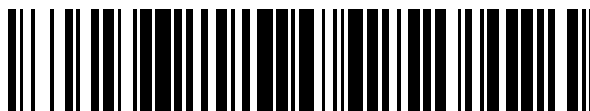


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 477 884**

51 Int. Cl.:

<b>C07C 259/06</b>	(2006.01) <b>A61P 11/00</b>	(2006.01)
<b>C07C 271/64</b>	(2006.01) <b>A61P 19/02</b>	(2006.01)
<b>C07C 275/50</b>	(2006.01) <b>A61K 31/16</b>	(2006.01)
<b>C07C 235/06</b>	(2006.01) <b>C07C 235/08</b>	(2006.01)
<b>C07C 235/10</b>	(2006.01) <b>C07C 235/12</b>	(2006.01)
<b>C07D 263/20</b>	(2006.01)	
<b>C07D 207/16</b>	(2006.01)	
<b>C07D 285/12</b>	(2006.01)	
<b>C07D 295/18</b>	(2006.01)	
<b>A61P 17/06</b>	(2006.01)	

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.08.2009 E 09791679 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.04.2014 EP 2334378**

54 Título: **Profármacos de hidrogenofumarato de metilo, composiciones farmacéuticas de los mismos y procedimientos de uso**

30 Prioridad:

**19.08.2008 US 90163 P**

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

**18.07.2014**

73 Titular/es:

**XENOPORT, INC. (100.0%)  
3410 Central Expressway  
Santa Clara, CA 95051, US**

72 Inventor/es:

**GANGAKHEDKAR, ARCHANA;  
DAI, XUEDONG;  
ZERANGUE, NOA y  
VIRSIK, PETER A.**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 477 884 T3**

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

## DESCRIPCIÓN

Profármacos de hidrogenofumarato de metilo, composiciones farmacéuticas de los mismos y procedimientos de uso

5 **Campo**

En el presente documento se desvelan profármacos de hidrogenofumarato de metilo, composiciones farmacéuticas que comprenden profármacos de hidrogenofumarato de metilo, y procedimientos de uso de los profármacos de hidrogenofumarato de metilo y composiciones farmacéuticas de los mismos para tratar enfermedades tales como psoriasis, asma, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria del intestino y artritis.

**Antecedentes**

Los ésteres de ácido fumárico (EAF) están autorizados en Alemania para el tratamiento de psoriasis, están siendo evaluados en los Estados Unidos para el tratamiento de psoriasis y esclerosis múltiple, y se han propuesto para su uso en el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades y afecciones inmunológicas, autoinmunitarias e inflamatorias.

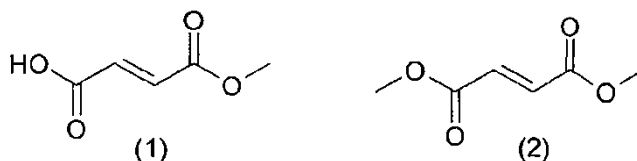
Los EAF y otros derivados del ácido fumárico se han propuesto para su uso en el tratamiento de una amplia variedad de enfermedades y afecciones que implican procesos inmunológicos, autoinmunitarios y/o inflamatorios que incluyen psoriasis (Joshi y Strelbel, documentos WO 1999/49858; US 6.277.882; Mrowietz y Asadullah, Trends Mol Med 2005, 111(1), 43-48; y Yazdi y Mrowietz, Clinics Dermatology 2008, 26, 522-526); asma y enfermedades pulmonares obstructivas crónicas (Joshi y col., documentos WO 2005/023241 y US 2007/0027076); insuficiencia cardíaca que incluye insuficiencia ventricular izquierda, infarto de miocardio y angina de pecho (Joshi y col., documento WO 2005/023241; Joshi y col., documento US 2007/0027076); enfermedades mitocondriales y neurodegenerativas tales como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, retinopatía pigmentosa y encefalomiopatía mitocondrial (Joshi y Strelbel, documentos WO 2002/055063, US 2006/0205659, US 6.509.376, US 6.858.750 y US 7.157.423); trasplante (Joshi y Strelbel, documentos WO 2002/055063, US 2006/0205659, US 6.359.003, US 6.509.376 y US 7.157.423; y Lehmann y col., Arch Dermatol Res 2002, 294, 399-404); enfermedades autoinmunitarias (Joshi y Strelbel, documentos WO 2002/055063, US 6.509.376, US 7.157.423 y US 2006/0205659) que incluyen esclerosis múltiple (EM) (Joshi y Strelbel, documentos WO 1998/52549 y US 6.436.992; Went y Lieberburg, documento US 2008/0089896; Schimrigk y col., Eur J Neurology 2006, 13, 604-610; y Schilling y col., Clin Experimental Immunology 2006, 145, 101-107); lesión por isquemia y reperfusión (Joshi y col., documento US 2007/0027076); daño del genoma inducido por AGE (Heidland, documento WO 2005/027899); enfermedades inflamatorias del intestino tales como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa; artritis; y otras (Nilsson y col., documento WO 2006/037342 y Nilsson y Muller, documento WO 2007/042034).

Se cree que el mecanismo de acción de los ésteres de ácido fumárico está mediado por rutas asociadas a la respuesta inmunológica. Por ejemplo, los EAF provocan un desplazamiento de una respuesta inmunitaria Th1 a Th2, alterando favorablemente el perfil de citocinas; inhiben la expresión de moléculas de adhesión inducida por citocinas tales como VCAM-1, ICAM-1 y E-selectina, reduciendo así la extravasación de células inmunitarias; y reducción de linfocitos mediante mecanismos apoptóticos (Lehmann y col., J Investigative Dermatology 2007, 127, 835-845; Gesser y col., J Investigative Dermatology 2007, 127, 2129-2137; Vandermeeren y col., Biochim Biophys Res Commun 1997, 234, 19-23; y Treumer y col., J Invest Dermatol 2003, 121, 1383-1388).

