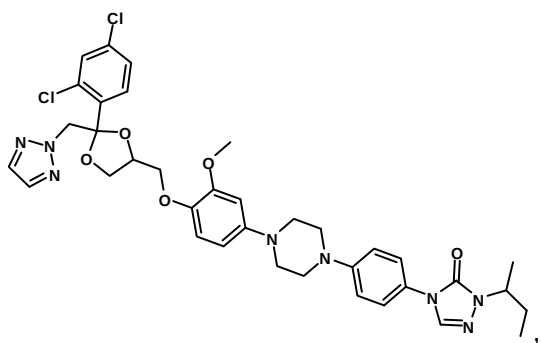
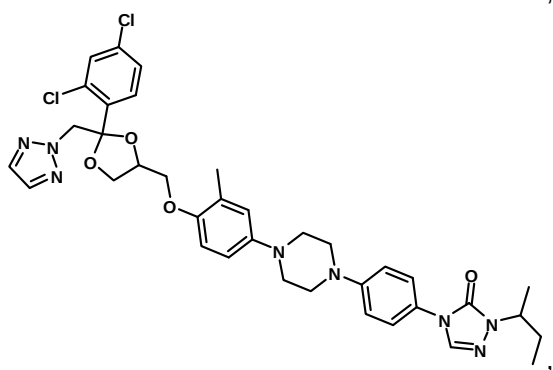
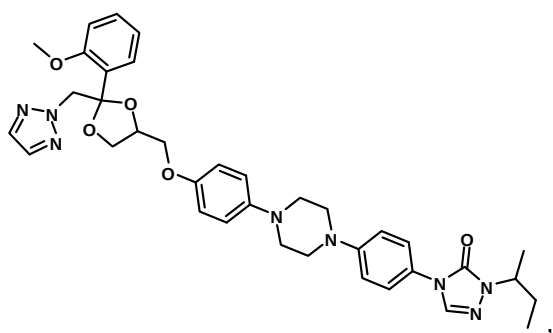


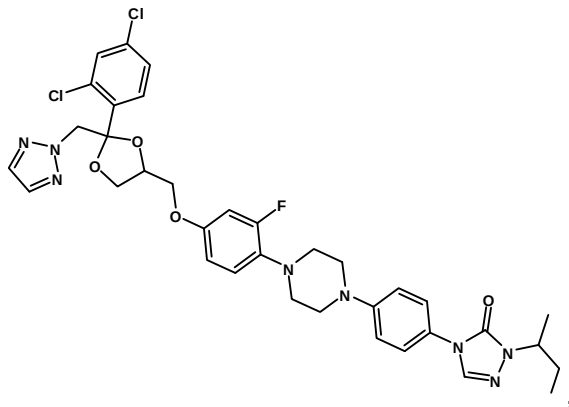
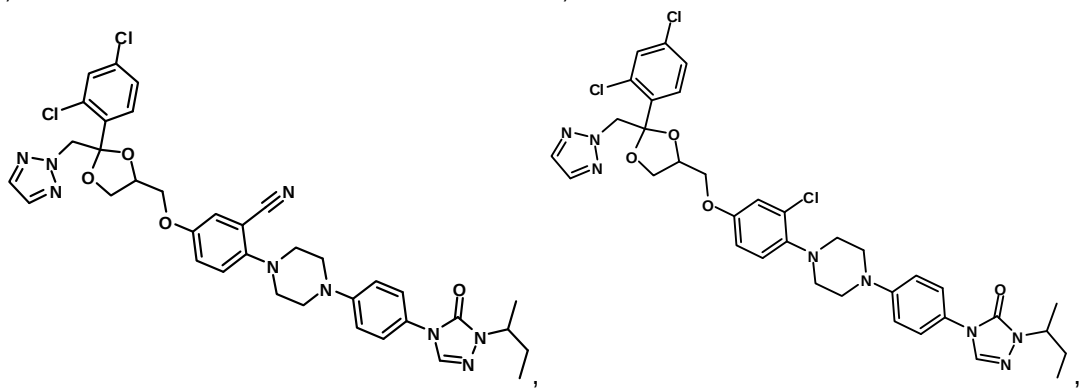
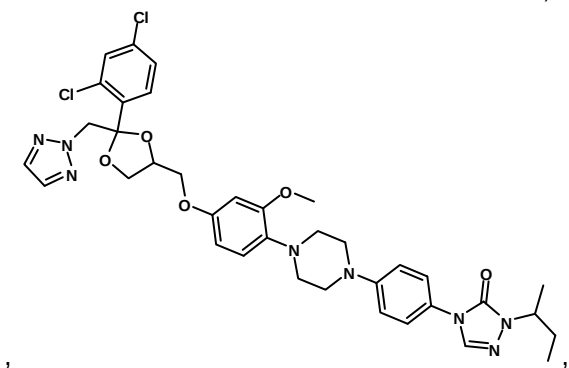
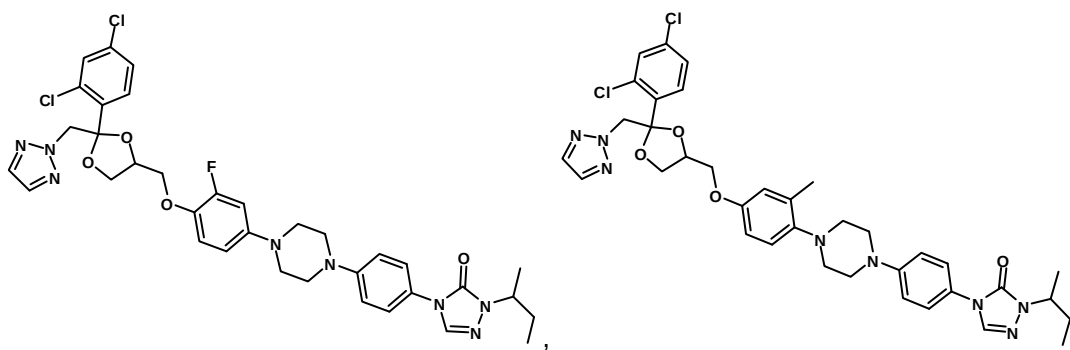


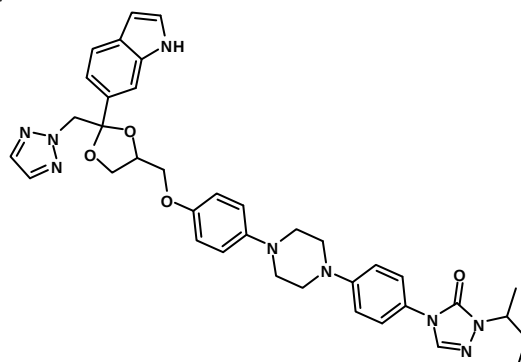
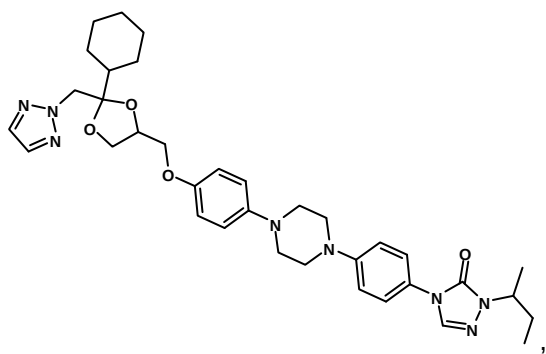
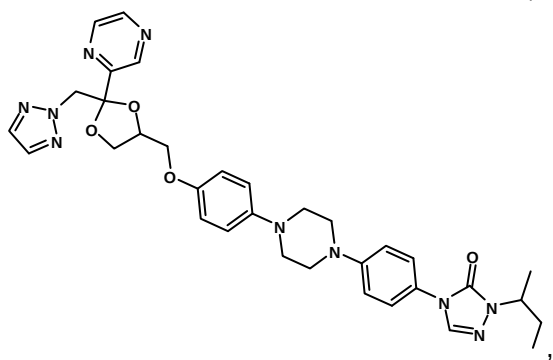
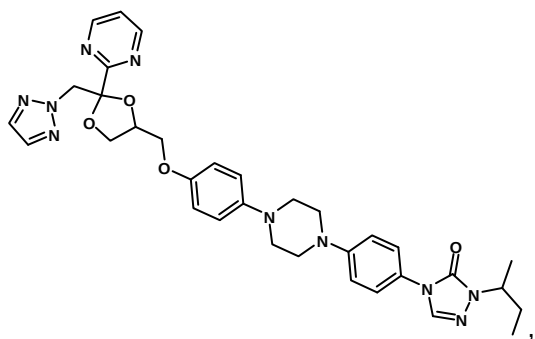
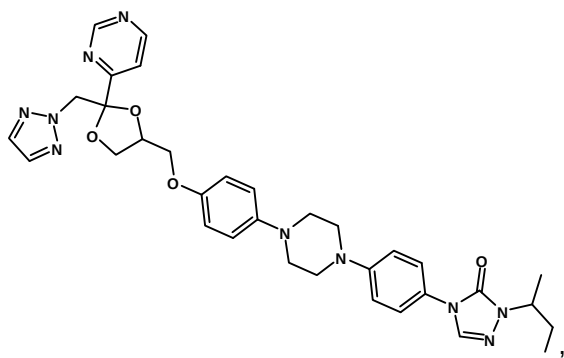


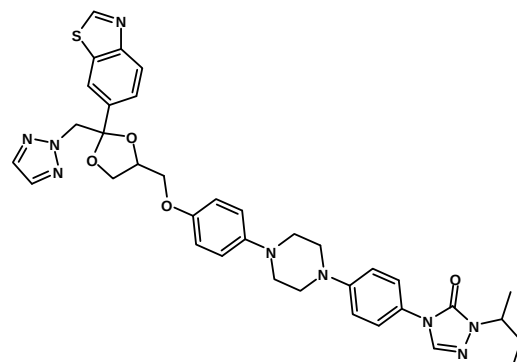
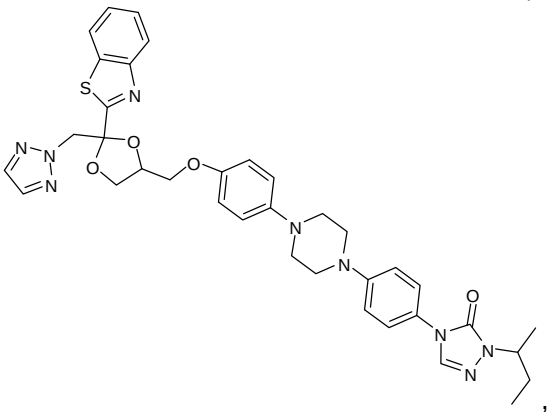
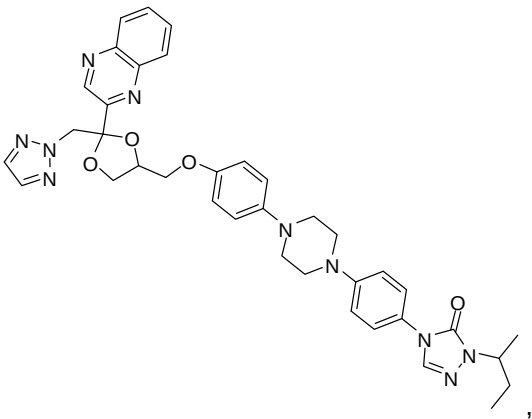
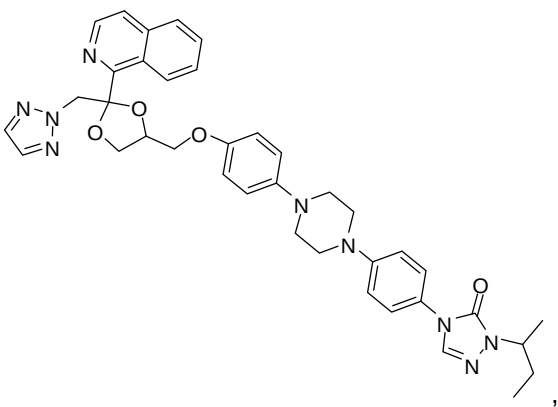
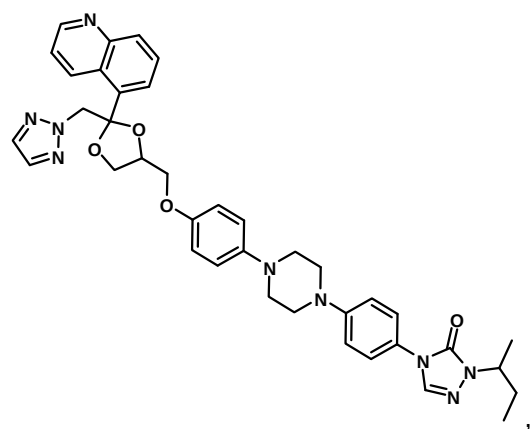


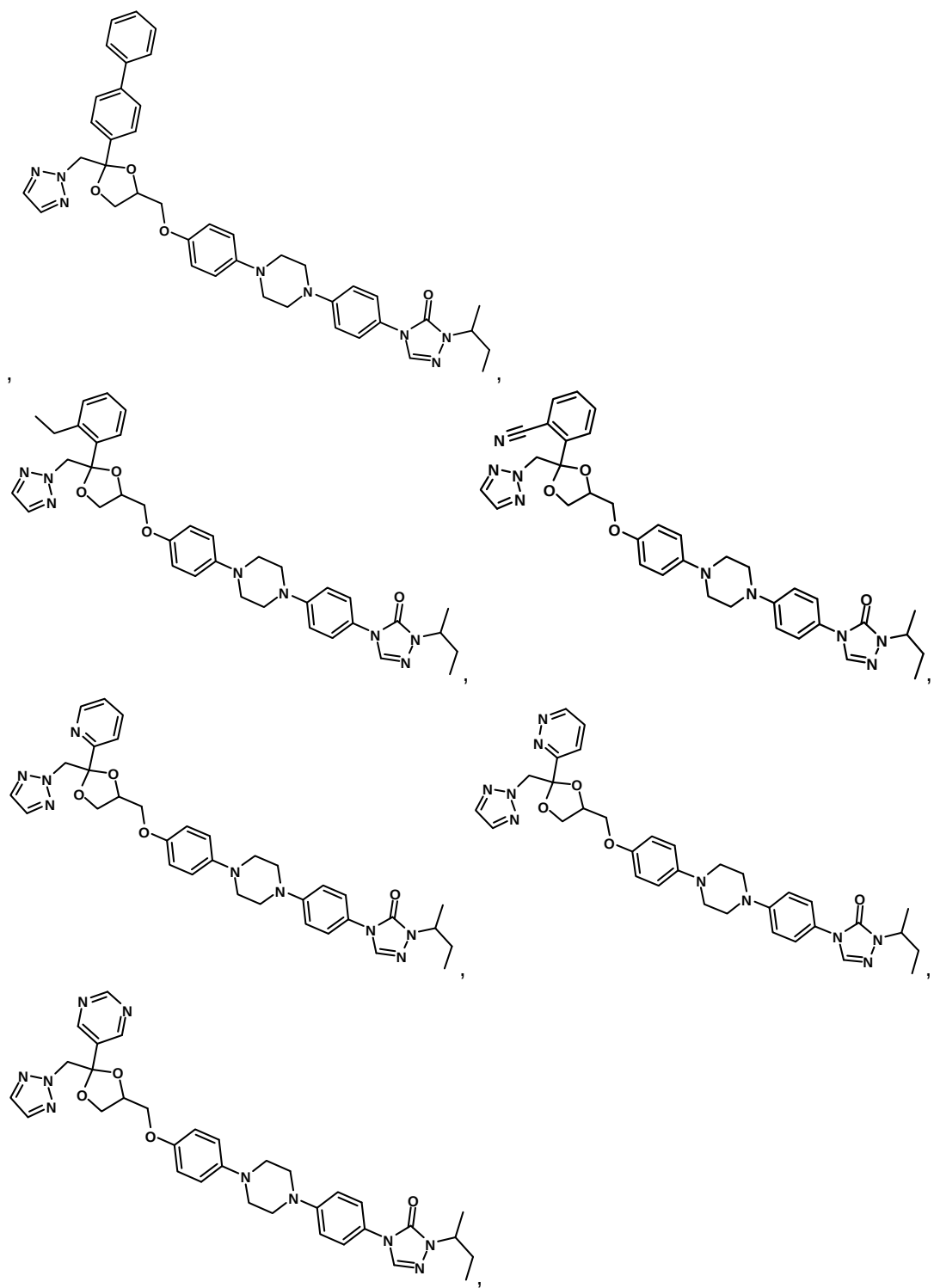


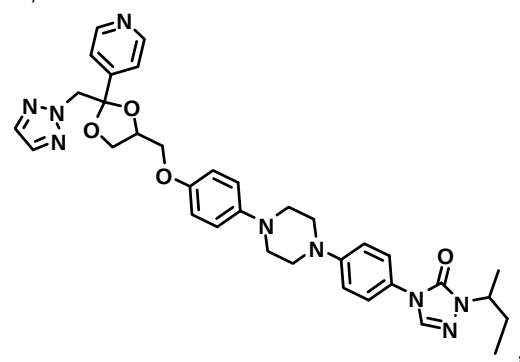
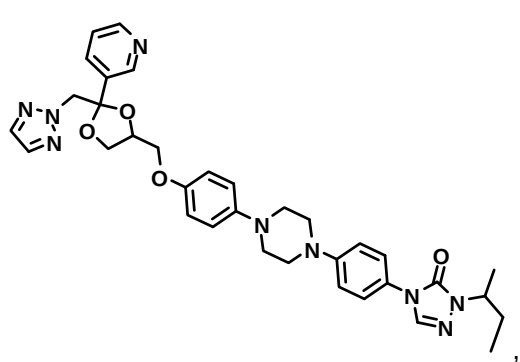
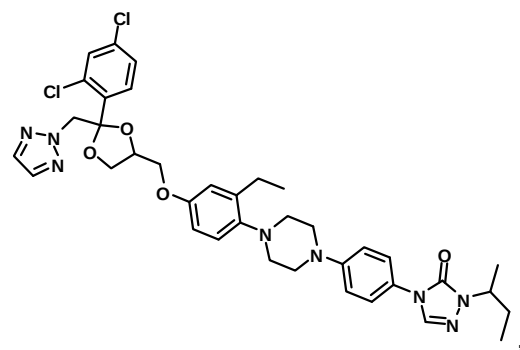
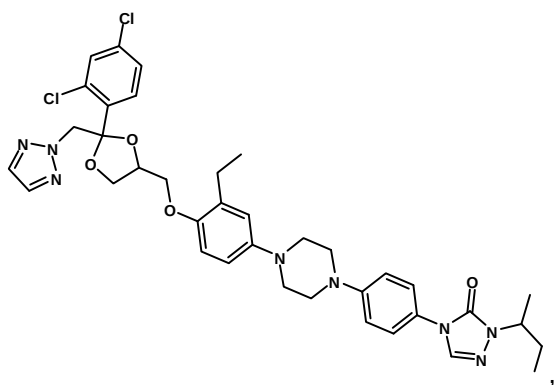
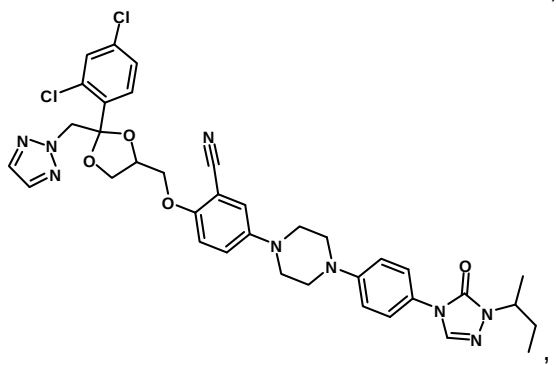
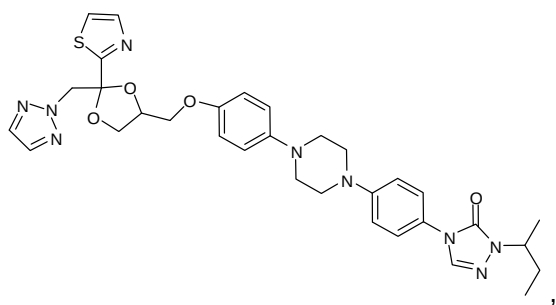