Estudios recientes sugieren que los EAF son inhibidores de la activación de NF- $\kappa$ B, un factor de transcripción que regula la expresión inducible de mediadores proinflamatorios (D'Acquisto y col., Molecular Interventions 2002, 2(1), 22-35). Por consiguiente, los EAF se han propuesto para su uso en el tratamiento de enfermedades mediadas por NF- $\kappa$ B (Joshi y col., documento WO 2002/055066; y Joshi y Strelbel, documentos WO 2002/055063, US 2006/0205659, US 7.157.423 y US 6.509.376). También se ha mostrado que los inhibidores de la activación de NF- $\kappa$ B son útiles en terapia angiostática (Tabruyn y Griffioen, Angiogenesis 2008, 11, 101-106), enfermedad inflamatoria del intestino (Atreya et J Intern Med 2008, 263(6), 591-6); y en modelos animales de enfermedades que implican inflamación que incluyen alveolitis neutrofílica, asma, hepatitis, enfermedad inflamatoria del intestino, neurodegeneración, isquemia/reperfusión, choque séptico, glomerulonefritis y artritis reumatoide (D'Acquisto y col., Molecular Interventions 2002, 2(1), 22-35).

Los estudios también sugieren que la inhibición de NF- $\kappa$ B por EAF puede medirse por la interacción con la señalización del factor de necrosis tumoral (TNF). El fumarato de dimetilo inhibe el ARNm del factor de tejido inducido por TNF y la expresión de proteínas y la unión de ADN inducida por TNF de proteínas NF- $\kappa$ B, e inhibe la entrada nuclear inducida por TNF de proteínas NF- $\kappa$ B activadas inhibiendo así la activación de genes inflamatorios (Loewe et J Immunology 2002, 168, 4781-4787). Las rutas de señalización de TNF participan en la patogénesis de enfermedades inflamatorias inmunomediadas tales como artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, psoriasis, artritis psoriásica, artritis idiopática juvenil y espondilitis anquilosante (Tracey y col., Pharmacology & Therapeutics 2008, 117, 244-279).

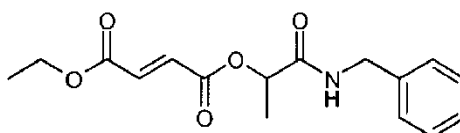
Fumaderm®, un comprimido recubierto entérico que contiene una mezcla de sales de fumarato de monoetilo y fumarato de dimetilo (DMF) (2) que se hidroliza rápidamente a fumarato de monometilo (MHF) (1), considerado el principal metabolito bioactivo, fue autorizado en Alemania en 1994 para el tratamiento de psoriasis.



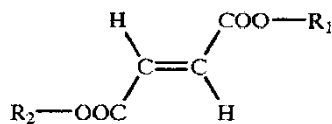
10 Fumaderm® se dosifica TID con 1-2 gramos/día administrado para el tratamiento de psoriasis. Fumaderm® presenta un alto grado de variabilidad interindividual con respecto a la absorción de fármacos y los alimentos reducen fuertemente la biodisponibilidad. Se cree que la absorción se produce en el intestino delgado con niveles pico alcanzados 5-6 horas después de la administración por vía oral. Se producen efectos secundarios significativos en el 70-90 % de los pacientes (Brewer y Rogers, Clin Expt'l Dermatology 2007, 32, 246-49; y Hoefnagel y col., Br J Dermatology 2003, 149, 363-369). Los efectos secundarios de la actual terapia con EAF incluyen malestar gastrointestinal que incluye náuseas, vómitos y diarrea; rubor transitorio de la piel. Por tanto, el DMF presenta poca solubilidad acuosa.

15 Los derivados del ácido fumárico (Joshi y Strebel, documentos WO 2002/055063, US 2006/0205659 y US 7.157.423 (compuestos de amida y conjugados de proteína-fumarato); Joshi y el documento WO 2002/055066 y Joshi y Strebel, documento US 6.355.676 (ésteres de mono y dialquilo); Joshi y Strebel, documento WO 2003/087174 (compuestos carbocíclicos y oxacarbo-cíclicos); Joshi y el documento WO 2006/122652 (tiosuccinatos); Joshi y col., US 2008/0233185 (ésteres de dialquilo y diarilo) y sales (Nilsson y el documento US 2008/0004344) se han desarrollado en un esfuerzo por vencer las deficiencias de la actual terapia con EAF. Las composiciones farmacéuticas de liberación controlada que comprenden ésteres de ácido fumárico se desvelan por Nilsson y Müller, documento WO 2007/042034. Los profármacos de ésteres de glicolamida se describen por Nielsen y Bundgaard, JPharm Sci 1988, 77(4), 285-298.

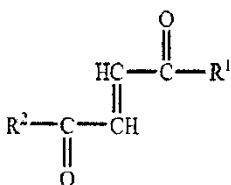
25 Kamimura y 2002, Tetrahedron, vol. 58, pág. 8763-8770 describen la formación estereoselectiva de ciertas 2-oxi-1,3-oxazolidin-4-onas ópticamente activas de O-acilmandelamidas o lactamidas quirales. El compuesto 2G (entrada 7 en la Tabla 1 en la página 8764 del mismo) parece tener la siguiente estructura:



35 El documento US 6.509.376 B1 (Joshi et 21 de enero de 2003) y el documento US2007/0248663 A1 (Joshi et 25 de octubre de 2007) describen ciertos fumaratos de dialquilo de la siguiente fórmula (en la que R<sub>1</sub> y R<sub>2</sub> pueden ser iguales o diferentes, y representan independientemente un radical alquilo C<sub>1-20</sub> lineal, ramificado o cíclico, saturado o insaturado, que puede estar opcionalmente sustituido con halógeno (Cl, F, I, Br), hidroxilo, alcoxi C<sub>1-4</sub>, nitro o ciano) y su uso en el tratamiento de ciertas enfermedades, que incluyen esclerosis múltiple y psoriasis.

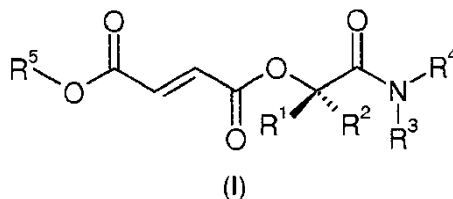


40 El documento US2006/0205659 A1 (Joshi et 14 de septiembre de 2006) describe ciertas amidas de aminoácidos de ácido fumárico de la siguiente fórmula (en la que R<sup>1</sup> representa OR<sup>3</sup> o un radical de D- o L-aminoácido -NH-CHR<sup>4</sup>-COOH unido mediante un enlace amida, en la que R<sup>3</sup> es hidrógeno, una cadena lineal o ramificada, radical alquilo C<sub>1-24</sub> opcionalmente sustituido, preferentemente un radical alquilo C<sub>1-4</sub>, un radical fenilo o radical aralquilo C<sub>6-10</sub> y R<sup>4</sup> es una cadena lateral de un aminoácido natural o sintético y R<sup>2</sup> representa un radical de D- o L-aminoácido -NH-CHR<sup>5</sup>-COOH unido mediante un enlace amida o un radical de péptido que comprende 2 a 100, preferentemente 2 a 30, aminoácidos unidos mediante un enlace amida, en la que R<sup>5</sup> es una cadena lateral de un aminoácido natural o sintético), y su uso en el tratamiento de ciertas enfermedades, que incluyen esclerosis múltiple y psoriasis.



**Resumen de la invención**

Un primer aspecto de la invención es un compuesto de fórmula (I):



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

10  $R^1$  y  $R^2$  se eligen independientemente de hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$  y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido;  
 $R^3$  y  $R^4$  se eligen independientemente de hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$ , alquilo  $C_{1-6}$  sustituido, heteroarilo  $C_{1-6}$ ,  
heteroarilo  $C_{1-6}$  sustituido, cicloalquil  $C_{4-12}$ -alquilo, cicloalquil  $C_{4-12}$ -alquilo sustituido, aril  $C_{7-12}$ -alquilo y aril  $C_{7-12}$ -  
alquilo sustituido;  
o  $R^3$  y  $R^4$  junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un heteroarilo  $C_{5-10}$ , heteroarilo  
15  $C_{5-10}$  sustituido, heterocicloalquilo  $C_{5-10}$  y heterocicloalquilo  $C_{5-10}$  sustituido; y  
 $R^5$  es metilo;  
en la que cada grupo sustituyente se elige independientemente de halógeno, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, =O, -NO<sub>2</sub>,  
bencilo, -C(O)NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup>, -C(O)R<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige independientemente  
de hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ .

20 En una realización, cada uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno.

En una realización, uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-  
butilo, isobutilo, *sec*-butilo y *terc*-butilo.

25 En una realización,  $R^3$  y  $R^4$  se eligen independientemente de hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ .

En una realización,  $R^3$  y  $R^4$  junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo de heterocicloalquilo  $C_{5-10}$ .

30 En una realización, en la que  $R^3$  y  $R^4$  junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de anillo de  
piperazina, 1,3-oxazolidinilo, pirrolidina y morfolina.

En una realización, uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ; y  $R^3$  y  $R^4$   
junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de morfolina, piperazina y piperazina *N*-sustituida.

35 En una realización, uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno; y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;  $R^3$  es  
hidrógeno; y  $R^4$  se elige de hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$  y bencilo.

En una realización, uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ; y cada uno  
40 de  $R^3$  y  $R^4$  es alquilo  $C_{1-6}$ .

En una realización, cada uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno; y cada uno de  $R^3$  y  $R^4$  es alquilo  $C_{1-6}$ .

45 En una realización, uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ ;  $R^3$  es  
hidrógeno; y  $R^4$  se elige de alquilo  $C_{1-4}$ , alquilo  $C_{1-4}$  sustituido, en la que el grupo sustituyente se elige de =O, -OR<sup>11</sup>,  
-COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ .

50 En una realización, uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  es metilo;  $R^3$  es hidrógeno; y  $R^4$  se elige de  
alquilo  $C_{1-4}$ , alquilo  $C_{1-4}$  sustituido, en la que el grupo sustituyente se elige de =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las  
que cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ .

55 En una realización, cada uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno;  $R^3$  es hidrógeno; y  $R^4$  se elige de alquilo  $C_{1-4}$ , alquilo  $C_{1-4}$   
sustituido, en la que el grupo sustituyente se elige de =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige  
independientemente de hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ .

En una realización, uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ; y  $R^3$  y  $R^4$   
60 junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un anillo de heterocicloalquilo  $C_{5-6}$ ,  
heterocicloalquilo  $C_{5-6}$  sustituido, heteroarilo  $C_{5-6}$  y heteroarilo  $C_{5-6}$  sustituido.