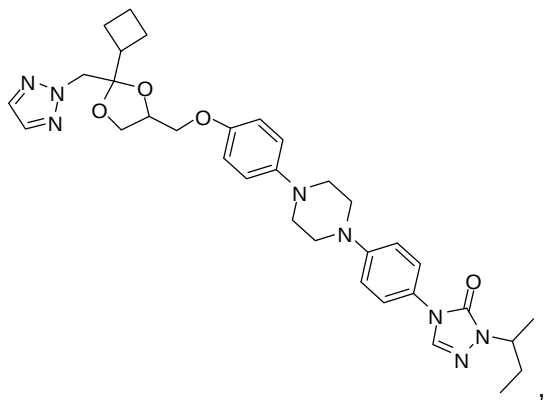
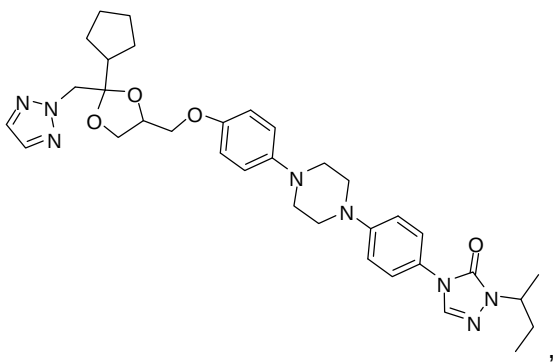
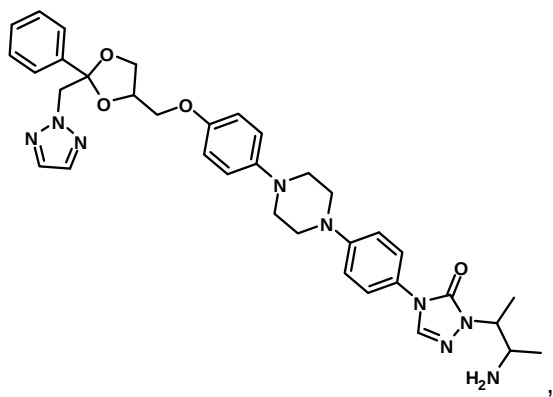
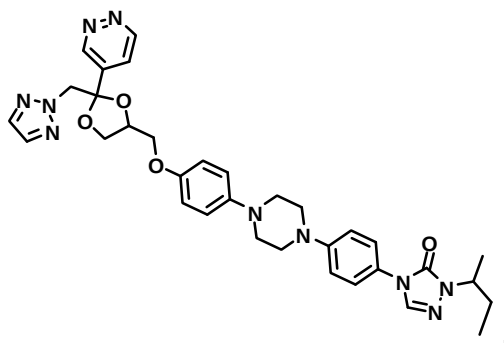
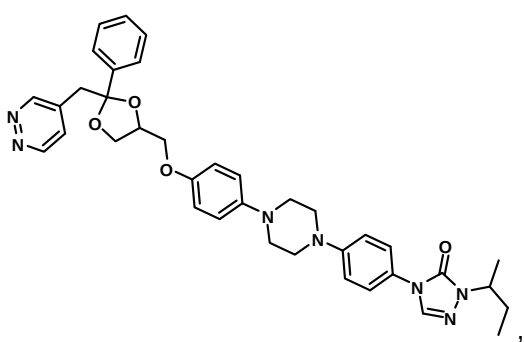


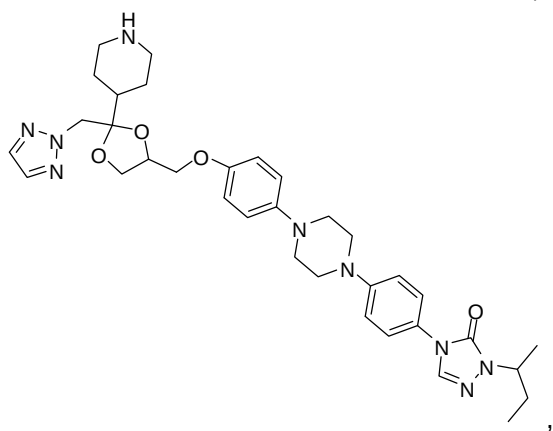
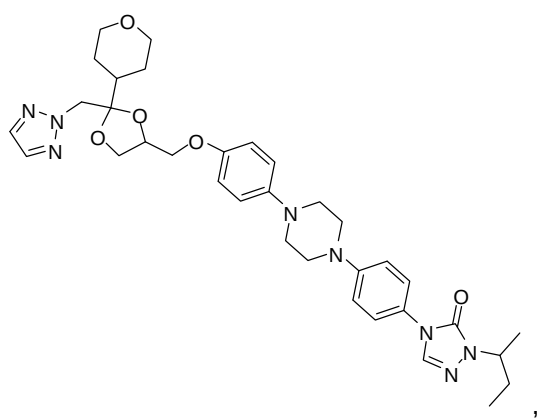
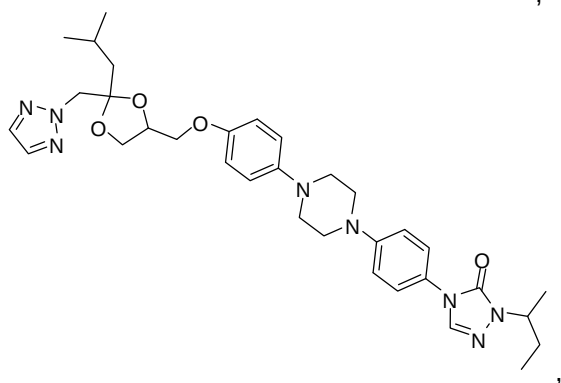
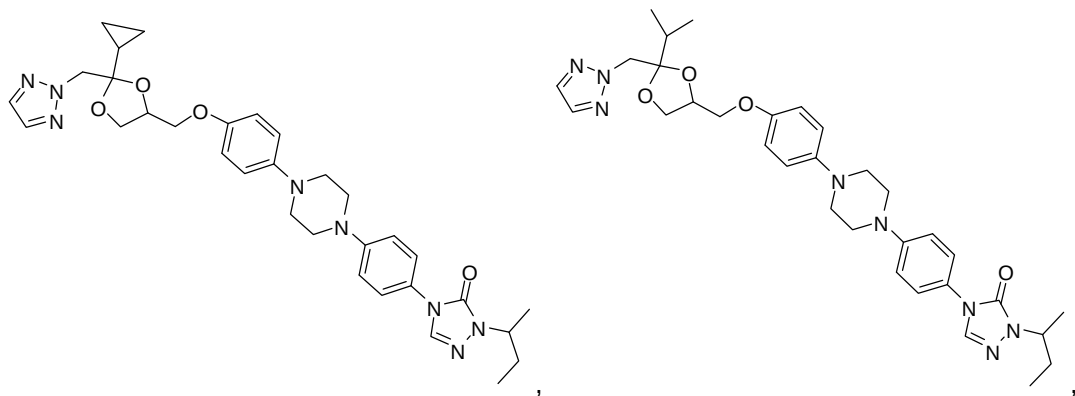




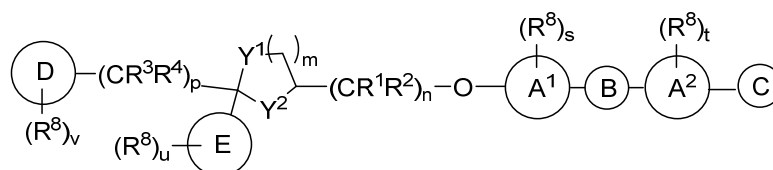








34. El método de la reivindicación 32 en donde la fibrosis es fibrosis pulmonar idiopática.
35. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-31 en donde la enfermedad o trastorno caracterizado por fibrosis es una enfermedad autoinmune crónica.
36. El método de la reivindicación 35 en donde la enfermedad autoinmune crónica es
- 5 artritis reumatoide, escleroderma, enfermedad de Crohn o lupus eritematoso sistémico.
37. El método de la reivindicación 36 en donde la enfermedad autoinmune crónica es escleroderma.
38. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-31 en donde la fibrosis es formación de queloide resultante de curación anormal de heridas.
- 10 39. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 1-31 en donde la fibrosis ocurre después del trasplante de órgano.
40. Un compuesto de Fórmula (II), una sal, solvato, polimorfo, profármaco, metabolito, N-óxido, estereoisómero o isómero del mismo, farmacéuticamente aceptable:

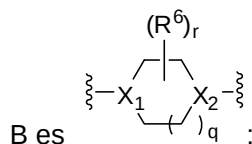


15

Fórmula (II)

en donde:

A¹ y A² son seleccionados independientemente de arilo o heteroarilo;



- 20 C es heterociclilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido o heteroarilo de 5 o 6 miembros opcionalmente sustituido, en donde el heterociclilo o el heteroarilo contiene 1 a 4 átomos de nitrógeno;

D es arilo o heteroarilo;

E es arilo, heteroarilo, carbociclilo, heterociclilo, o alquilo;

- 25 cada R¹, R², R³, y R⁴ es seleccionado independientemente de H, alquilo, haloalquilo, o alcoxi;

X₁ y X₂ son seleccionados independientemente de N y CR⁵;

R⁵ es H, OH, alquilo, o alcoxi;

cada R⁶ es independientemente alquilo, haloalquilo, halo, alcoxi, -alquilen(NR¹³R¹⁴), o arilo;

R⁷ es alquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), cicloalquilo, heterociclilo, -alquilen(cicloalquil), o -alquilen(heterocicliil);

5 cada R⁸ es seleccionado independientemente de alquilo, cicloalquilo, heterociclilo, halo, hidroxil, nitrilo, azido, nitro, alcoxi, haloalcoxi, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, -alquilen(NR¹³R¹⁴), -alquilen(cicloalquil), -alquilen(heterocicliil), arilo, heteroarilo, -SR¹³, -SOR¹³, -SO₂R¹³, -SO₂NR¹³R¹⁴, -NR¹³R¹⁴, -NR¹³SO₂R¹⁴, -NR¹³C(O)R¹⁴, -NR¹³C(O)OR¹⁴, -NR¹³C(O)NR¹³R¹⁴, -C(O)R¹⁴, -C(O)OR¹⁴, y -C(O)NR¹³R¹⁴; o dos R⁸ adyacentes forman un anillo heterociclilo;

10 cada R¹³ y R¹⁴ es seleccionado independientemente de H, alquilo, cicloalquilo, heterociclilalquilo, haloalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, arilalquilo, heteroarilalquilo, arilo, y heteroarilo; o R¹³ y R¹⁴ tomados juntos forman un heterociclo con los átomos a los cuales están unidos;

Y¹ y Y² son seleccionados independientemente de O, CH₂, NH, y NR¹³;

n es 1, 2, o 3;

15 m es 1 o 2;

p es 1, 2, 3, o 4;

q es 1, 2, o 3;

r es 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, o 8;

s es 0, 1, 2, 3, o 4;

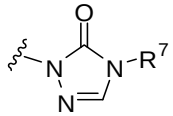
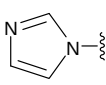
20 t es 0, 1, 2, 3, o 4;

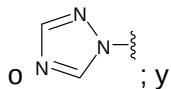
u es 0, 1, 2, 3, 4 o 5; y

v es 0, 1, 2, 3, o 4;

con la condición de que:

si X₁ y X₂ are N; r es 0; q es 1; A¹ y A² son fenilo; Y¹ y Y² are O; m y n son 1; R¹, R², R³, y

25 R⁴ son hidrógeno; y C es , entonces D no es 



el compuesto no es 4-(4-(4-(4-((2-((1H-pirazol-1-il)metil)-2-(2,4-difluorofenil)-1,3-dioxolan-4-il)metoxi)fenil)piperazin-1-il)fenil)-1-isopropil-1H-1,2,4-triazol-5(4H)-ona.

41. El compuesto de la reivindicación 40, en donde X₁ y X₂ son N.

30 42. El compuesto de la reivindicación 40, en donde X₁ es CR⁵ y X₂ es N.

43. El compuesto de la reivindicación 40, en donde X₁ es N y X₂ es CR⁵.

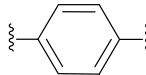
44. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-43, en donde q es 1 y r es 0.

45. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-44, en donde A¹ es arilo.

46. El compuesto de la reivindicación 45 en donde A¹ es .

5 47. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-44, en donde A¹ es heteroarilo.

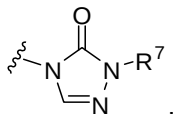
48. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-47, en donde A² es arilo.

49. El compuesto de la reivindicación 48, en donde A² es .

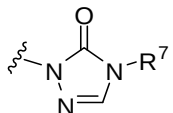
10 50. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-47, en donde A² es heteroarilo.

51. El compuesto de la reivindicación 50, en donde A² es piridina, pirazina, pirimidina, piridazina, o triazina.

52. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-51, en donde C es



15 53. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-51, en donde C es



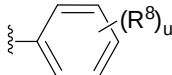
54. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-53, en donde E es alquilo.

55. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-53, en donde E es cicloalquilo.

20 56. El compuesto de la reivindicación 55, en donde E es ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, o ciclohexilo.

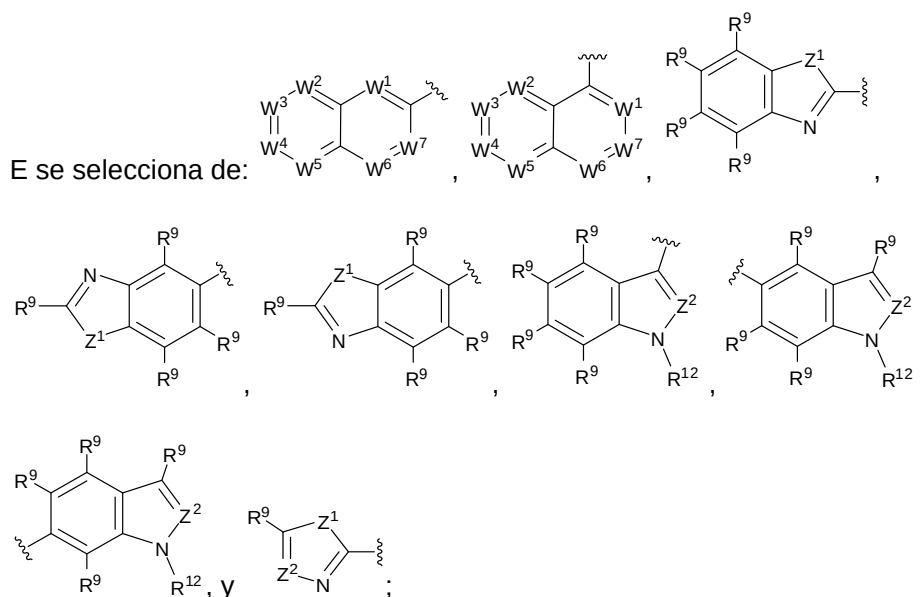
57. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-53, en donde E es heterociclilo.

58. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-53, en donde E es arilo.

25 59. El compuesto de la reivindicación 58, en donde E es  y u es 0, 1, 2, 3, 4, o 5.

60. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-53, en donde E es heteroarilo.

61. El compuesto de la reivindicación 60, en donde



5 $W^1, W^2, W^3, W^4, W^5, W^6$, y W^7 son seleccionados independientemente de N y CR^9 ;

Z^1 es NR^{12} , S, o O;

Z^2 es N o CR^9 ;

cada R^9 es seleccionado independientemente de H, halógeno, CN, NO_2 , alquilo, $-SR^{10}$, $-OR^{10}$, $-NR^{10}R^{11}$, $NR^{10}C(O)(alquil)$, $-NR^{10}C(O)(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)(heterocicloalquil)$,

10 $-NR^{10}C(O)(aril)$, $-NR^{10}C(O)(heteroaril)$, $-C(O)NR^{10}R^{11}$, $-C(O)NR^{10}(cicloalquil)$,

$-C(O)NR^{10}(heterocicloalquil)$, $-C(O)NR^{10}(aril)$, $-C(O)NR^{10}(heteroaril)$,

$-NR^{10}C(O)NR^{10}R^{11}$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heterocicloalquil)$,

$-NR^{10}C(O)NR^{11}(aril)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heteroaril)$, $-NR^{10}C(O)O(alquil)$,

$-NR^{10}C(O)O(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)O(heterocicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)O(aril)$,

15 $-NR^{10}C(O)O(heteroaril)$, $-NR^{10}SO_2(alquil)$, $-NR^{10}SO_2(cicloalquil)$,

$-NR^{10}SO_2(heterocicloalquil)$, $-NR^{10}SO_2(aril)$, $-NR^{10}SO_2(heteroaril)$, $-SO_2NR^{10}R^{11}$,

$-SO_2NR^{10}(cicloalquil)$, $-SO_2NR^{10}(heterocicloalquil)$, $-SO_2NR^{10}(aril)$,

$-SO_2NR^{10}(heteroaril)$, haloalquilo, arilo, y heteroarilo;

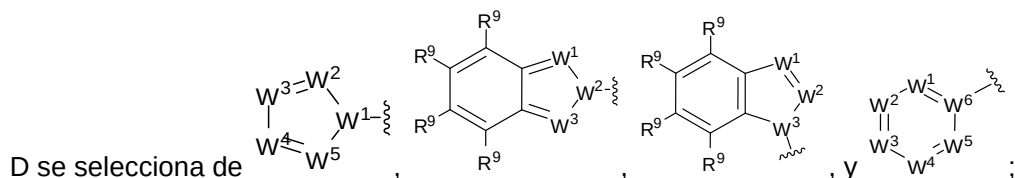
20 cada R^{10} y R^{11} es seleccionado independientemente de H y alquilo; o R^{10} y R^{11} tomados juntos forman un heterociclo con el nitrógeno al cual están unidos; y

R^{12} es H, alquilo o haloalquilo.

62. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-61, en donde D es arilo.

63. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-62, en donde D es heteroarilo.

64. El compuesto de la reivindicación 63, en donde



5 W^1 , W^2 , W^3 , W^4 , y W^5 son seleccionados independientemente de N y CR^9 ;

W^6 es N o C; y

cada R^9 es seleccionado independientemente de H, halógeno, CN, NO_2 , alquilo, $-SR^{10}$, $-OR^{10}$, $-NR^{10}R^{11}$, $NR^{10}C(O)(alquil)$, $-NR^{10}C(O)(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)(heterocicloalquil)$,

$-NR^{10}C(O)(aril)$, $-NR^{10}C(O)(heteroaril)$, $-C(O)NR^{10}R^{11}$, $-C(O)NR^{10}(cicloalquil)$,

10 $-C(O)NR^{10}(heterocicloalquil)$, $-C(O)NR^{10}(aril)$, $-C(O)NR^{10}(heteroaril)$,

$-NR^{10}C(O)NR^{10}R^{11}$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heterocicloalquil)$,

$-NR^{10}C(O)NR^{11}(aril)$, $-NR^{10}C(O)NR^{11}(heteroaril)$, $-NR^{10}C(O)O(alquil)$,

$-NR^{10}C(O)O(cicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)O(heterocicloalquil)$, $-NR^{10}C(O)O(aril)$,

$-NR^{10}C(O)O(heteroaril)$, $-NR^{10}SO_2(alquil)$, $-NR^{10}SO_2(cicloalquil)$,

15 $-NR^{10}SO_2(heterocicloalquil)$, $-NR^{10}SO_2(aril)$, $-NR^{10}SO_2(heteroaril)$, $-SO_2NR^{10}R^{11}$,

$-SO_2NR^{10}(cicloalquil)$, $-SO_2NR^{10}(heterocicloalquil)$, $-SO_2NR^{10}(aril)$,

$-SO_2NR^{10}(heteroaril)$, haloalquilo, arilo, y heteroarilo.



68. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-67 en donde Y^1 y Y^2 son O.

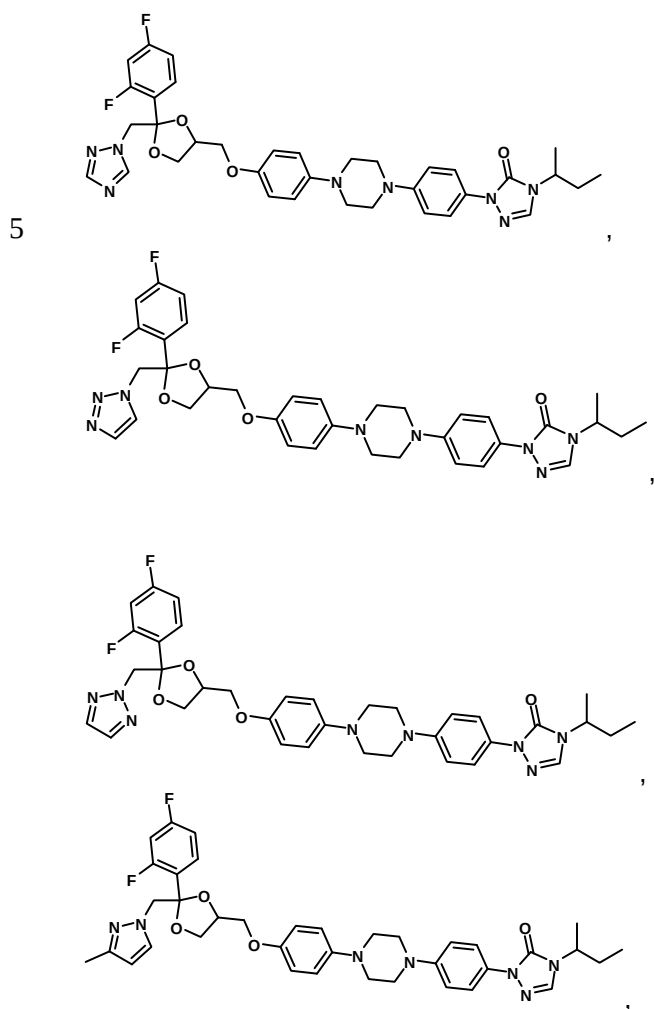
69. El compuesto de la reivindicación 68 en donde m es 1.

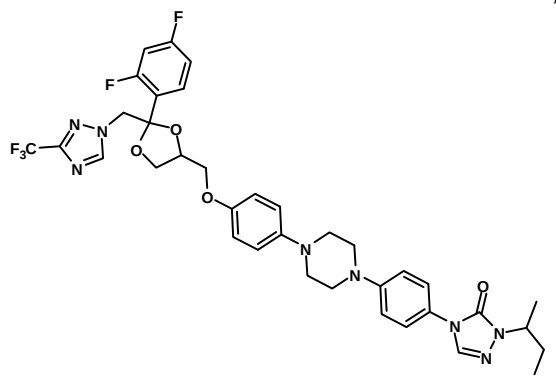
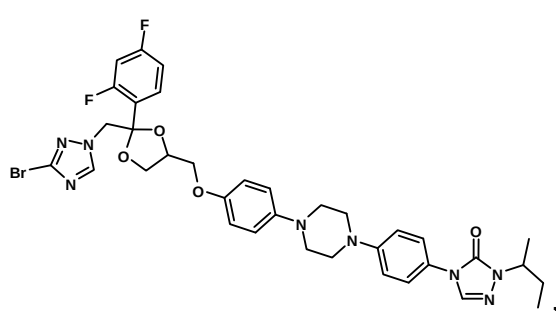
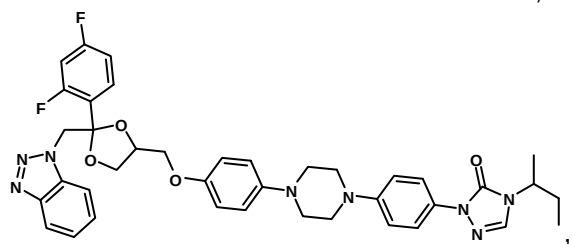
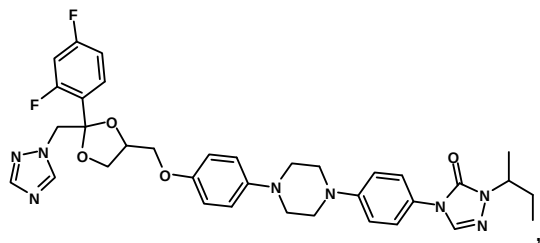
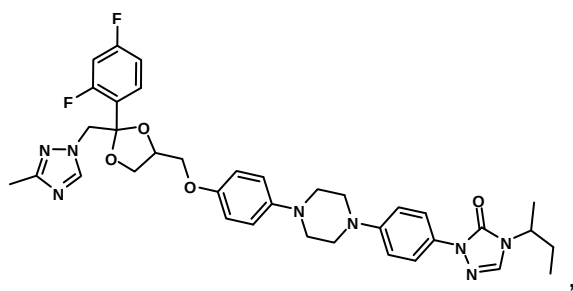
70. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-69 en donde p es 1, 2, o 3.

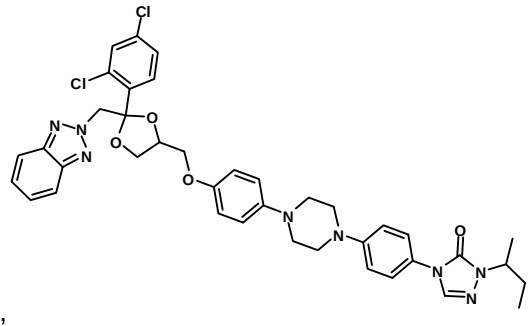
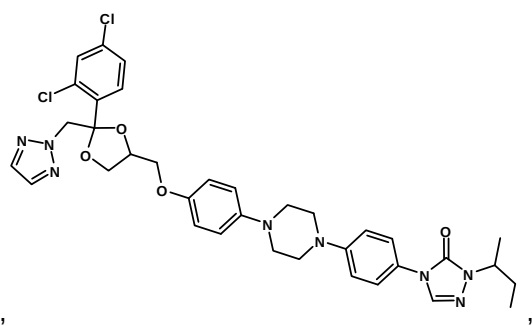
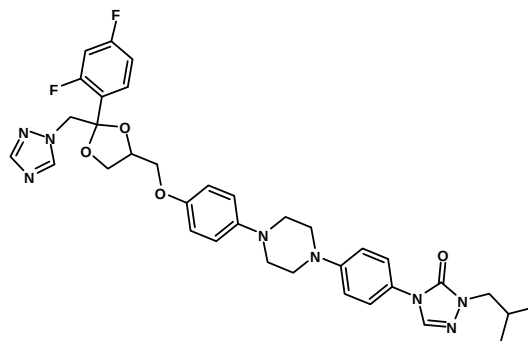
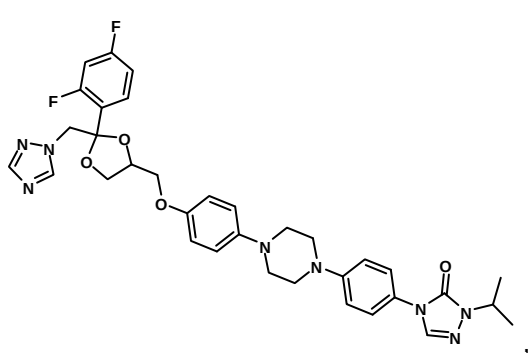
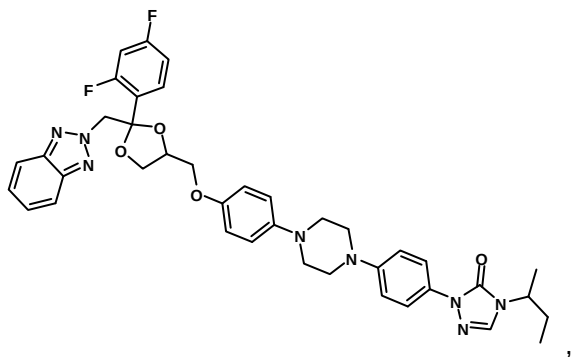
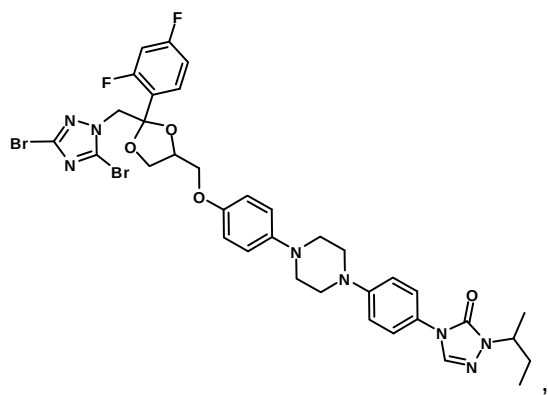
71. El compuesto de la reivindicación 70 en donde p es 1.

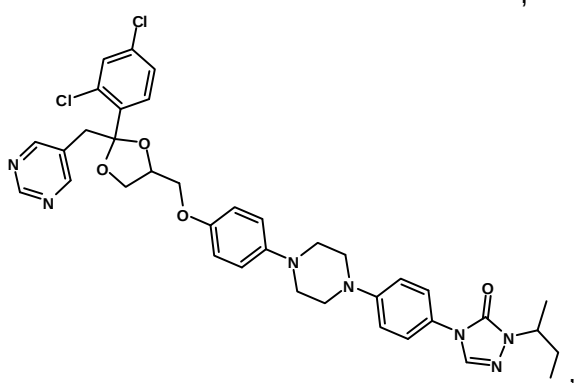
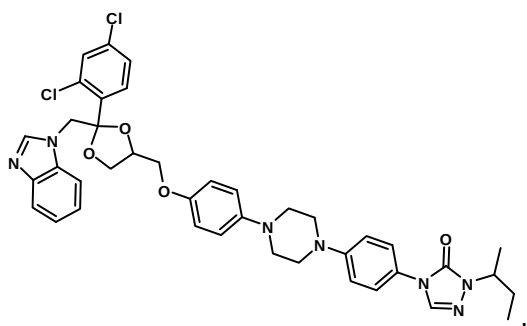
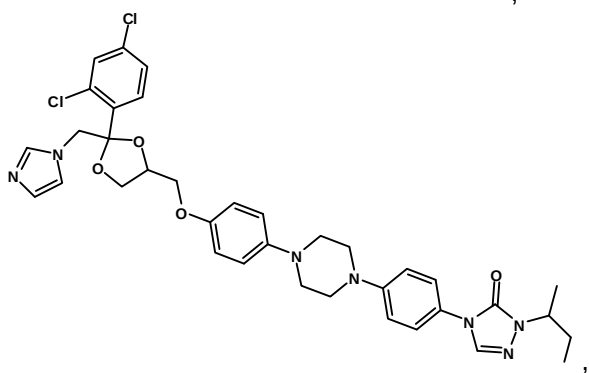
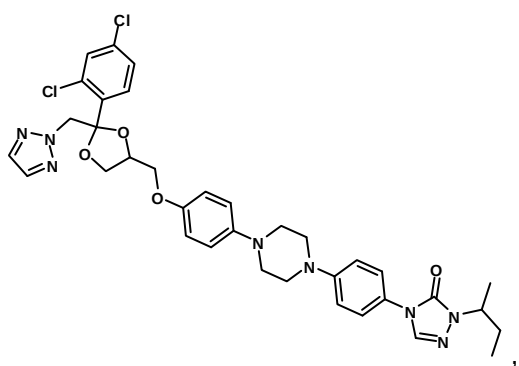
72. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 40-71 en donde R¹, R², R³, y R⁴ son hidrógeno.

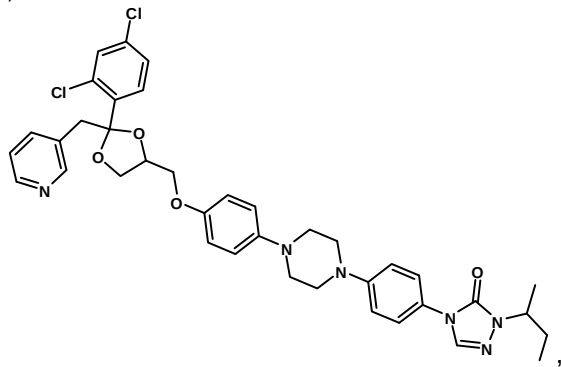
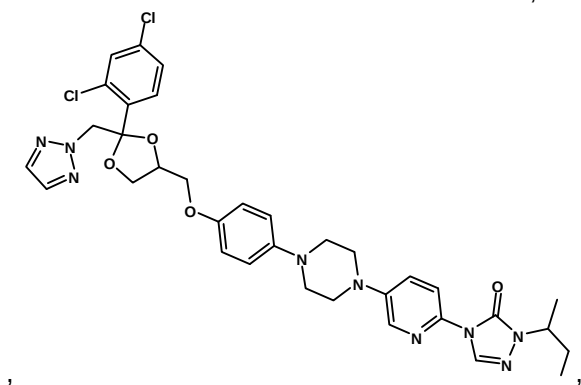
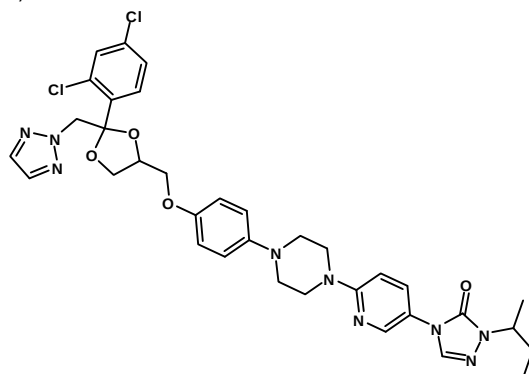
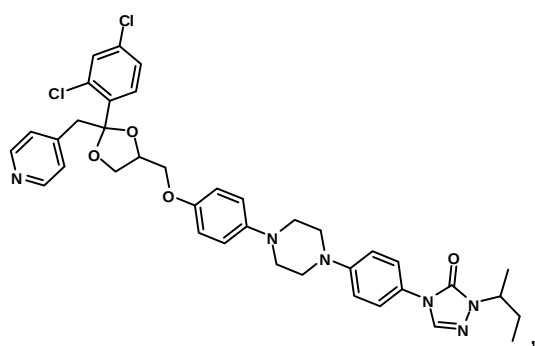
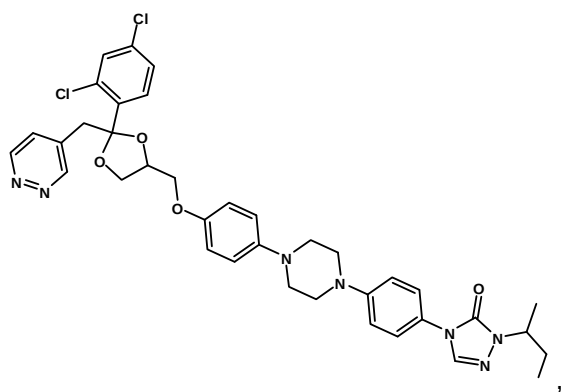
73. El compuesto de la reivindicación 40 en donde el compuesto se selecciona de:

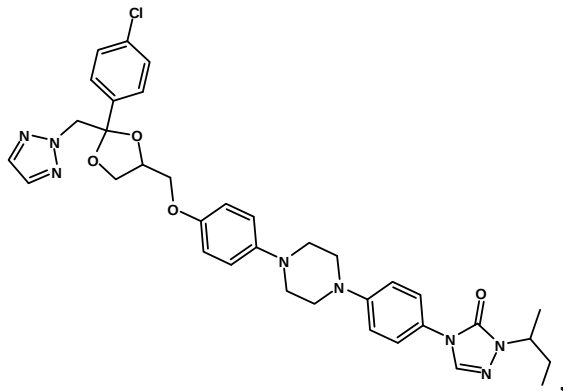
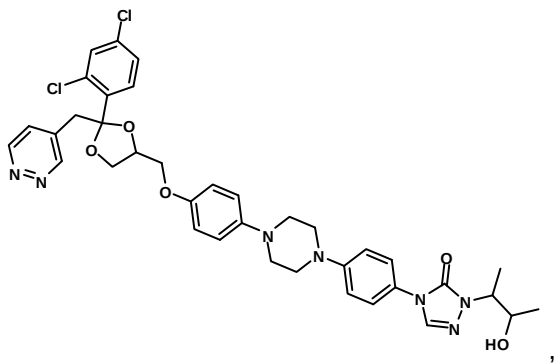
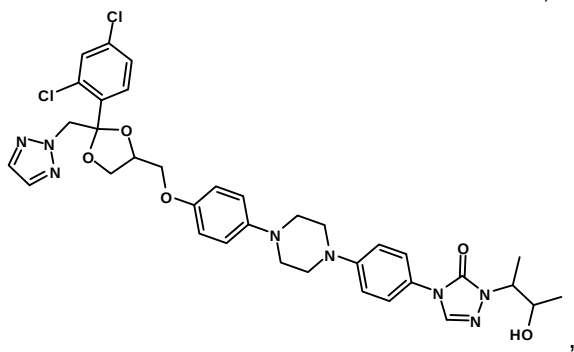
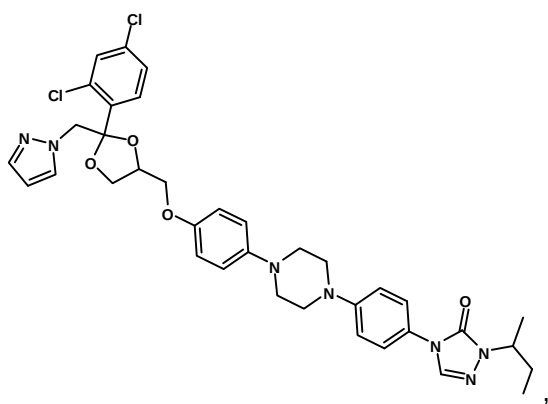