En una realización, uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  es metilo; y  $R^3$  y  $R^4$  junto con el nitrógeno al que  
están unidos forman un anillo elegido de un anillo de heterocicloalquilo  $C_{5-6}$ , heterocicloalquilo  $C_{5-6}$  sustituido,

heteroarilo C<sub>5-6</sub> y heteroarilo C<sub>5-6</sub> sustituido.

En una realización, cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un anillo de heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub> sustituido, heteroarilo C<sub>5-6</sub> y heteroarilo C<sub>5-6</sub> sustituido.

En una realización, uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se elige de hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>; y R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de morfolina, piperazina y piperazina *N*-sustituida.

En una realización, el compuesto se elige de:

metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (*N,N*-dietilcarbamoil)metilo;  
 [*N*-bencilcarbamoil]metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 2-morfolin-4-il-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (*N*-butilcarbamoil)metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [*N*-(2-metoxietil)carbamoil]metilo;  
 ácido 2-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acetilamino}acético;  
 ácido 4-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acetilamino}butanoico;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (*N,N*-dimetilcarbamoil)metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de bis-(2-metoxietilamino)carbamoil]metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [*N*-(metoxicarbonil)carbamoil]metilo;  
 2-oxo-2-piperaziniletal-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 2-oxo-2-(2-oxo(1,3-oxazolidin-3-il)etil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {*N*-[2-(dimetilamino)etil]carbamoil]metilo;  
 2-(4-metilpiperazinil)-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 {*N*-[(propilamino)carbonil]carbamoil}metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de 2-((4-acetilpiperazinil)-2-oxoetil);  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {*N,N*-bis[2-(metiletoxi)etil]carbamoil}metilo;  
 2-(4-bencilpiperazinil)-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [*N,N*-bis(2-etoxietil)carbamoil]metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de 2-(((2S)-2-[(terc-butil)oxicarbonil]pirrolidinil)-2-oxoetil);  
 ácido 1-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acetil}(2S)pirrolidin-2-carboxílico;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (*N*-{[(terc-butil)oxicarbonil]metil}-*N*-metilcarbamoil)metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {*N*-(etoxicarbonil)metil}-*N*-metilcarbamoil}metilo;  
 1-metil-2-morfolin-4-il-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [*N,N*-bis(2-metoxietil)carbamoil]metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (*N,N*-dimetilcarbamoil)etil;  
 ácido 2-{2-[(2E)-3-(metoxi carbonil)prop-2-enoiloxil]-*N*-metilacetilamino}acético;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (*N*-{[(terc-butil)oxicarbonil]metil}carbamoil)metilo;  
 (*N*-metil-*N*-{[(metiletil)oxicarbonil]metil}carbamoil)metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {*N*-[(etoxicarbonil)metil]-*N*-bencilcarbamoil}metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {*N*-[(etoxicarbonil)metil]-*N*-bencilcarbamoil}etil;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {*N*-[(etoxicarbonil)metil]-*N*-metilcarbamoil}etil;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (1S)-1-metil-2-morfolin-4-il-2-oxoetil;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (1S)-1-[*N,N*-bis(2-metoxietil)carbamoil]etil;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (1R)-1-(*N,N*-dietilcarbamoil)etil;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (*N*-{[(metoxicarbonil)etil]carbamoil}metilo);  
 ácido 2-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acetilamino}propanoico; y

sales farmacéuticamente aceptables de los anteriores.

En una realización, el compuesto es metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (*N,N*-dietilcarbamoil)metilo.

En una realización, el compuesto es 2-morfolin-4-il-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo.

En una realización, el compuesto es metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (*N,N*-dimetilcarbamoil)metilo.

En una realización, el compuesto es metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de bis-(2-metoxietilamino)carbamoil]metilo.

Un segundo aspecto de la invención es una composición farmacéutica que comprende un compuesto del primer aspecto y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la composición farmacéutica es una formulación oral.

En una realización, la composición farmacéutica es una formulación de liberación controlada oral.

En una realización, la composición farmacéutica es una formulación de liberación sostenida oral.

En una realización, la composición farmacéutica comprende además otro agente terapéutico.

5 En una realización, el otro agente terapéutico es eficaz en minimizar un efecto adverso asociado al compuesto.

Un tercer aspecto de la invención es un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto para su uso en el tratamiento del cuerpo humano o animal por terapia.

10 Un cuarto aspecto de la invención es un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto para su uso en el tratamiento de psoriasis, esclerosis múltiple, una enfermedad inflamatoria del intestino, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o artritis.

15 Un quinto aspecto de la invención es un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto para su uso en el tratamiento de psoriasis.

Un sexto aspecto de la invención es un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto para su uso en el tratamiento de esclerosis múltiple.

20 Un séptimo aspecto de la invención es un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto para su uso en el tratamiento de psoriasis, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia cardíaca, insuficiencia ventricular izquierda, infarto de miocardio, angina de pecho, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, retinopatía pigmentosa, encefalomiopatía mitocondrial, rechazo de trasplante, esclerosis múltiple, isquemia, lesión por reperfusión, daño del genoma inducido por AGE, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa.