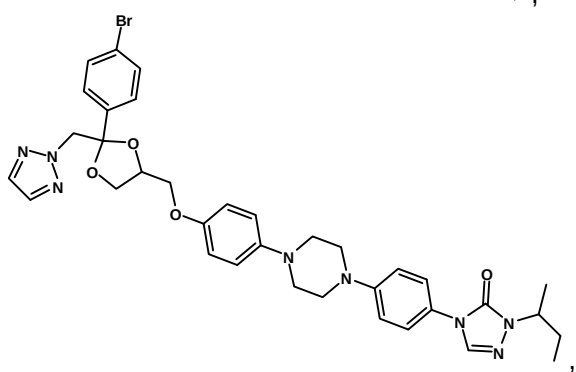
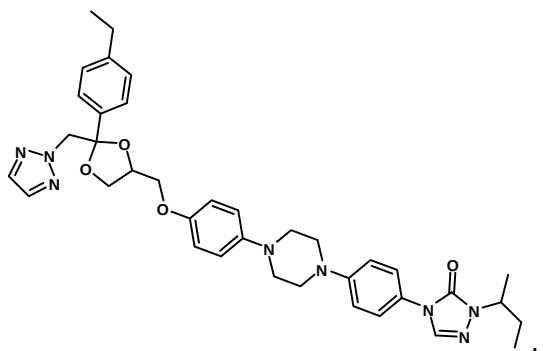
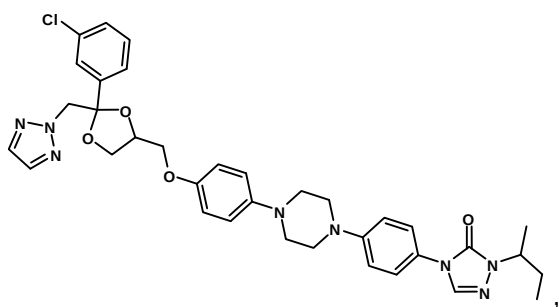
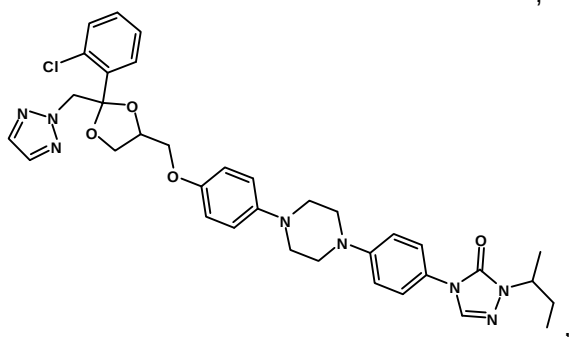
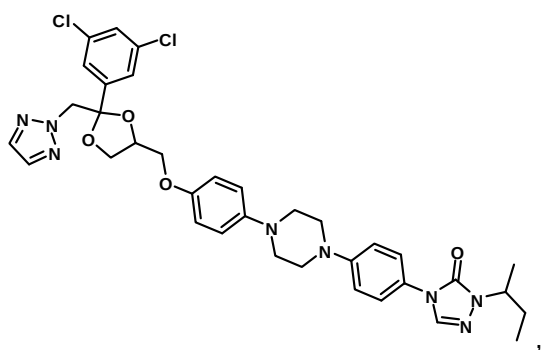


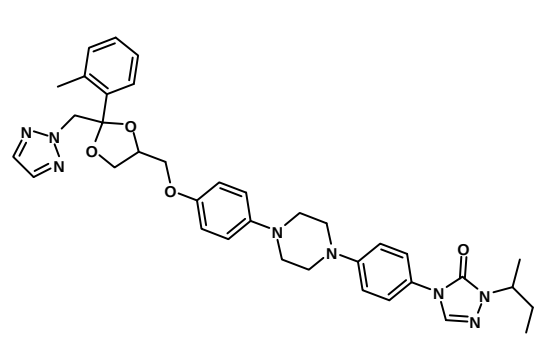
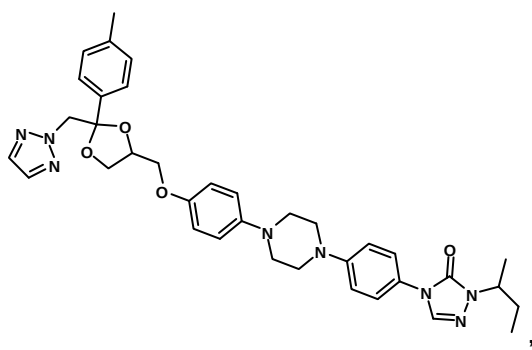
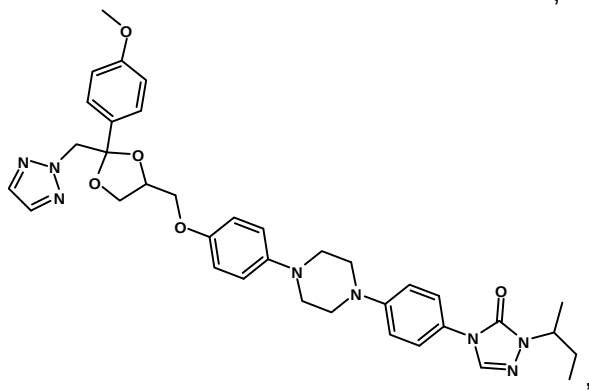
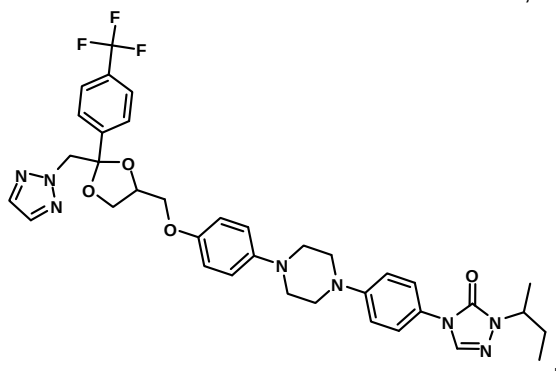
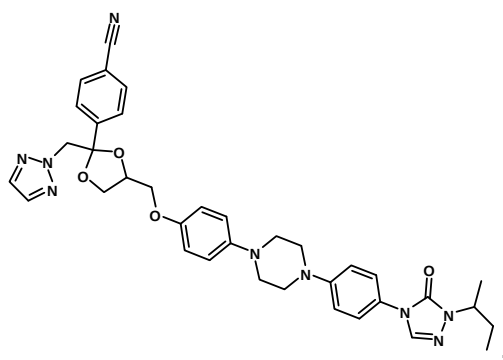
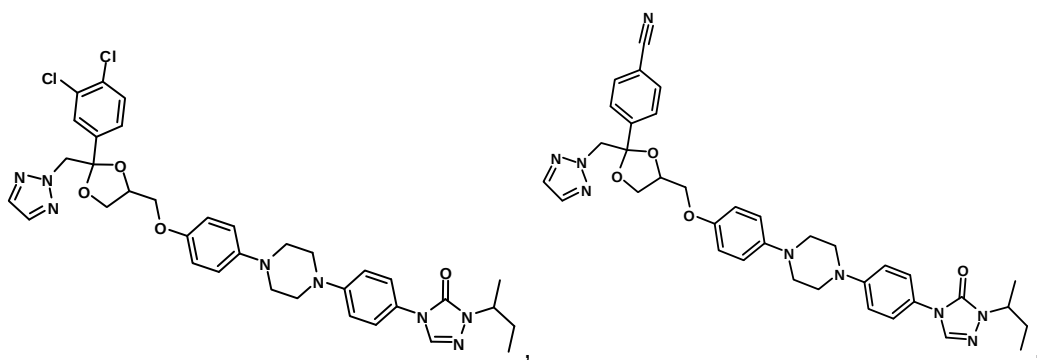


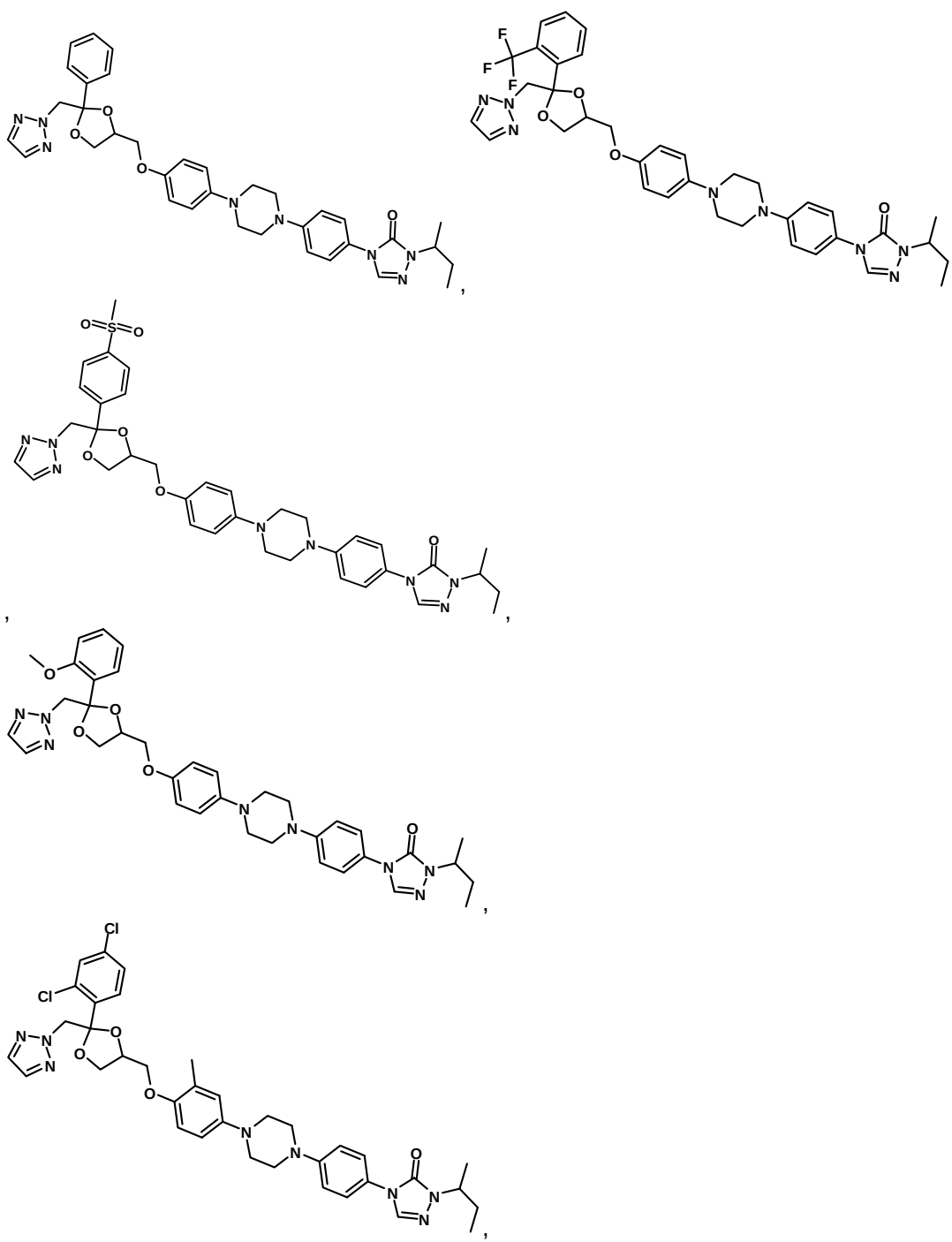


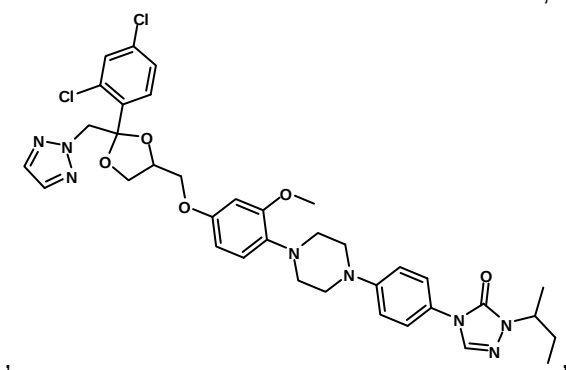
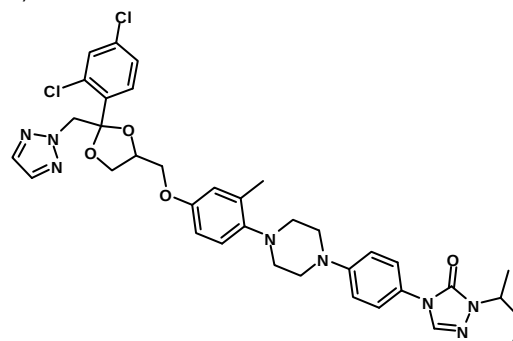
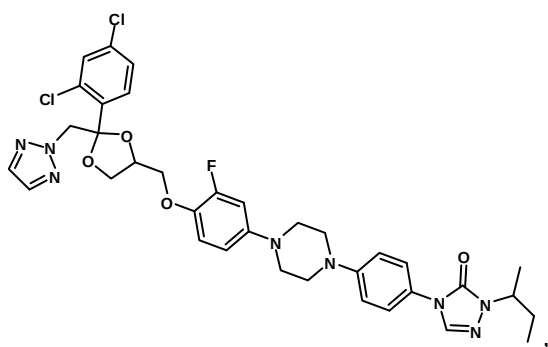
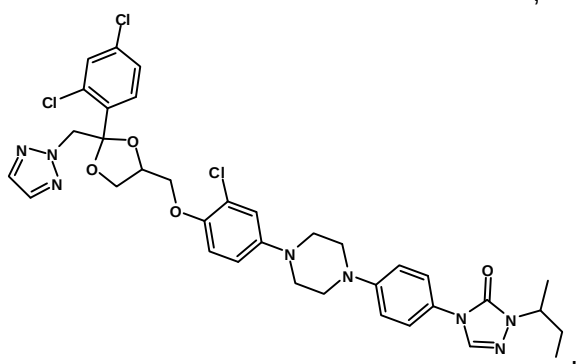
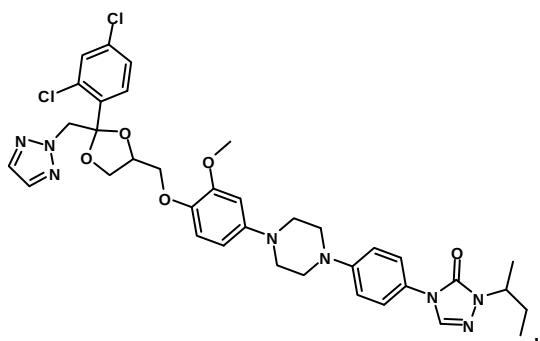


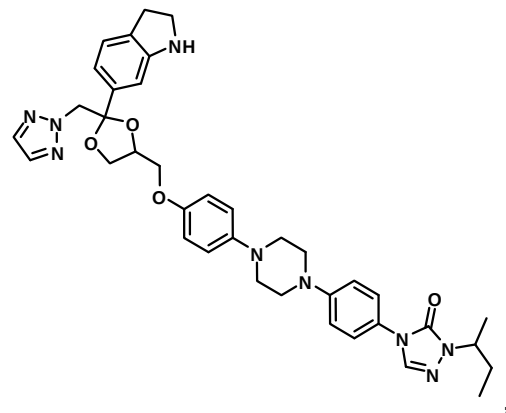
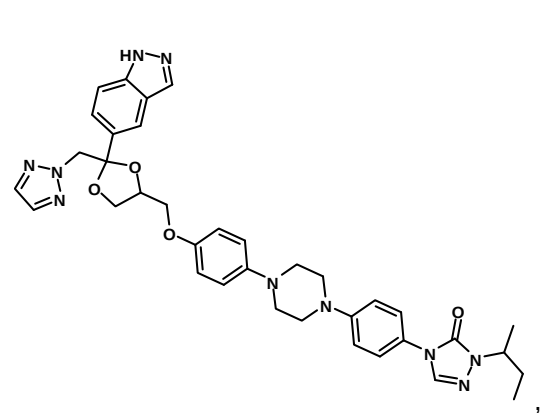
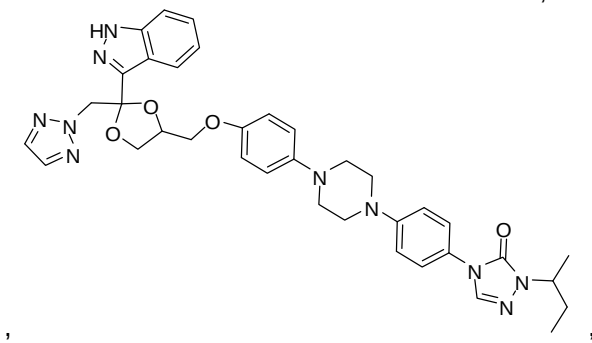
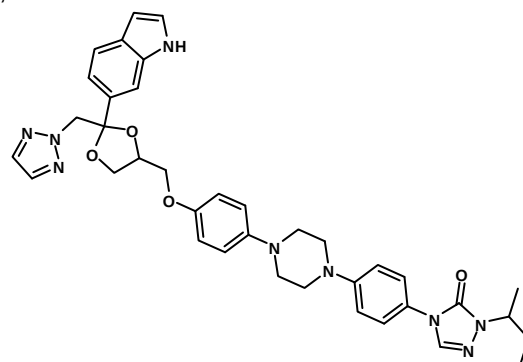
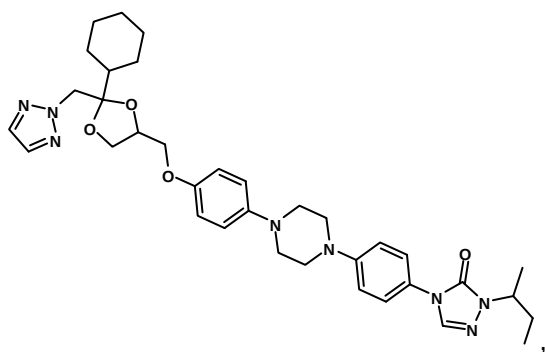
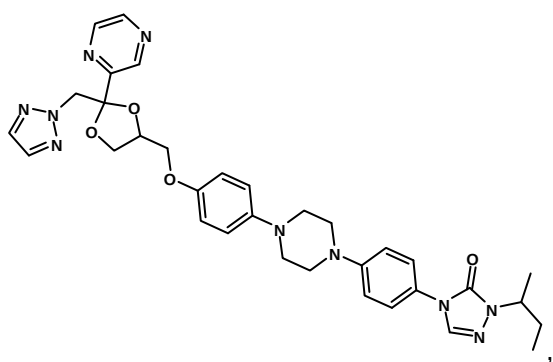