25 Un octavo aspecto de la invención es un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto para su uso en el tratamiento de reuma, granuloma anular, lupus, carditis autoinmunitaria, eccema, sarcoidosis, encefalomielitis diseminada aguda, enfermedad de Addison, alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípido, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune, enfermedad del oído interno autoinmunitaria, pénfigo bulloso, enfermedad de Behcet, celiacía, enfermedad de Chagas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Crohn, dermatomiositis, diabetes mellitus tipo I, endometriosis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barre, enfermedad de Hashimoto, hidradenitis supurativa, enfermedad de Kawasaki, neuropatía por IgA, púrpura trombocitopénica idiopática, cistitis intersticial, lupus eritematoso, enfermedad mixta del tejido conjuntivo, morfea, esclerosis múltiple, miastenia grave, narcolepsia, neuromiotonía, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, psoriasis, artritis psoriásica, polimiositis, cirrosis biliar primaria, artritis reumatoide, esquizofrenia, esclerodermia, síndrome de Sjogren, síndrome de la persona rígida, arteritis temporal, colitis ulcerosa, vasculitis, vitíligo o granulomatosis de Wegener.

40 Un noveno aspecto de la invención es un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto para su uso en el tratamiento de alopecia areata.

45 Un décimo aspecto de la invención es el uso de un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de psoriasis, esclerosis múltiple, una enfermedad inflamatoria del intestino, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o artritis.

Un undécimo aspecto de la invención es el uso de un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de psoriasis.

50 Un duodécimo aspecto de la invención es el uso de un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de esclerosis múltiple.

55 Un decimotercero aspecto de la invención es el uso de un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de psoriasis, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia cardíaca, insuficiencia ventricular izquierda, infarto de miocardio, angina de pecho, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, retinopatía pigmentosa, encefalomiopatía mitocondrial, rechazo de trasplante, esclerosis múltiple, isquemia, lesión por reperfusión, daño del genoma inducido por AGE, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa o una enfermedad mediada por NF-κB.

60 Un decimocuarto aspecto de la invención es el uso de un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de reuma, granuloma anular, lupus, carditis autoinmunitaria, eccema, sarcoidosis, encefalomielitis diseminada aguda, enfermedad de Addison, alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípido, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune, enfermedad del oído interno autoinmunitaria, pénfigo bulloso, enfermedad de Behcet, celiacía, enfermedad de Chagas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Crohn,

65

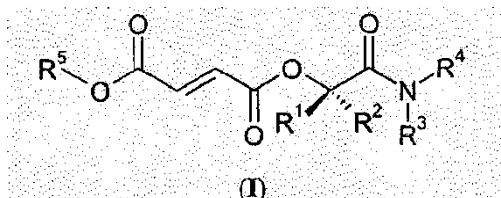
dermatomiositis, diabetes mellitus tipo I, endometriosis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barre, enfermedad de Hashimoto, hidradenitis supurativa, enfermedad de Kawasaki, neuropatía por IgA, púrpura trombocitopénica idiopática, cistitis intersticial, lupus eritematoso, enfermedad mixta del tejido conjuntivo, morfea, esclerosis múltiple, miastenia grave, narcolepsia, neuromiotonía, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, psoriasis, artritis psoriásica, polimiositis, cirrosis biliar primaria, artritis reumatoide, esquizofrenia, esclerodermia, síndrome de Sjogren, síndrome de la persona rígida, arteritis temporal, colitis ulcerosa, vasculitis, vitíligo o granulomatosis de Wegener.

Un decimoquinto aspecto de la invención es el uso de un compuesto del primer aspecto o una composición farmacéutica del segundo aspecto en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de alopecia areata.

### Descripción detallada

Son deseables profármacos de MHF que tienen alta permeabilidad y/o absorción gastrointestinal, solubilidad mejorada, hidrólisis ordenada (es decir, escisión preferencial de pro-restos) y escisión mínima en la luz del intestino o citoplasma de enterocitos. Tales profármacos de MHF que proporcionan mayor biodisponibilidad oral y niveles de MHF, DMF y/u otros metabolitos en plasma pueden potenciar la eficacia/tasa de respuesta en comparación con los presentes ésteres de ácido fumárico; facilitan el uso de menores dosis, frecuencia de dosificación reducida y pautas de dosificación normalizadas; efectos reducidos de los alimentos; efectos secundarios gastrointestinales/toxicidad reducida; y variabilidad del tratamiento interindividual reducida.

En el presente documento se describen compuestos de fórmula (I) se proporcionan:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que:

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se eligen independientemente de hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub> y alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido;

R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se eligen independientemente de hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido, heteroarilo C<sub>1-6</sub>, heteroarilo C<sub>1-6</sub> sustituido, cicloalquil C<sub>4-12</sub>-alquilo, cicloalquil C<sub>4-12</sub>-alquilo sustituido, aril C<sub>7-12</sub>-alquilo y aril C<sub>7-12</sub>-alquilo sustituido; o R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un heteroarilo C<sub>5-10</sub>, heteroarilo C<sub>5-10</sub> sustituido, heterocicloalquilo C<sub>5-10</sub> y heterocicloalquilo C<sub>5-10</sub> sustituido; y R<sup>5</sup> es metilo;

en la que cada grupo sustituyente se elige independientemente de halógeno; -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, =O, -NO<sub>2</sub>, bencilo, -C(O)NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup>, -C(O)R<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>.

También en el presente documento se describen composiciones farmacéuticas se proporcionan que comprenden un compuesto de fórmula (I) y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.

También en el presente documento se describen procedimientos de tratamiento de una enfermedad en un paciente se proporcionan que comprenden administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I). En ciertas realizaciones, la enfermedad se elige de psoriasis, esclerosis múltiple, una enfermedad inflamatoria del intestino, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y artritis.

También en el presente documento se describen procedimientos de inhibición de la activación de NF-κB en un paciente se proporcionan que comprenden administrar a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I).