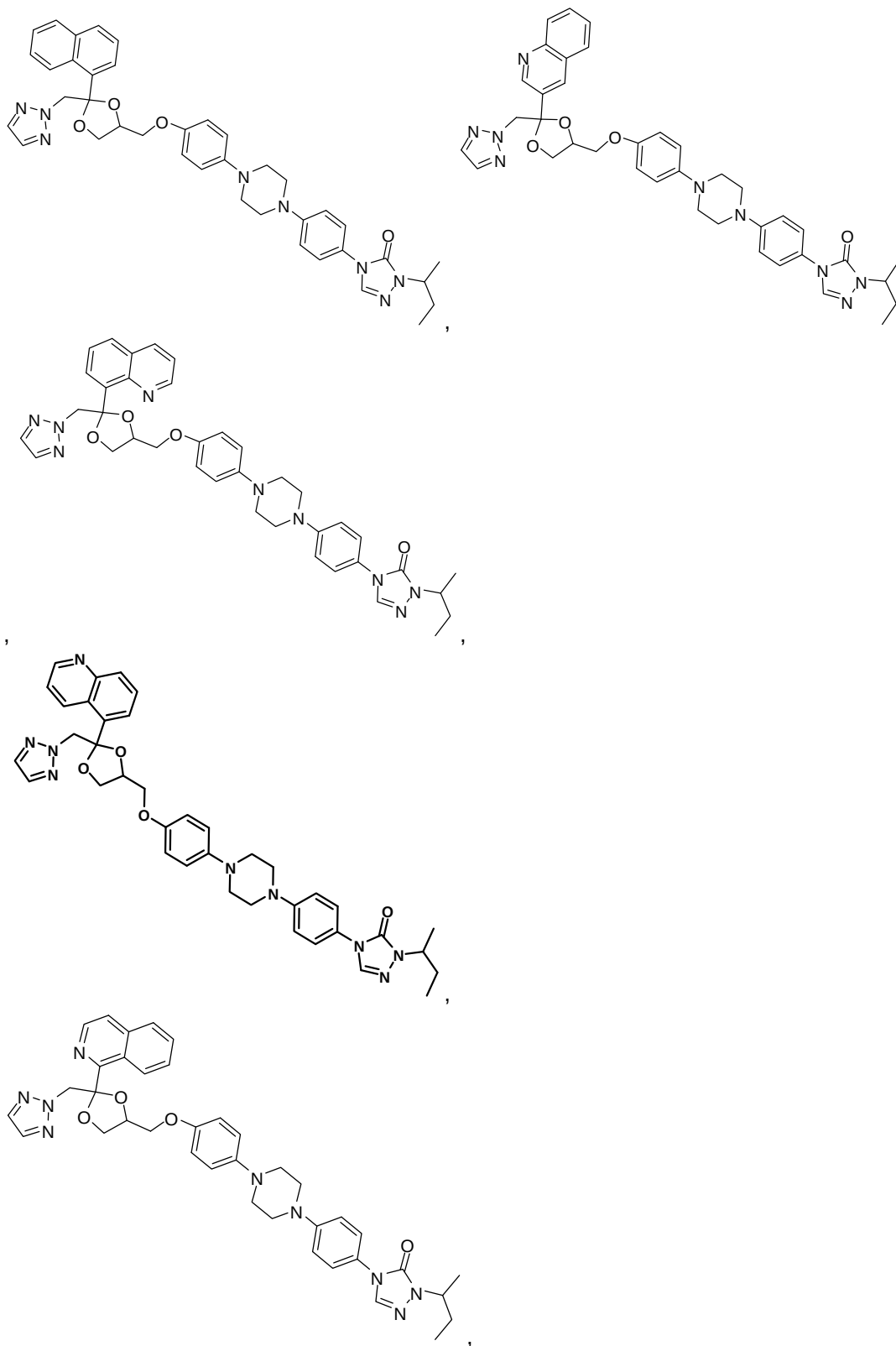


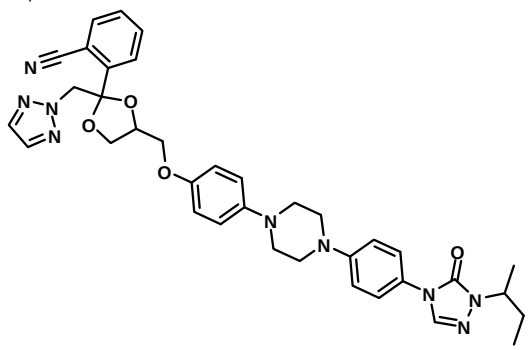
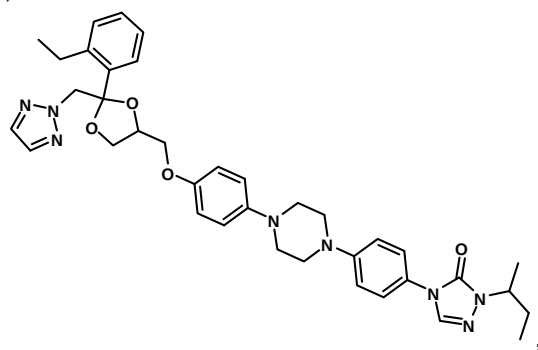
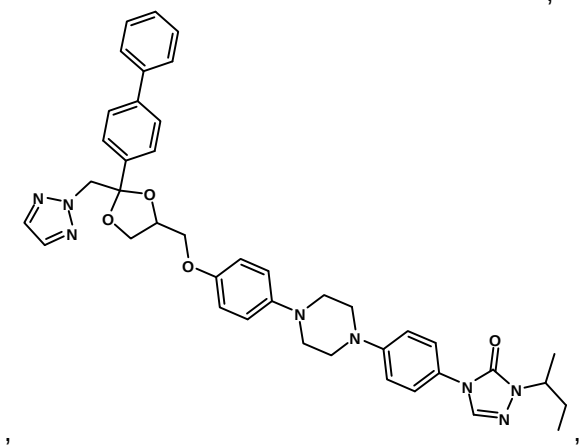
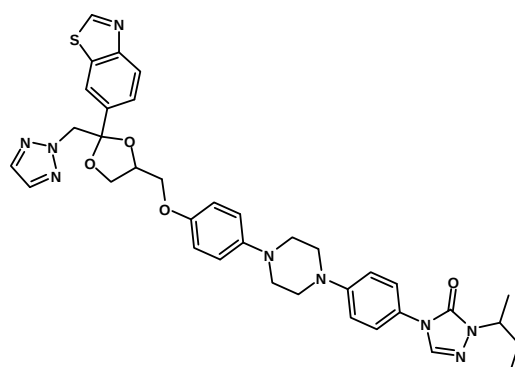
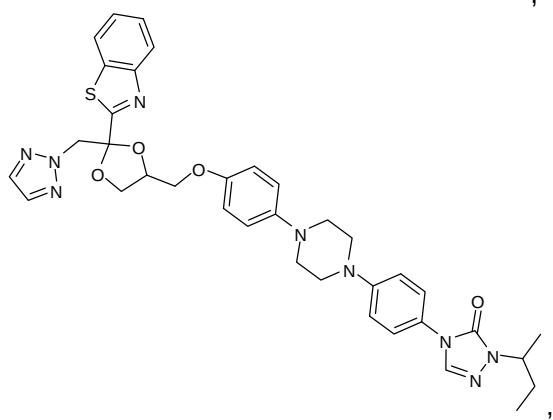
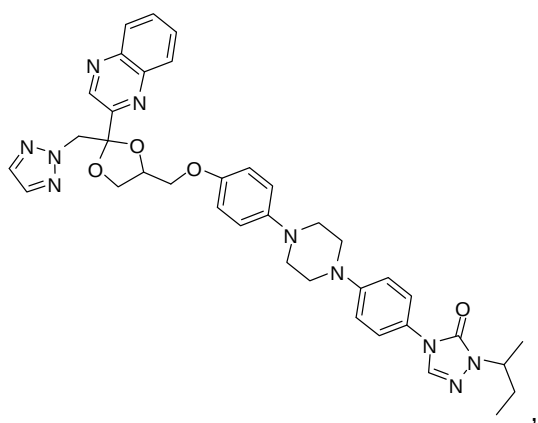


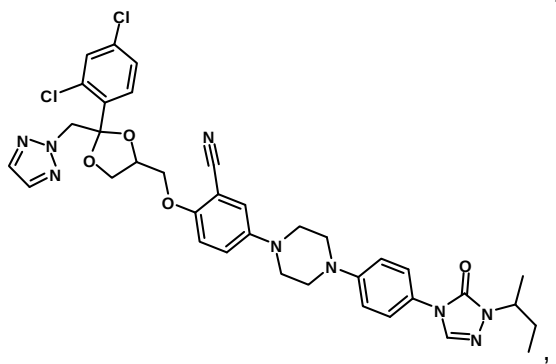
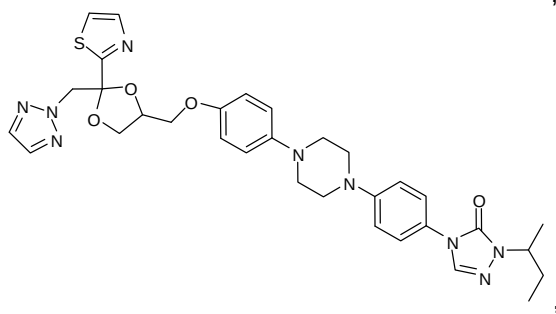
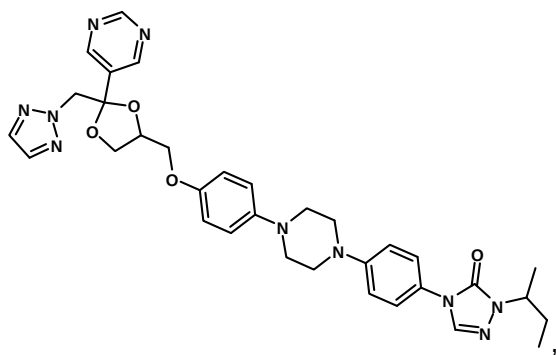
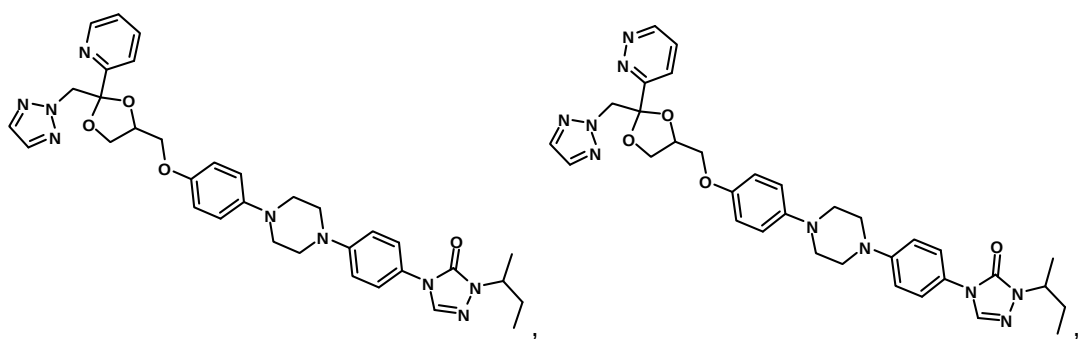


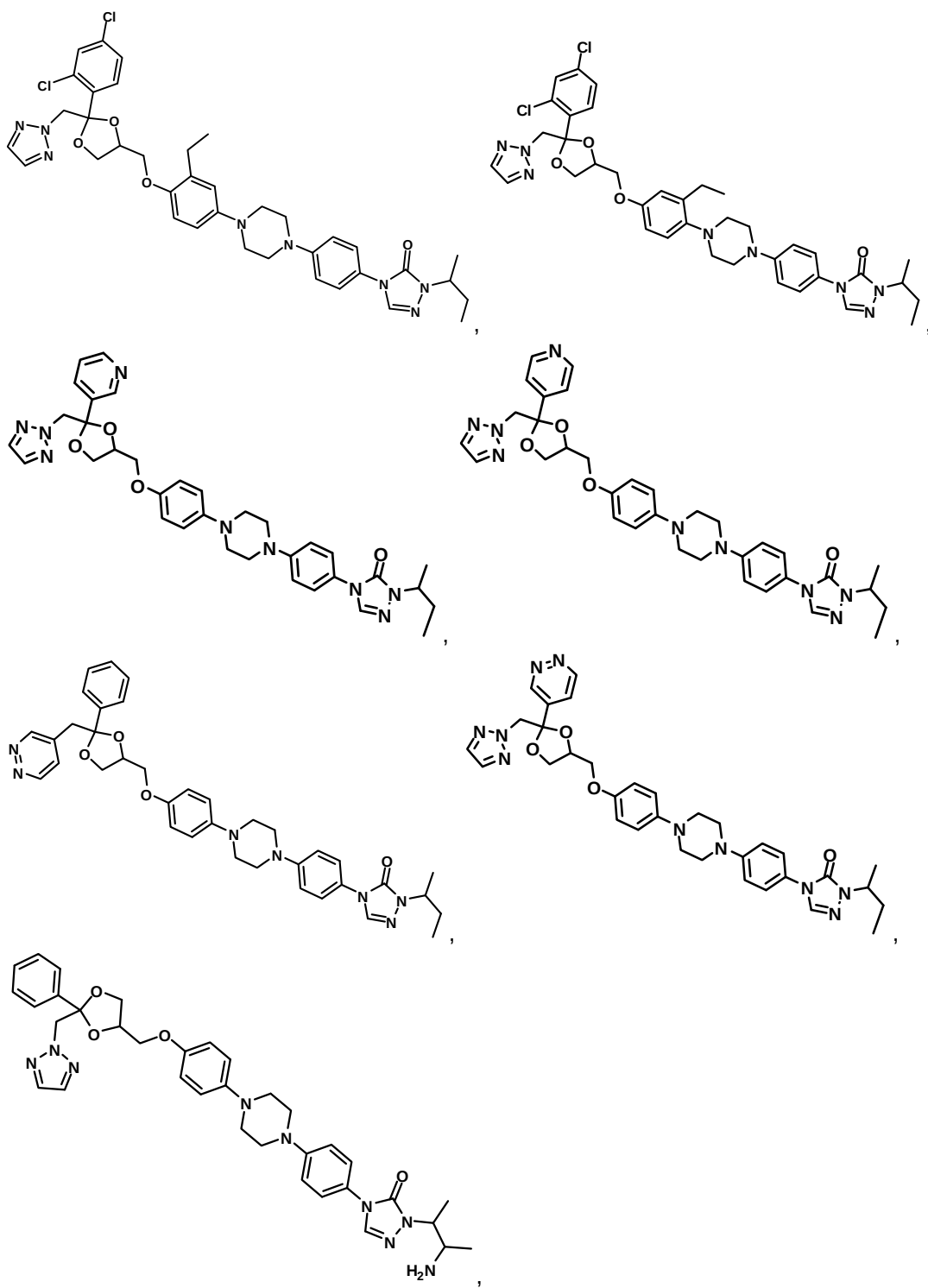


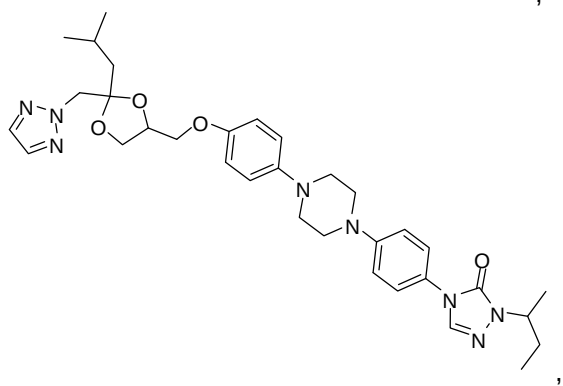
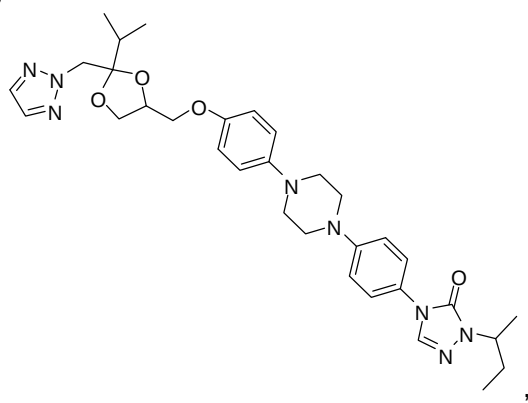
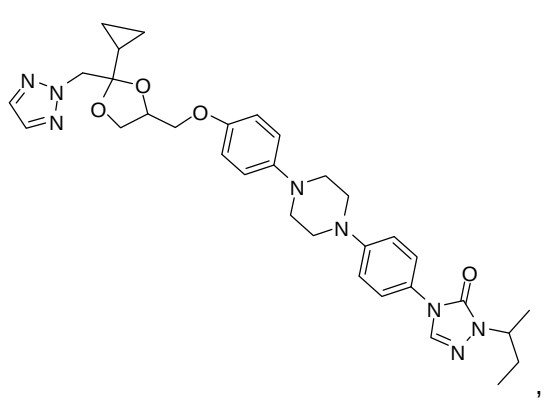
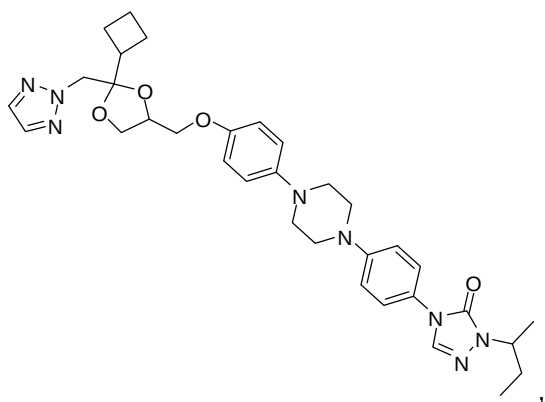
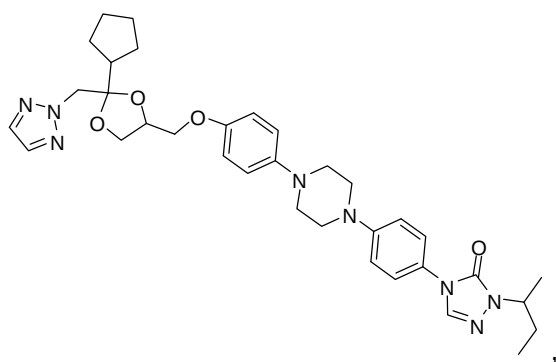


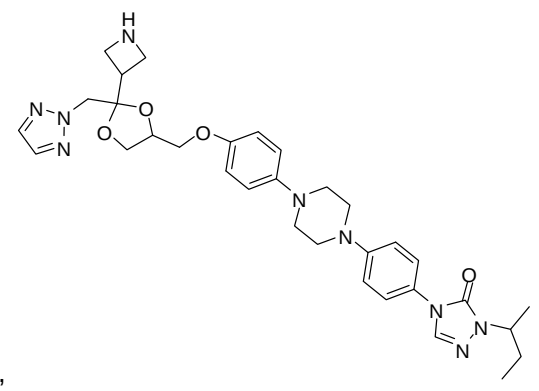
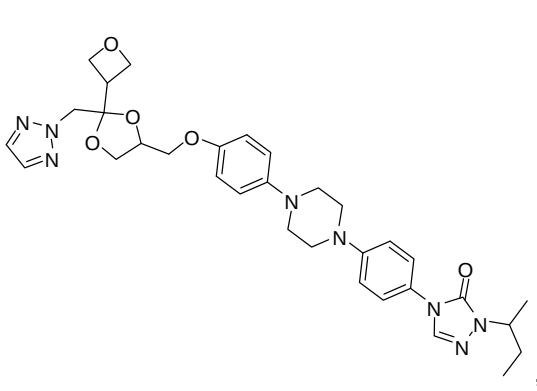
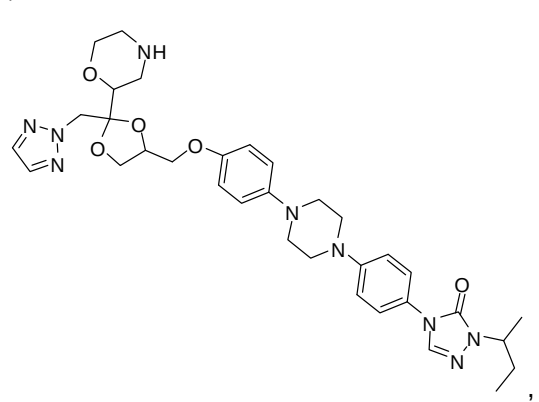
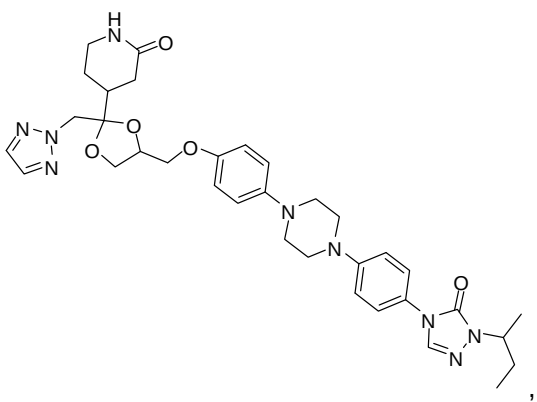
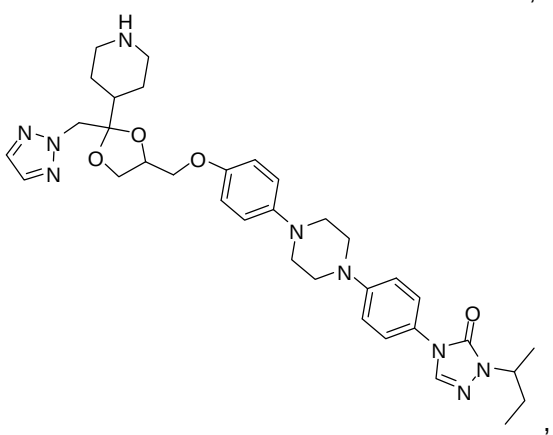
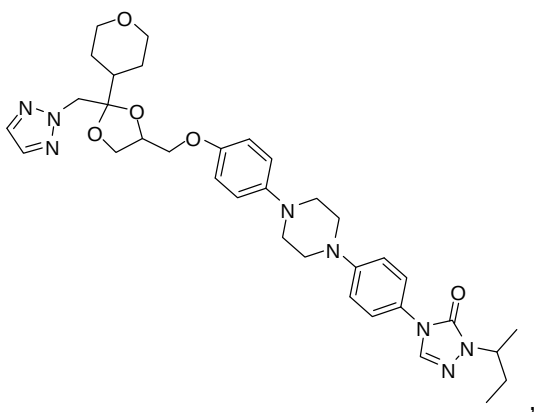


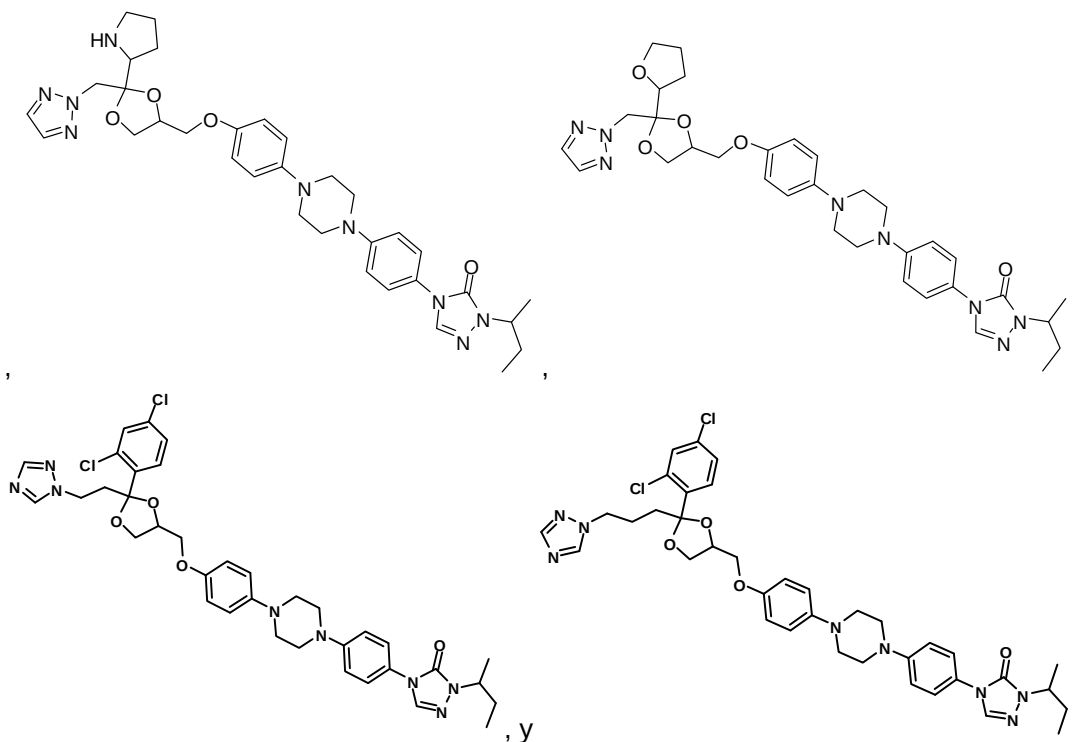












74. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de
 5 las reivindicaciones 40-73, o una sal, solvato, polimorfo, profármaco, metabolito, N-óxido, estereoisómero o isómero del mismo farmacéuticamente aceptable, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

(10) International Publication Number
WO 2014/197738 A1(43) International Publication Date
11 December 2014 (11.12.2014)(51) International Patent Classification:
A01N 43/40 (2006.01)(21) International Application Number:
PCT/US2014/041174(22) International Filing Date:
5 June 2014 (05.06.2014)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
61/832,768 7 June 2013 (07.06.2013) US(71) Applicants: **THE CALIFORNIA INSTITUTE FOR BIOMEDICAL RESEARCH** [US/US]; 11119 North Torrey Pines Road, Suite 100, La Jolla, CA 92037 (US). **THE SCRIPPS RESEARCH INSTITUTE** [US/US]; 10550 North Torrey Pines Road, La Jolla, CA 92037 (US).(72) Inventors: **LAIRSON, Luke**; 8012 El Paseo Grande, La Jolla, CA 92037 (US). **BOLLONG, Michael**; 3106 1st Avenue, San Diego, CA 92103 (US). **SCHULTZ, Peter, G.**; 1650 La Jolla Rancho Road, La Jolla, CA 92037 (US). **CHATTERJEE, Arnab, K.**; 13268 Torrey Crest Court, San Diego, CA 92129 (US). **YANG, Baiyuan**; 8705 Rideabout Lane, San Diego, CA 92129 (US). **KUMAR, Puneet**; 141 F Beverly Hill Terrace, Woodbridge, NJ 07095(US). **URKALAN, Kaveri**; 9155 Judicial Drive, Apt. #5322, San Diego, CA 92122 (US).(74) Agent: **HARDT, Ingo, H.**; Wilson Sonsini Goodrich & Rosati, 650 Page Mill Road, Palo Alto, CA 94304 (US).

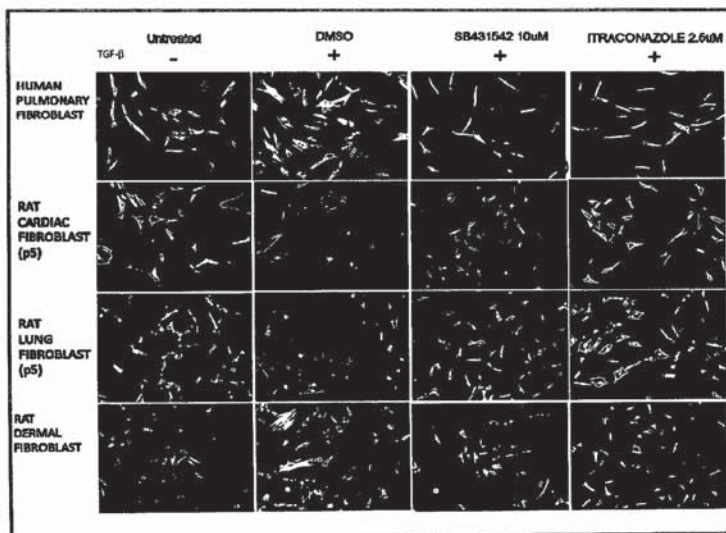
(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), European (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Continued on next page]

(54) Title: SMALL MOLECULE INHIBITORS OF FIBROSIS

Figure 2



(57) Abstract: Described herein are compounds and compositions for the treatment of a fibrotic disease.

Published:

— with international search report (Art. 21(3))

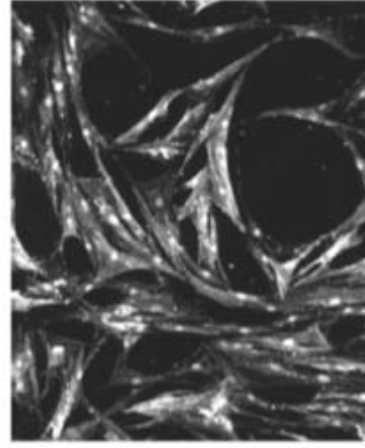
Inhibidores de moléculas pequeñas de fibrosis

RESUMEN DE LA DIVULGACIÓN

Se describen aquí compuestos y composiciones para el tratamiento de una enfermedad fibrótica

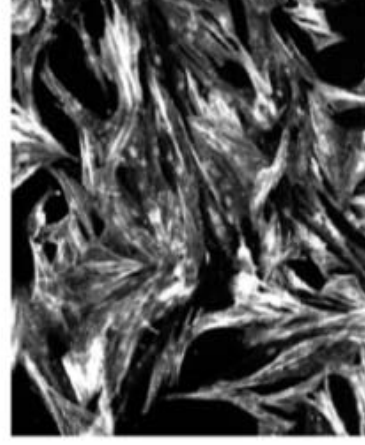
5

Figura 1

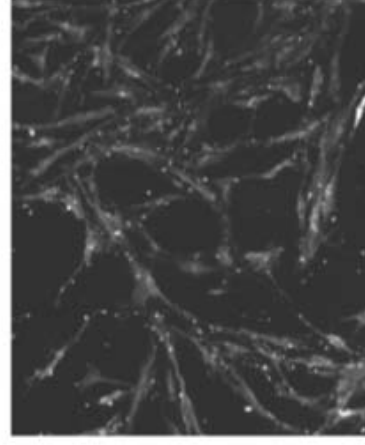


No activado

α SMA
Hoechst



TGF- β (5 ng/mL)



TGF β (5 ng/mL)
SB 431542 (10 μ M)