También en el presente documento se describen procedimientos de inhibición de la función de TNF en un paciente se proporcionan que comprenden administrar a un paciente una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I)

### Definiciones

Un guión (“-”) que no está entre dos letras o símbolos se usa para indicar un punto de unión para un resto o sustituyente. Por ejemplo, -CONH<sub>2</sub> está unido mediante el átomo de carbono.

“-Alquilo” se refiere a un radical de hidrocarburo saturado o insaturado, ramificado, o de cadena lineal, monovalente derivado por eliminación de un átomo de hidrógeno de un único átomo de carbono de un alcano, alqueno o alquino parental. Ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo; etilos tales como etanilo, etenilo y etinilo; propilos tales como propan-1-ilo, propan-2-ilo, prop-1-en-1-ilo, prop-1-en-2-ilo, prop-2-en-1-ilo (alilo), prop-1-in-1-ilo, prop-2-in-1-ilo, etc.; butilos tales como butan-1-ilo, butan-2-ilo, 2-metil-propan-1-ilo, 2-metil-propan-2-ilo, but-1-en-1-ilo, but-1-en-2-ilo, 2-metil-prop-1-en-1-ilo, but-2-en-1-ilo, but-2-en-2-ilo, buta-1,3-dien-1-ilo, buta-1,3-dien-2-ilo, but-1-in-1-ilo, but-1-in-3-ilo, but-3-in-1-ilo, etc.; y similares.

El término “alquilo” pretende incluir específicamente grupos que tienen cualquier grado o nivel de saturación, es decir, grupos que tienen exclusivamente enlaces carbono-carbono sencillos, grupos que tienen uno o más enlaces carbono-carbono dobles, grupos que tienen uno o más enlaces carbono-carbono triples y grupos que tienen combinaciones de enlaces carbono-carbono sencillos, dobles y triples. Si un nivel de saturación específico está previsto, se usan los términos alcanilo, alquenoilo y alquinilo. En ciertas realizaciones, un grupo alquilo pueden tener de 1 a 20 átomos de carbono ( $C_{1-20}$ ), en ciertas realizaciones de 1 a 10 átomos de carbono ( $C_{1-10}$ ), en ciertas realizaciones de 1 a 8 átomos de carbono ( $C_{1-8}$ ), en ciertas realizaciones de 1 a 6 átomos de carbono ( $C_{1-6}$ ), en ciertas realizaciones de 1 a 4 átomos de carbono ( $C_{1-4}$ ) y en ciertas realizaciones de 1 a 3 átomos de carbono ( $C_{1-3}$ ).

“Arilo” se refiere a un radical de hidrocarburo aromático monovalente derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un único átomo de carbono de un sistema de anillo aromático parental. Arilbenceno; sistemas de anillo bicíclicos en los que al menos un anillo es carbocíclico y aromático, por ejemplo, naftaleno, indano y tetralina; y sistemas de anillo tricíclicos en los que al menos un anillo es carbocíclico y aromático, por ejemplo, fluoreno. Arilo engloba sistemas múltiples de anillos que tienen al menos un anillo aromático carbocíclico condensado con al menos un anillo aromático carbocíclico, anillo de cicloalquilo o anillo de heterocicloalquilo. Por ejemplo, arilo incluye un anillo de fenilo condensado con un anillo de heterocicloalquilo de 5 a 7 miembros que contiene uno o más heteroátomos elegidos de N, O y S. Para tales sistemas de anillos bicíclicos condensados en los que solo uno de los anillos es un anillo aromático carbocíclico, el átomo de carbono radical puede estar en el anillo aromático carbocíclico o en el anillo de heterocicloalquilo. Ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de aceantrileno, acenaftileno, acefenantrileno, antraceno, azuleno, benceno, criseno, coroneno, fluoranteno, fluoreno, hexaceno, hexafeno, hexaleno, as-indaceno, s-indaceno, indano, indeno, naftaleno, octaceno, octafeno, octaleno, ovaleno, penta-2,4-dieno, pentaceno, pentaleno, pentafeno, perileno, fenaleno, fenantreno, piceno, pleiaden, pireno, pirantreno, rubiceno, trifenileno, trinaftaleno, y similares. En ciertas realizaciones, un grupo arilo puede tener de 6 a 20 átomos de carbono ( $C_{6-20}$ ), de 6 a 12 átomos de carbono ( $C_{6-12}$ ), de 6 a 10 átomos de carbono ( $C_{6-10}$ ), y en ciertas realizaciones de 6 a 8 átomos de carbono ( $C_{6-8}$ ). Arilo, sin embargo, no engloba ni solapa de ningún modo con heteroarilo, definido por separado en el presente documento.

“Arilalquilo” se refiere a un radical alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unidos a un átomo de carbono, normalmente un átomo de carbono terminal o  $sp^3$ , está sustituido con un grupo arilo. Ejemplos de grupos arilalquilo incluyen, pero no se limitan a, bencilo, 2-feniletan-1-ilo, 2-feniletan-1-ilo, naftilmetilo, 2-naftiletan-1-ilo, 2-naftiletan-1-ilo, naftobencilo, 2-naftofeniletan-1-ilo, y similares. Si se pretenden restos alquilo específicos se usa la nomenclatura arilalcanilo, arilalquenoilo o arilalquinilo. En ciertas realizaciones, un grupo arilalquilo es aril  $C_{7-30}$ -alquilo, por ejemplo, el resto alcanilo, alquenoilo o alquinilo del grupo arilalquilo es  $C_{1-10}$  y el resto arilo es  $C_{6-20}$ , en ciertas realizaciones, un grupo arilalquilo es aril  $C_{6-18}$ -alquilo, por ejemplo, el resto alcanilo, alquenoilo o alquinilo del grupo arilalquilo es  $C_{1-8}$  y el resto arilo es  $C_{6-10}$ . En ciertas realizaciones, un grupo arilalquilo es aril  $C_{7-12}$ -alquilo.