Figura 2

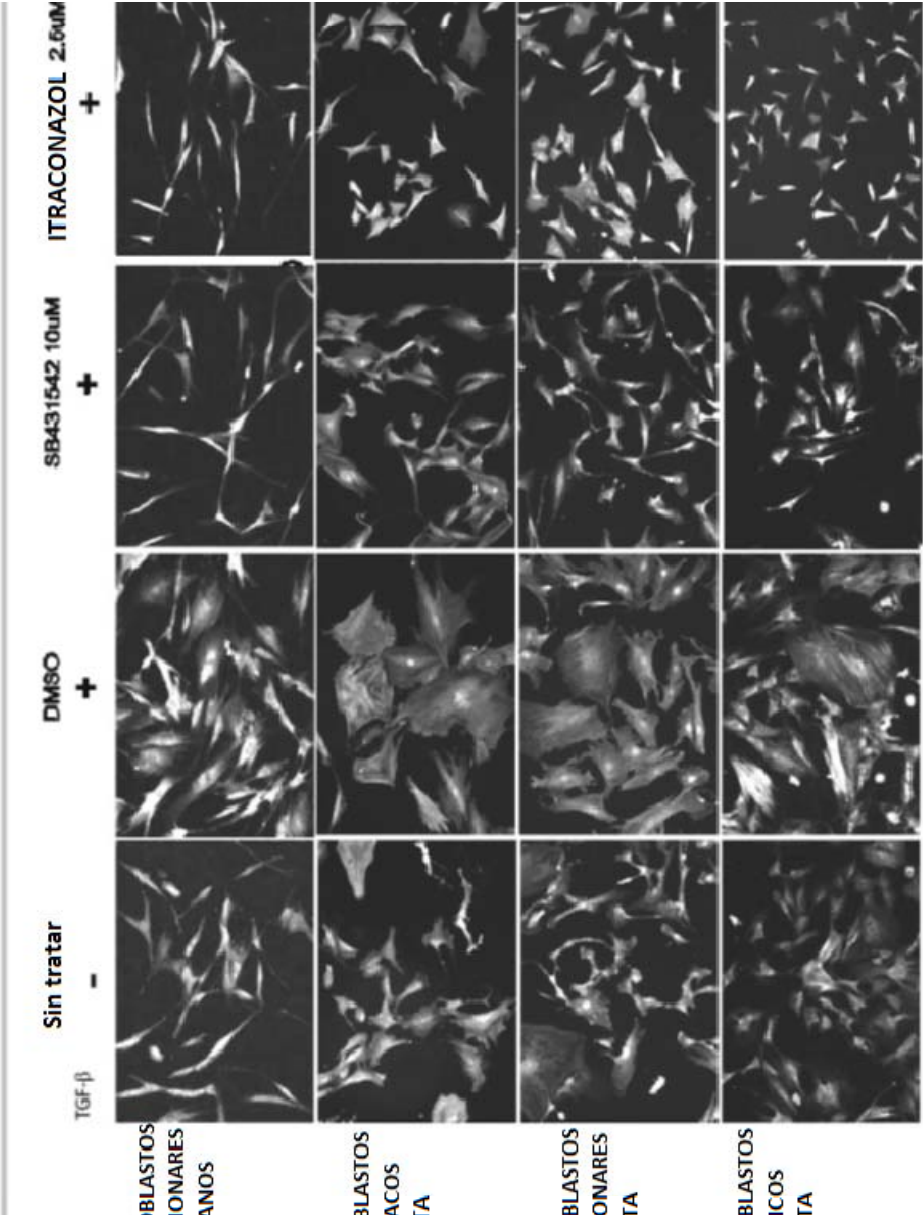


Figura 3

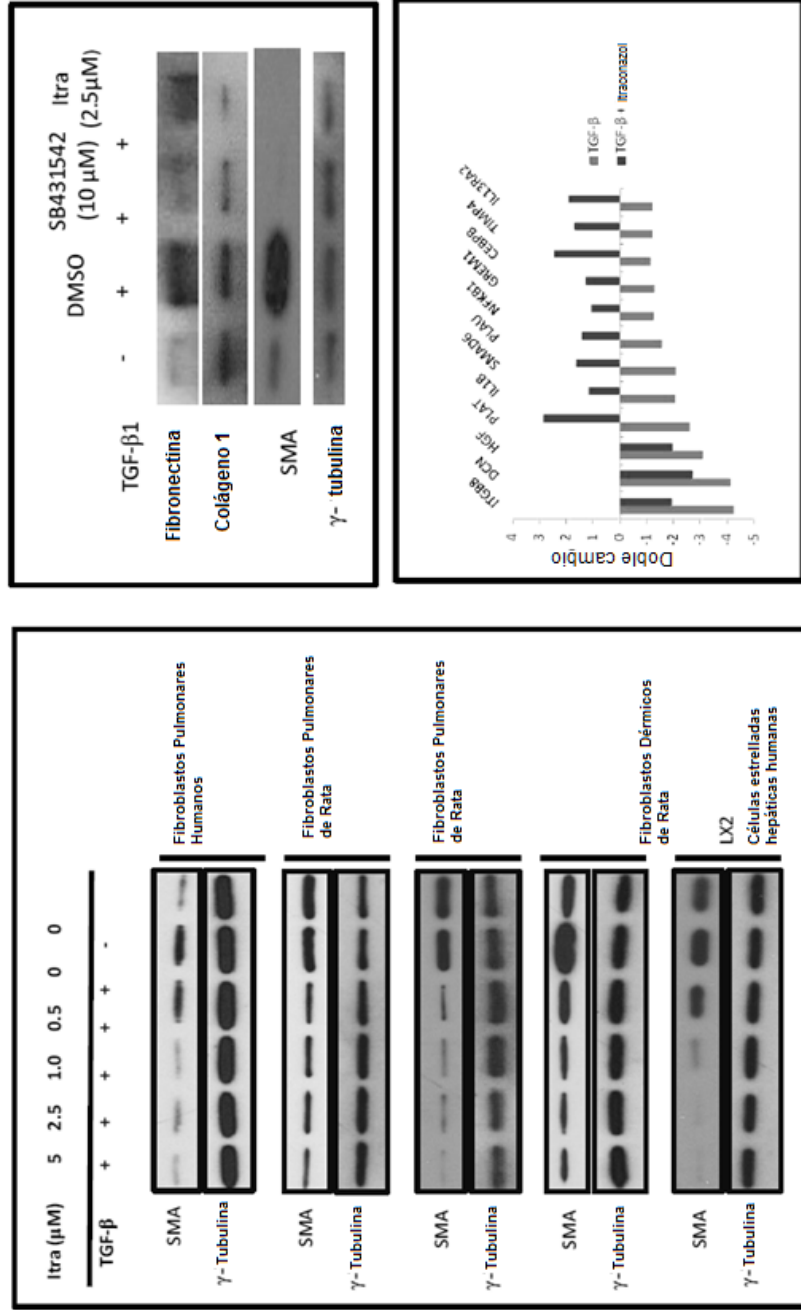


Figura 4a

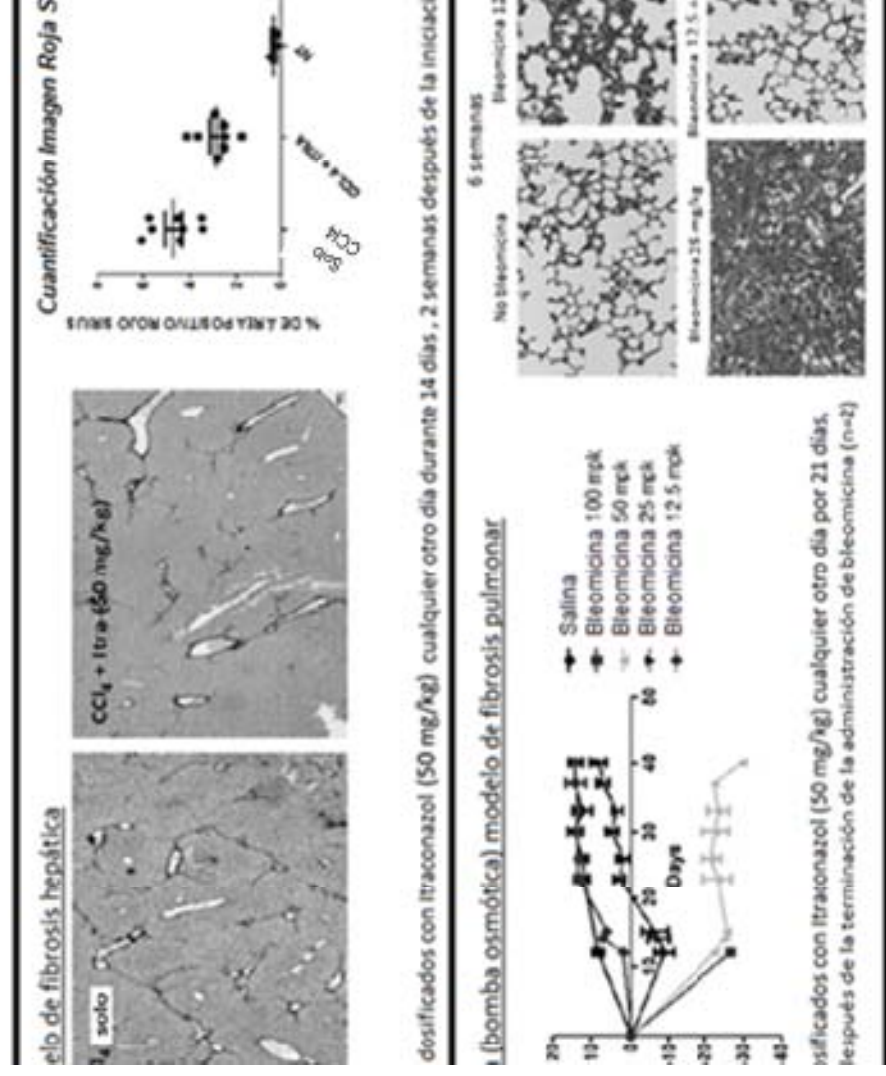


Figura 4b

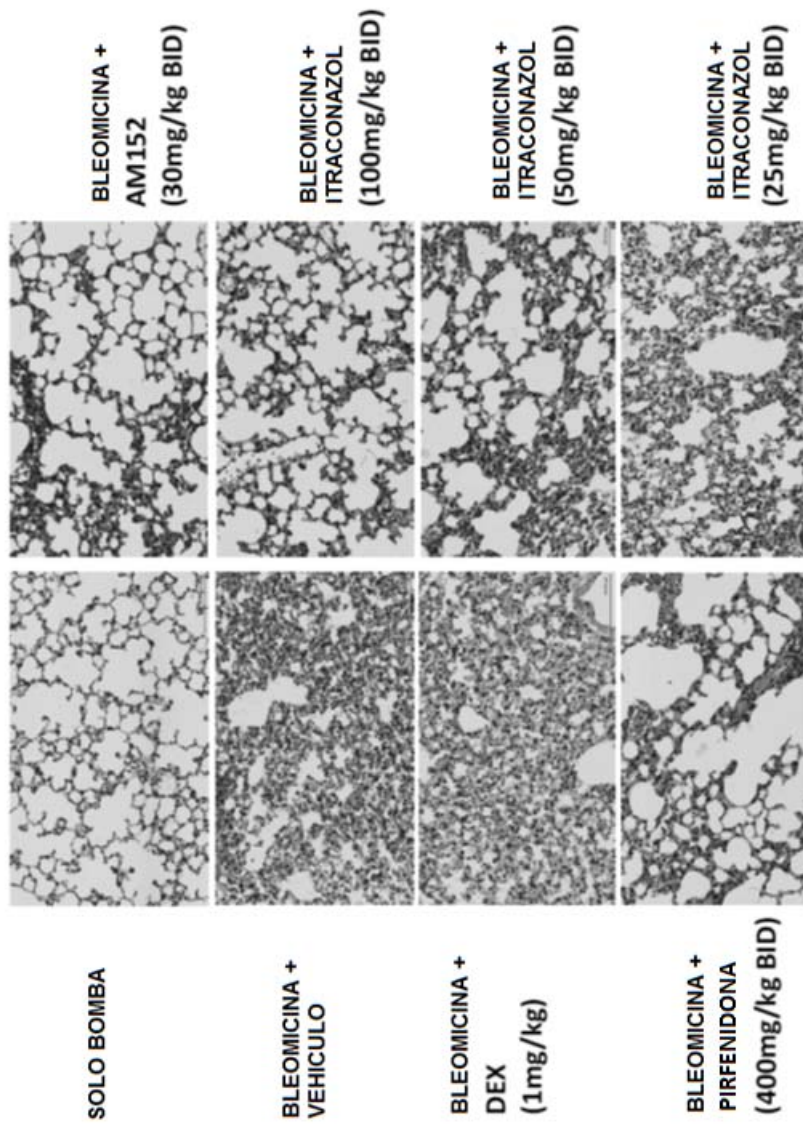


Figura 4c

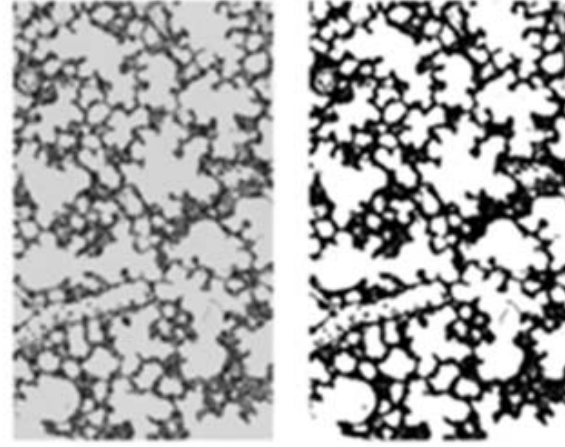
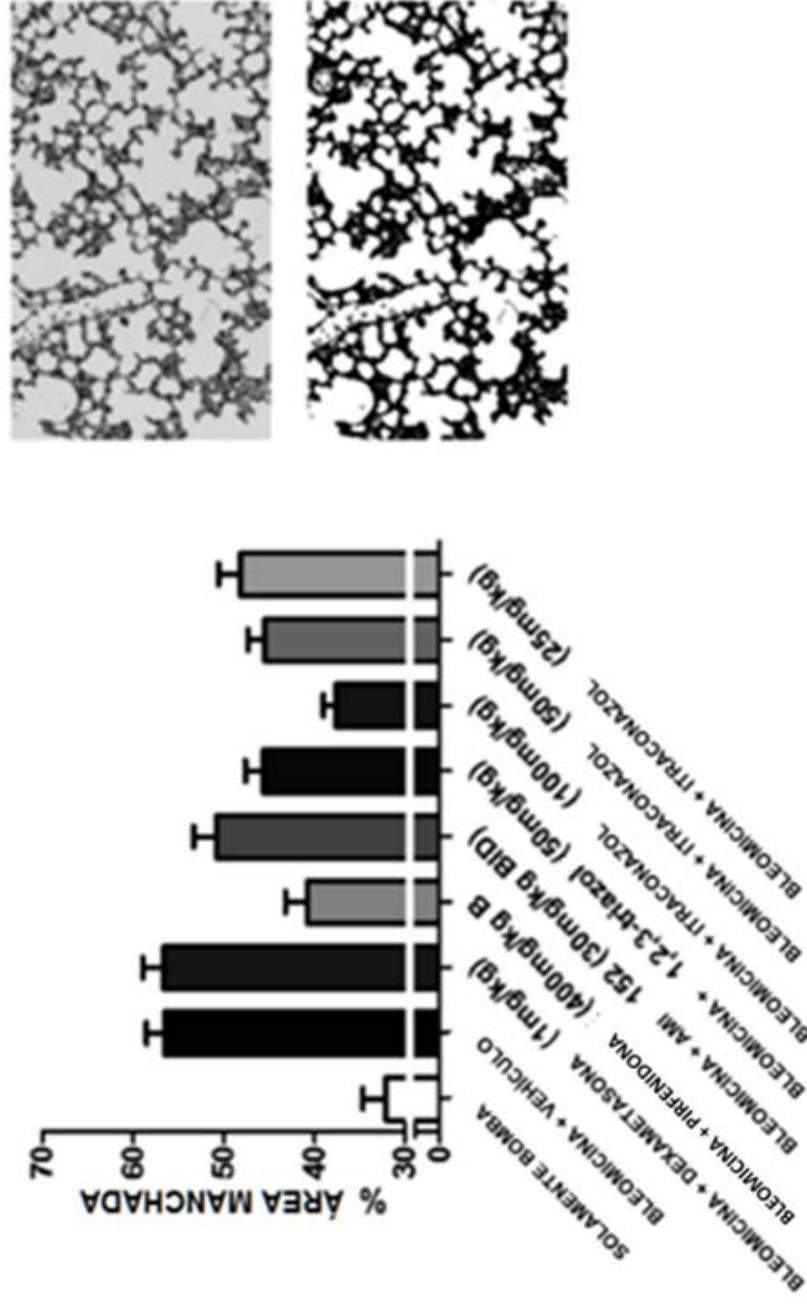


Figura 5

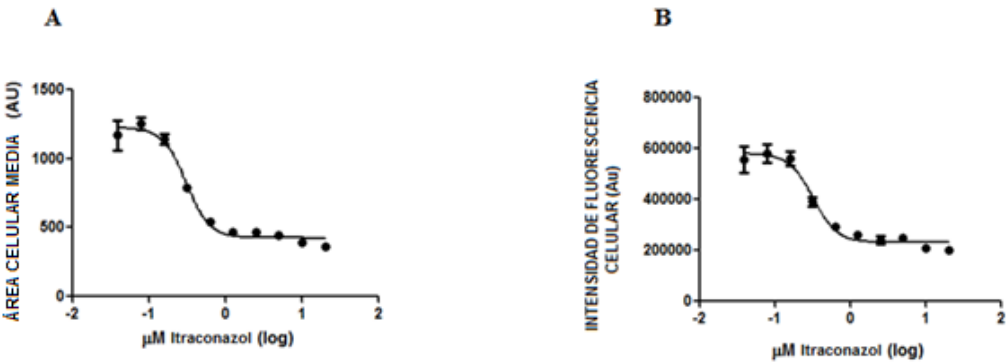


Figura 6

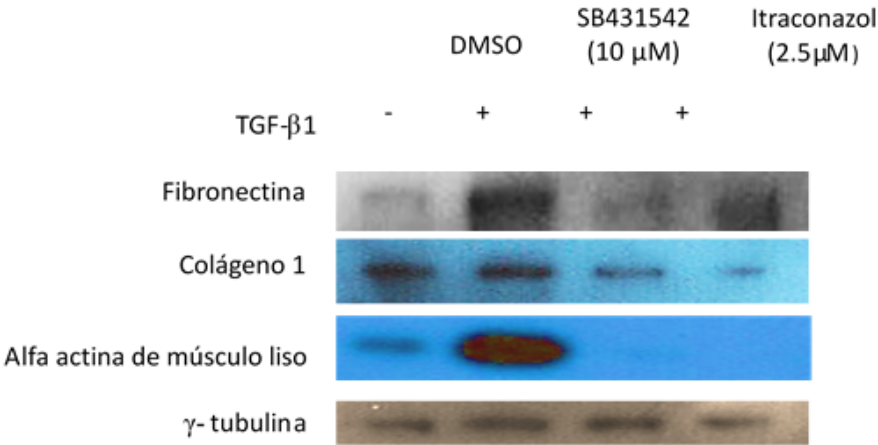
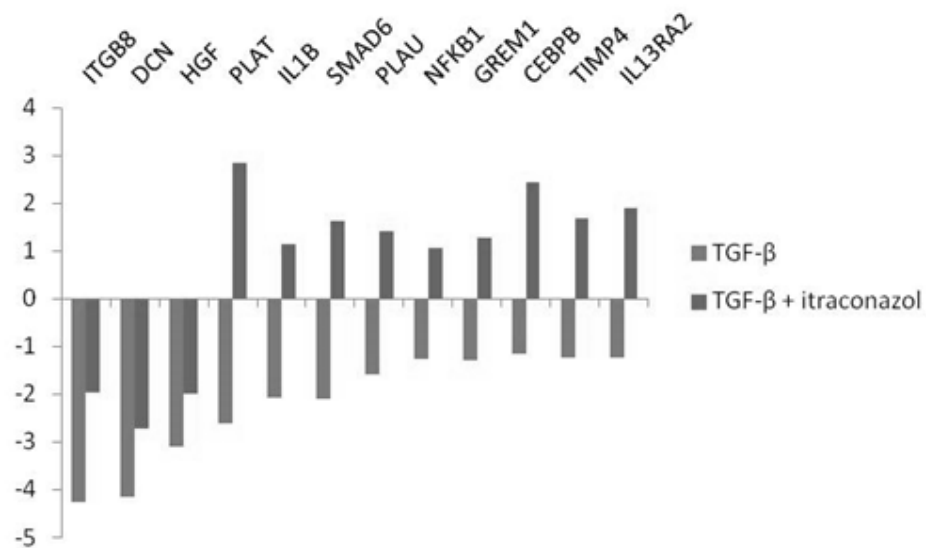


Figura 7

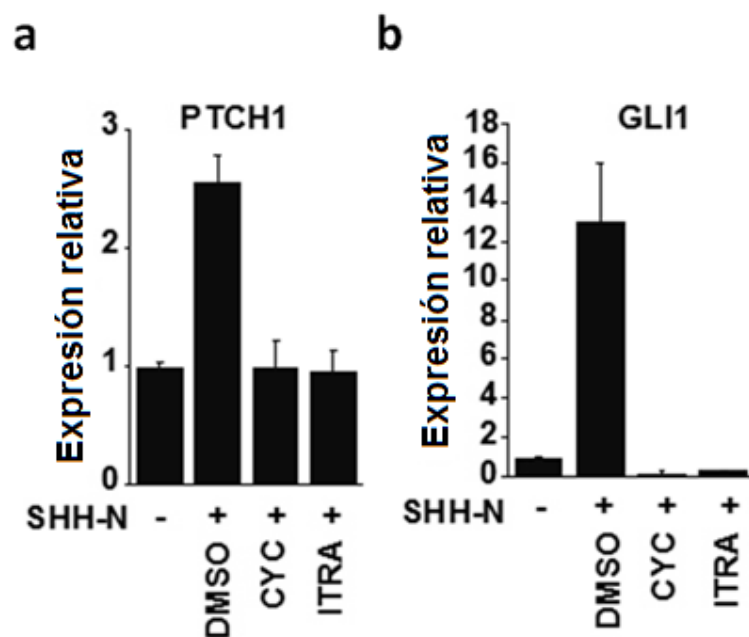
a



b

	TGF-β	TGF-β + CBR-034-1
ITGB8	-4.26	-1.96
DCN	-4.14	-2.72
HGF	-3.09	-2.00
PLAT	-2.61	2.84
IL1B	-2.06	1.15
SMAD6	-2.11	1.61
PLAU	-1.58	1.41
NFKB1	-1.26	1.05
GREM1	-1.28	1.28
CEBPB	-1.16	2.44
TIMP4	-1.25	1.67
IL13RA2	-1.25	1.90

Figura 8



c

PTCH1 expresión génica				
Hh Estímulo de inducción	Inhibidor	RQL promedio	Desviación estándar	N
Sin tratar	Sin tratar	1.00	0.03	3
Shh-N (1mg/mL)	DMSO	2.55	0.24	3
Shh-N (1mg/mL)	5µM Cyclopamine	1.00	0.22	3
Shh-N (1mg/mL)	1µM Itraconazol	0.96	0.18	3

GLI1 expresión génica				
Hh Estímulo de inducción	Inhibidor	RQL promedio	Desviación estándar	N
Sin tratar	Sin tratar	1.00	0.04	3
Shh-N (1mg/mL)	DMSO	13.00	2.92	3
Shh-N (1mg/mL)	5µM Ciclopamina	0.21	0.15	3
Shh-N (1mg/mL)	1µM Itraconazol	0.32	0.02	3

Figura 9

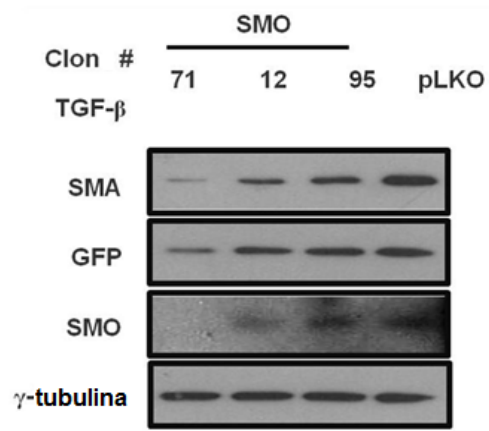


Figura 10

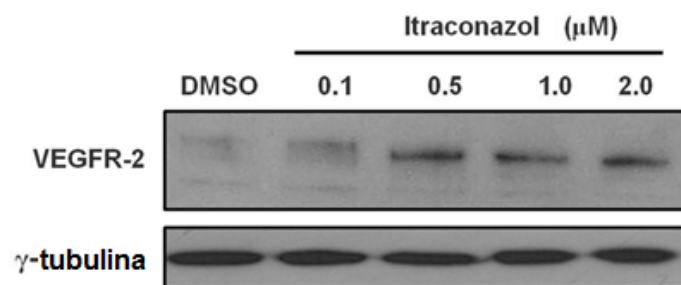


Figura 11

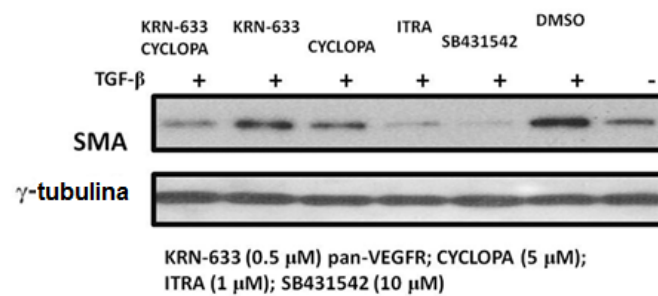
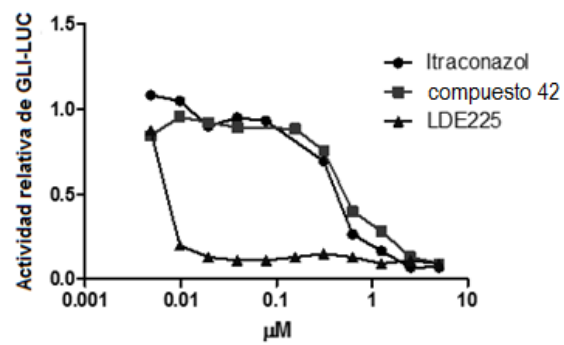


Figura 12

a



b

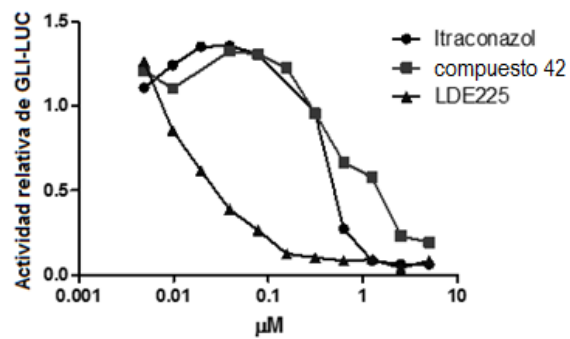


Figura 13

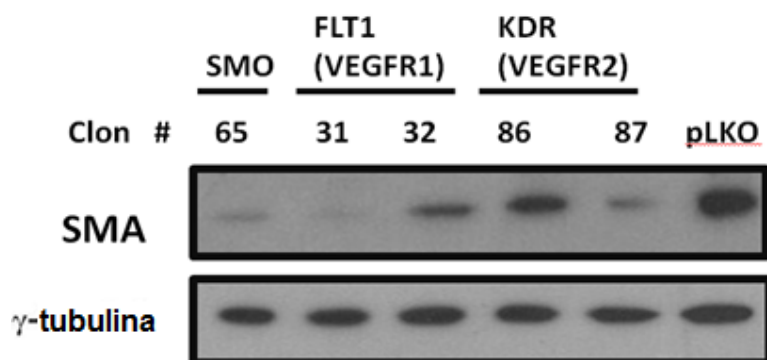


Figura 14

Grupos experimentales:

- A- Implantación vehículo
- B-25 mg/kg Bleomicina + Vehículo 1 (45% beta-ciclodextrina) SID
- C-25 mg/kg Bleomicina + Vehículo 2 (0.5% MC/0.5% Tween-80) BID
- D-25 mg/kg Bleomicina + Itra 5 mg/kg SID
- E-25 mg/kg Bleomicina + Itra 10 mg/kg SID
- F-25 mg/kg Bleomicina + Itra 25 mg/kg SID
- G-25 mg/kg Bleomicina + Itra 50 mg/kg SID
- H-25 mg/kg Bleomicina + Cmpd #42 @ 5 mg/kg SID
- I-25 mg/kg Bleomicina + Cmpd #42 @ 10 mg/kg SID
- J-25 mg/kg Bleomicina + Cmpd #42 @ 25 mg/kg SID
- K-25 mg/kg Bleomicina + Cmpd #42 @ 50 mg/kg SID
- L-25 mg/kg Bleomicina + Pirfenidona 400 mg/kg BID
- M-25 mg/kg Bleomicina + AML 152 30 mg/kg BID

Diseño experimental:

- 104 Ratones macho B6 de 9 semanas de edad (Taconic Farms); n=8/grupo
- 2 días antes: pesaje y alojamiento individual Ratones B6 macho, 104 total, 8 por grupo
- Día 1- Pesaje, llenar con 25 ml/kg bleo en 200 ul 7 día bomba Alzet Osmotic; iniciar las bombas llenas
- Día 1-2: implantar bombas quirúrgicamente, 8 ratones con solución salina, 96 ratones con bleo.
- Día 1-10: Monitoreo postquirúrgico/pesaje ratón 3 veces por semana
- Día 17-31: Tratamiento con fármaco
- Día 30: Sangría a 1, 4, 8, 24 horas después de la segunda dosificación final.
- Día 31: Someter animales a eutanasia y recolectar múltiples órganos. La mitad de los pulmones fue fijada para estudios de histología, la mitad de los pulmones fue recolectada en N2 líquido y almacenada a -80 para estudios bioquímicos. Un trozo de piel será fijado para estudio histológico y otro trozo de piel será recolectado en N2 líquido y almacenado a -80 para estudios bioquímicos.