“Compuestos” de fórmula (I) desvelados en el presente documento incluyen cualquier compuesto específico dentro de estas fórmulas. Los compuestos pueden identificarse tanto por su estructura química como nombre químico. Los compuestos se nombran usando Chemistry 4-D Draw Pro, versión 7.01c (ChemInnovation Software, Inc., San Diego, CA). Si la estructura química y nombre químico entran en conflicto, la estructura química es determinante de la identidad del compuesto. Los compuestos descritos en el presente documento pueden comprender uno o más centros quirales y/o dobles enlaces y, por tanto, pueden existir como estereoisómeros tales como isómeros de doble enlace (es decir, isómeros geométricos), enantiómeros o diaestereómeros. Por consiguiente, cualquier estructura química dentro del alcance de la memoria descriptiva representado, en conjunto o en parte, con una configuración relativa engloba todos los posibles enantiómeros y estereoisómeros de los compuestos ilustrados que incluyen la forma estereoisoméricamente pura (por ejemplo, geométricamente pura, enantioméricamente pura o diaestereoméricamente pura) y mezclas enantioméricas y estereoisoméricas. Las mezclas enantioméricas y estereoisoméricas pueden resolverse en sus enantiómeros o estereoisómeros componentes usando técnicas de separación o técnicas de síntesis quiral muy conocidas para el experto. Los compuestos de fórmula (I) incluyen, pero no se limitan a, isómeros ópticos de compuestos de fórmula (I), racematos de los mismos, y otras mezclas de los mismos. En tales realizaciones, un único enantiómero o diaestereómero, es decir, forma ópticamente activa, puede obtenerse por síntesis asimétrica o por resolución de los racematos. La resolución de los racematos puede llevarse a cabo, por ejemplo, mediante procedimientos convencionales tales como cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía usando, por ejemplo, fases estacionarias quirales. A pesar de lo anterior, en compuestos de fórmula (I), la configuración del doble enlace ilustrado está solo en la configuración E (es decir, configuración *trans*).



Los compuestos de fórmula (I) también pueden existir en varias formas tautómeras que incluyen la forma enol, la forma ceto, y mezclas de las mismas. Por consiguiente, las estructuras químicas representadas en el presente documento engloban todas las posibles formas tautómeras de los compuestos ilustrados. Los compuestos de fórmula (I) también incluyen compuestos isotópicamente marcados en los que uno o más átomos tienen una masa atómica diferente de la masa atómica convencionalmente encontrada en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos desvelados en el presente documento incluyen, pero no se limitan a,  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ ,  $^{17}\text{O}$ , etc. Los compuestos pueden existir en formas sin solvatar, además de formas solvatadas, que incluyen formas hidratadas y como N-óxidos. En general, los compuestos como se denominan en el presente documento pueden ser ácidos libres, hidratados, solvatados o N-óxidos. Ciertos compuestos pueden existir en múltiples formas cristalinas, co-cristalinas o amorfas. Los compuestos de fórmula (I) incluyen sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, o solvatos farmacéuticamente aceptables de la forma de ácido libre de cualquiera de los anteriores, además de formas cristalinas de cualquiera de los anteriores.

Los compuestos de fórmula (I) también incluyen solvatos. Un solvato se refiere a un complejo molecular de un compuesto con una o más moléculas de disolvente en una cantidad estequiométrica o no estequiométrica. Tales moléculas de disolvente son aquellas comúnmente usadas en la materia farmacéutica, que son conocidas por ser inocuas para un paciente, por ejemplo, agua, etanol, y similares. Un complejo molecular de un compuesto o resto de un compuesto y un disolvente pueden estabilizarse por fuerzas intramoleculares no covalentes tales como, por ejemplo, fuerzas electrostáticas, fuerzas de van der Waals, o enlaces de hidrógeno. El término "hidrato" se refiere a un solvato en el que una o más moléculas de disolvente es agua.

Además, cuando se ilustran estructuras parciales de los compuestos, un asterisco (\*) indica el punto de unión de la estructura parcial al resto de la molécula.

"Cicloalquilo" se refiere a un radical alquilo cíclico saturado o parcialmente insaturado. Si está previsto un nivel de saturación específico, se usa la nomenclatura cicloalcanilo o cicloalquenilo. Ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de ciclopropano, ciclobutano, ciclopentano, ciclohexano, y similares. En ciertas realizaciones, un grupo cicloalquilo es cicloalquilo  $\text{C}_{3-15}$ , cicloalquilo  $\text{C}_{3-12}$ , y en ciertas realizaciones cicloalquilo  $\text{C}_{3-8}$ .

"Cicloalquilalquilo" se refiere a un radical alquilo acíclico en el que uno de los átomos de hidrógeno unido a un átomo de carbono, normalmente un átomo de carbono terminal o  $sp^3$ , está sustituido con un grupo cicloalquilo. Si están previstos restos alquilo específicos, se usa la nomenclatura cicloalquilalcanilo, cicloalquilalquenilo o cicloalquilalquinilo. En ciertas realizaciones, un grupo cicloalquilalquilo es cicloalquil  $\text{C}_{4-30}$ -alquilo, por ejemplo, el resto alcanilo, alquenilo o alquinilo del grupo cicloalquilalquilo es  $\text{C}_{1-10}$  y el resto cicloalquilo es  $\text{C}_{3-20}$ , y en ciertas realizaciones un grupo cicloalquilalquilo es cicloalquil  $\text{C}_{3-20}$ -alquilo, por ejemplo, el resto alcanilo, alquenilo o alquinilo del grupo cicloalquilalquilo es  $\text{C}_{1-8}$  y el resto cicloalquilo es  $\text{C}_{3-12}$ . En ciertas realizaciones, un grupo cicloalquilalquilo es cicloalquil  $\text{C}_{4-12}$ -alquilo.