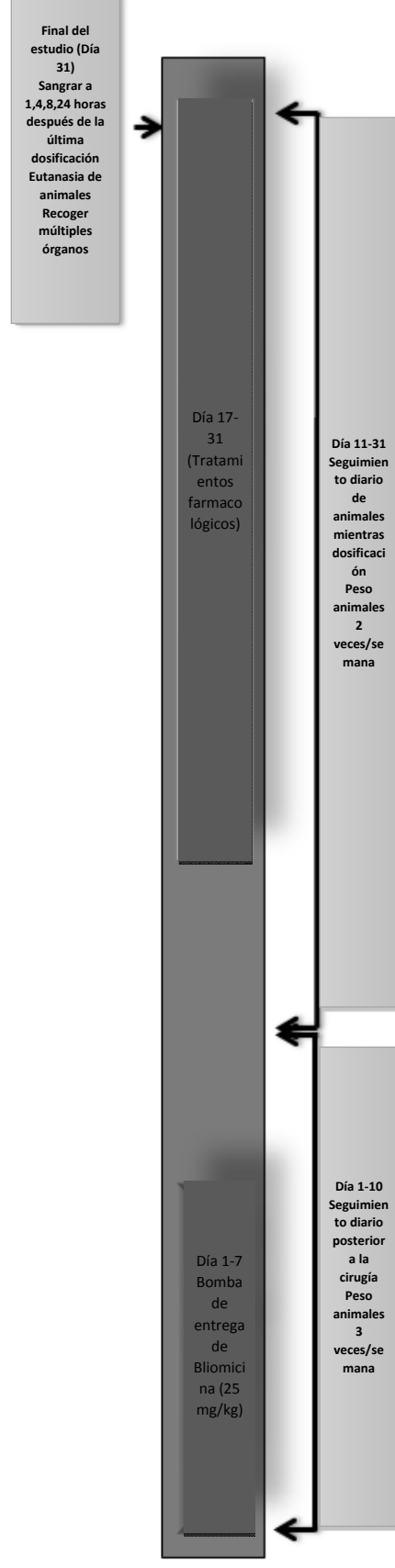


Figura 15

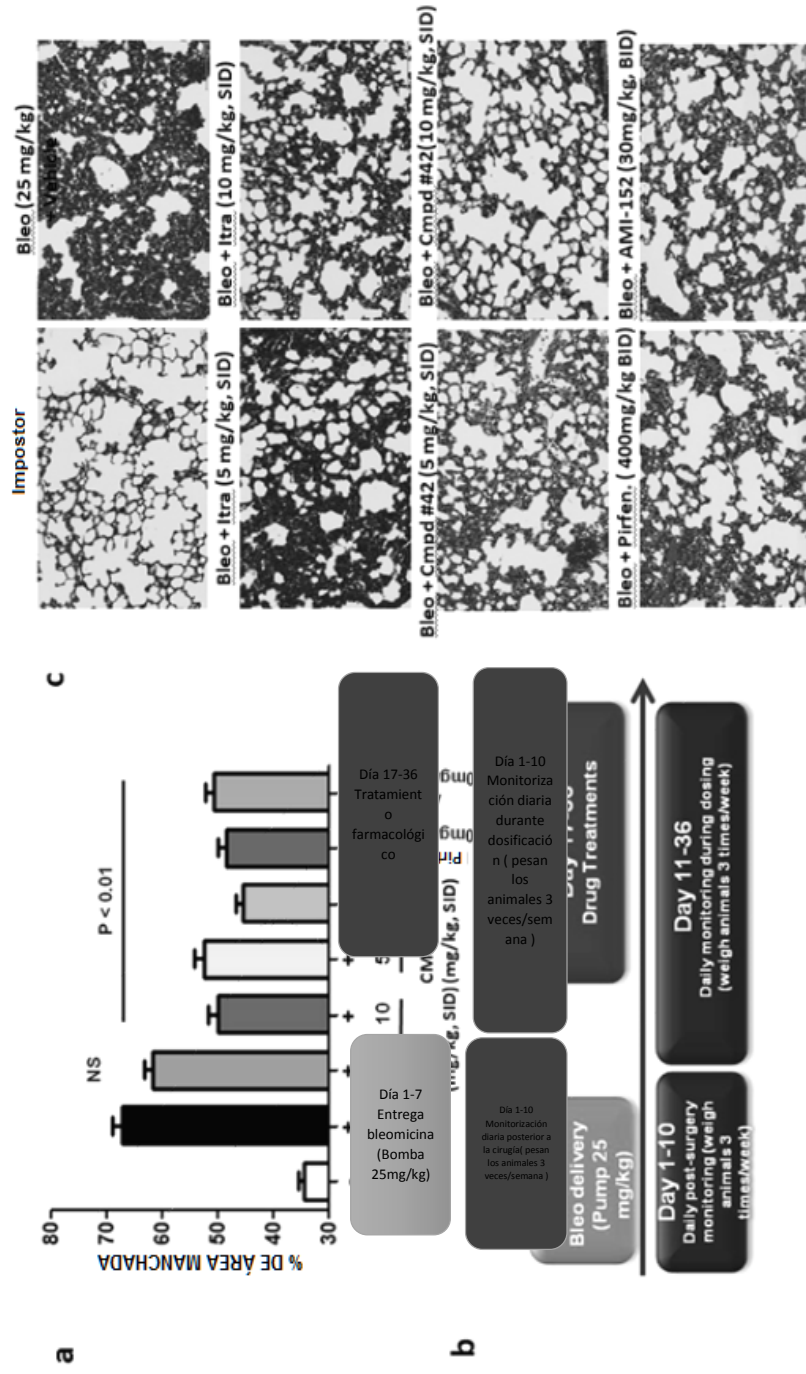


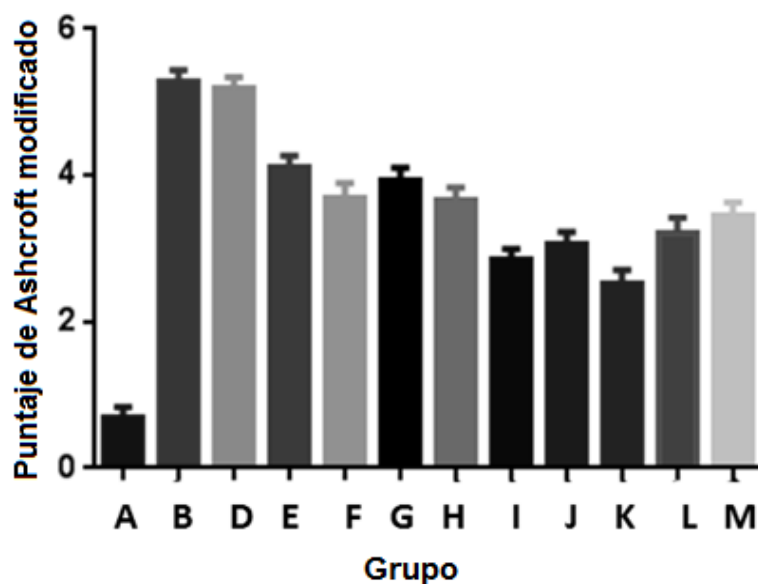
Figura 16

Caracterización de la Escala de Aschcroft Modificada	
Grado de fibrosis	Escala de Aschcroft Modificada
0	Séptums alveolares: No hay carga fibrótica en las fibras pequeñas más endebles en algunas paredes alveolares Estructura pulmonar: Pulmón normal
1	Séptums alveolares: Cambios fibróticos suaves aislados (séptum $\leq$ 3x más grueso del normal) Estructura pulmonar: alvéolos parcialmente agrandados y rarificados, pero sin masas fibróticas presentes
2	Séptums alveolares: Cambios claramente fibróticos (séptum $>$ 3x espesor que el normal) y conformación similar a nódulos pero no conectados uno con otro Estructura pulmonar: Alvéolos parcialmente agrandados y rarificados, pero sin masas fibróticas
3	Séptums alveolares: Paredes fibróticas contiguas (séptum $>$ 3x espesor que el normal) predominantemente en el campo microscópico completo Estructura pulmonar: Alvéolos parcialmente agrandados y rarificados, pero sin masas fibróticas
4	Séptums alveolares: Variable Estructura pulmonar: Masas fibróticas individuales ($\leq$ 10% del campo microscópico)
5	Séptums alveolares: Variables, Estructura pulmonar: Masas fibróticas confluentes ($>$ 10% y $\leq$ 50% del campo microscópico). Estructura pulmonar severamente dañada pero aún conservada
6	Séptums alveolares: Variables, mayormente no existentes Estructura pulmonar: Masas fibróticas contiguas grandes ($>$ 50% del campo microscópico). Arquitectura pulmonar mayormente no conservada
7	Séptums alveolares: No existentes Estructura pulmonar: Alvéolos casi destruidos con masas fibrosas pero todavía hasta cinco burbujas de aire
8	Séptums alveolares: No existentes Estructura pulmonar: Campo microscópico con destrucción completa con masas fibróticas

Figura 17 a

a

Tanteo de histología



A- Implantación vehículo

B- 25 mg/kg Bleomicina + Vehículo 1 (45% beta-ciclodextrina) SID

D- 25 mg/kg Bleomicina + Itraconazol 5 mg/kg SID

E- 25 mg/kg Bleomicina + Itraconazol 10 mg/kg SID

F- 25 mg/kg Bleomicina + Itraconazol 25 mg/kg SID

G- 25 mg/kg Bleomicina + Itraconazol 50 mg/kg SID

H- 25 mg/kg Bleomicina + Cmpd #42 @ 5 mg/kg SID

I- 25 mg/kg Bleomicina + Cmpd #42 @ 10 mg/kg SID

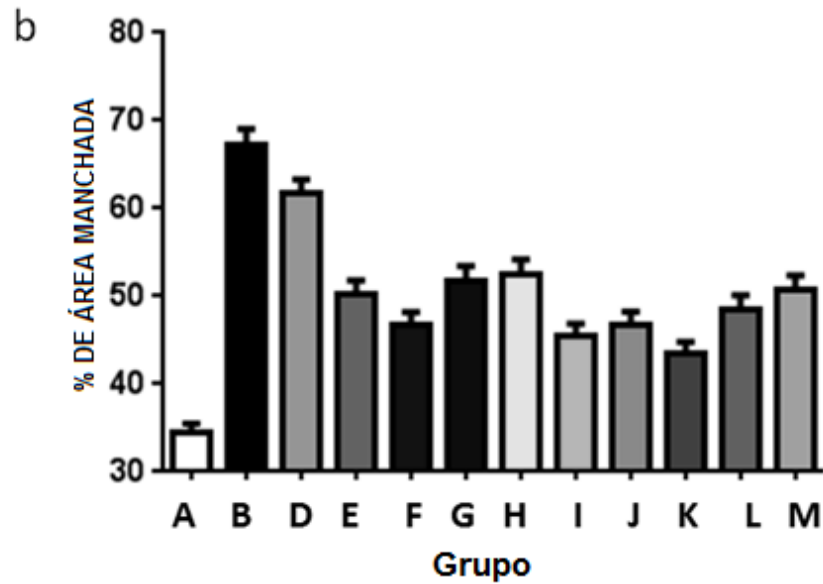
J- 25 mg/kg Bleomicina + Cmpd #42 @ 25 mg/kg SID

K- 25 mg/kg Bleomicina + Cmpd #42 @ 50 mg/kg SID

L- 25 mg/kg Bleomicina + Pirfenidona 400 mg/kg BID

M- 25 mg/kg Bleomicina + AMI 152 30 mg/kg BID

Figura 17 b



A- Implantación vehículo

B- 25 mg/kg Bleomicina + Vehículo 1 (45% beta-ciclodextrina) SID

D- 25 mg/kg Bleomicina + Itraconazol 5 mg/kg SID

E- 25 mg/kg Bleomicina + Itraconazol 10 mg/kg SID

F- 25 mg/kg Bleomicina + Itraconazol 25 mg/kg SID

G- 25 mg/kg Bleomicina + Itraconazol 50 mg/kg SID

H- 25 mg/kg Bleomicina + #42 @ 5 mg/kg SID

I- 25 mg/kg Bleomicina + Cmpd #42 @ 10 mg/kg SID

J- 25 mg/kg Bleomicina + Cmpd #42 @ 25 mg/kg SID

K- 25 mg/kg Bleomicina + Cmd #42 @ 50 mg/kg SID

L- 25 mg/kg Bleomicina + Pirfenidona 400 mg/kg BID

M- 25 mg/kg Bleomicina + AMI 152 30 mg/kg BID

Figura 18

Grupos experimentales:

- A-0.4 ml/kg CCl4 + sin tratamiento, n=8
- B-0.4 ml/kg CCl4 + Itraconazol , 10 mg/kg, SID, n=8
- C-0.4 ml/kg CCl4 + Itraconazol , 20 mg/kg, SID, n=8
- D-0.4 ml/kg CCl4 + Itraconazol , 50 mg/kg, SID, n=8

Diseño experimental.:

- 32 Ratones macho B6 de 9 semanas de edad (Taconic Farms); n=8/grupo
- 2 días antes: pesaje y distribución Ratones B6 macho, 320total, 8 por grupo
- Día 1-35: 0.04 ml/kg CCl4 diluido en aceite de oliva solo se administrarán i.p. a 5 ml/kg dos veces por semana durante 5 semanas
 - Día 15-35: Tratamiento con fármaco
 - Día 36: Someter animales a eutanasia y recolectar hígados. La mitad de los hígados fue fijada para estudios de histología, otra mitad fue recolectada en N2 líquido y almacenada a -80 para estudios bioquímicos.

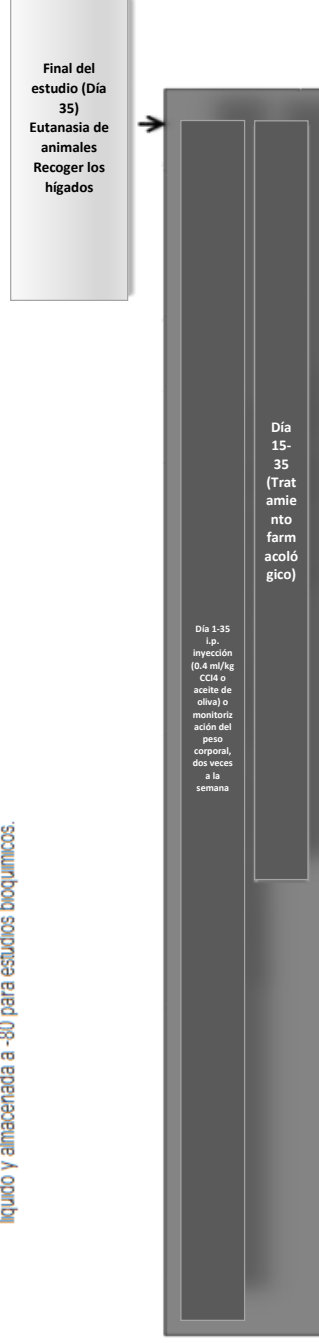


Figura 19

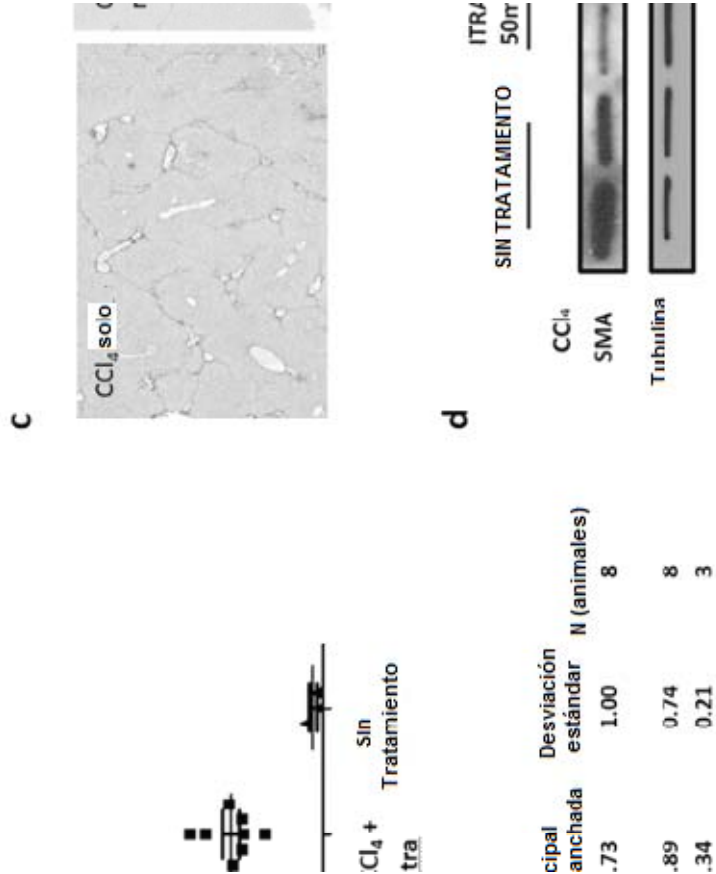


Figura 20

Grupos experimentales:

- **A.** Vehículo (40% beta-ocodextrina), SID, n=6
- **B.** Itraconazol 25 mg/kg, SID, n=6
- **C.** Cmpd #42 @ 25 mg/kg, SID, n=6

Diseño experimental:

- 5 días antes, los ratones fueron anestesiados y se retiró el pelaje de la piel del lomo usando Nair
- Día 1: Pesaje Se hará una punción estéril para biopsia (5 mm diámetro) a través del espesor completo de la piel del lomo plegada (orificios de 2x5 mm día en total)
- El tamaño de las heridas será medido diariamente usando calibradores
- El peso corporal se monitorizará dos veces por semana
- Día 1 final Tratamiento con fármaco usando volumen de dosificación de 5 ml/kg
- Día 7 PK sangría a todos los animales 1 hora después de la dosificación de ese día. Se someten a eutanasia 2 animales de cada grupo y se recolectan las heridas.
- Día 11 PK sangría a todos los animales 1 hora después de la dosificación de ese día. Se someten a eutanasia 2 animales de cada grupo y se recolectan las heridas.
- Día 14 PK sangría a todos los animales 1 hora después de la dosificación de ese día. Se someten a eutanasia 2 animales de cada grupo y se recolectan las heridas.
- Cuando se recolectan las heridas, se recortan las heridas incluyendo unos pocos mm de la piel circundante. Para cada animal, se recolectarán dos trozos de herida y se fijarán para análisis histológico

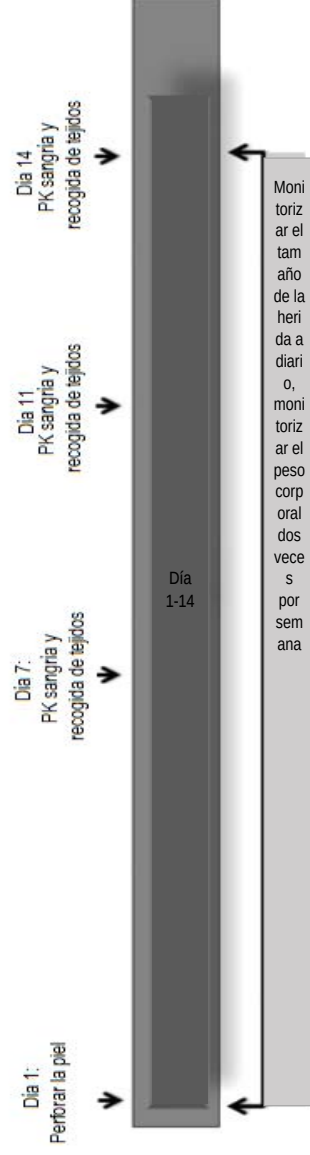


Figura 21