"Enfermedad" se refiere a una enfermedad, trastorno, afección o síntoma de cualquiera de los anteriores.

"Fármaco" como se define bajo la sección 321(g)(1) del título 21 del U.S.C. significa "(A) artículos reconocidos en la Farmacopea de los Estados Unidos oficial, Farmacopea de los Estados Unidos homeopática oficial, o vademécum estadounidense oficial, o cualquier suplemento a cualquiera de ellos; y (B) artículos previstos para su uso en el diagnóstico, cura, mitigación, tratamiento o prevención de enfermedad en el hombre u otros animales; y (C) artículos (distintos de alimentos) previstos para afectar la estructura o cualquier función del cuerpo del hombre u otros animales..."

"Halógeno" se refiere a un grupo flúor, cloro, bromo o yodo. En ciertas realizaciones, halógeno se refiere a un grupo cloro.

"Heteroalquilo" por sí mismo o como parte de otro sustituyente se refieren a un grupo alquilo en el que uno o más de los átomos de carbono (y ciertos átomos de hidrógeno asociados) se sustituyen independientemente con los mismos grupos heteroatómicos o diferentes. Ejemplos de grupos heteroatómicos incluyen, pero no se limitan a,  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{O}-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-\text{S}-$ ,  $-\text{O}-\text{S}-$ ,  $-\text{NR}^{13}$ ,  $=\text{N}-\text{N}=\text{N}-$ ,  $-\text{N}=\text{N}-$ ,  $-\text{N}=\text{N}-\text{NR}^{13}$ ,  $-\text{PR}^{13}$ ,  $-\text{P}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{POR}^{13}$ ,  $-\text{O}-\text{P}(\text{O})_2-$ ,  $-\text{SO}-$ ,  $-\text{SO}_2-$ ,  $-\text{Sn}(\text{R}^{13})_2-$ , y similares, en los que cada  $\text{R}^{13}$  se elige independientemente de hidrógeno, alquilo  $\text{C}_{1-6}$ , alquilo  $\text{C}_{1-6}$  sustituido, arilo  $\text{C}_{6-12}$ , arilo  $\text{C}_{6-12}$  sustituido, aril  $\text{C}_{7-18}$ -alquilo, aril  $\text{C}_{7-18}$ -alquilo sustituido, cicloalquilo  $\text{C}_{3-7}$ , cicloalquilo  $\text{C}_{3-7}$  sustituido, heterocicloalquilo  $\text{C}_{3-7}$ , heterocicloalquilo  $\text{C}_{3-7}$  sustituido, heteroarilo  $\text{C}_{1-6}$ , heteroarilo  $\text{C}_{1-6}$  sustituido, heteroarilo  $\text{C}_{6-12}$ , heteroarilo  $\text{C}_{6-12}$  sustituido, heteroaril  $\text{C}_{7-18}$ -alquilo o heteroaril  $\text{C}_{7-18}$ -alquilo sustituido. Referencia a, por ejemplo, un heteroarilo  $\text{C}_{1-6}$  significa un grupo alquilo  $\text{C}_{1-6}$  en el que al menos uno de los átomos de carbono (y ciertos átomos de hidrógeno asociados) se sustituyen con un heteroátomo. Por ejemplo heteroalquilo  $\text{C}_{1-6}$  incluye grupos que tienen cinco átomos de carbono y un heteroátomo, grupos que tienen cuatro átomos de carbono y dos heteroátomos, etc. En ciertas realizaciones, cada  $\text{R}^{13}$  se elige independientemente de hidrógeno y alquilo  $\text{C}_{1-3}$ . En ciertas realizaciones, un grupo heteroatómico se elige de  $-\text{O}-$ ,  $-\text{S}-$ ,  $-\text{NH}-$ ,  $-\text{N}(\text{CH}_3)-$  y  $-\text{SO}_2-$ ; y en ciertas realizaciones, el grupo heteroatómico es  $-\text{O}-$ .

“Heteroarilo” se refiere a un radical heteroaromático monovalente derivado por la eliminación de un átomo de hidrógeno de un único átomo de un sistema de anillo heteroaromático parental. Heteroarilo engloba múltiples sistemas de anillo que tienen al menos un anillo heteroaromático condensado con al menos otro anillo, que puede ser aromático o no aromático. Por ejemplo, heteroarilo engloba anillos bicíclicos en los que un anillo es heteroaromático y el segundo anillo es un anillo heterocicloalquilo. Para tales sistemas de anillo de heteroarilo bicíclico condensados, en los que solo uno de los anillos contiene uno o más heteroátomos, el radical carbono puede estar en el anillo aromático o en el anillo heterocicloalquilo. En ciertas realizaciones, si el número total de átomos de N, S y O en el grupo heteroarilo supera uno, los heteroátomos no son adyacentes entre sí. En ciertas realizaciones, el número total de heteroátomos en el grupo heteroarilo no es superior a dos.

Ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de acridina, arsindol, carbazol,  $\beta$ -carbolina, cromano, cromona, cinolina, furano, imidazol, indazol, indol, indolina, indolizina, isobenzofurano, isocromona, isoindol, isoindolina, isoquinolina, isotiazol, isoxazol, naftiridina, oxadiazol, oxazol, perimidina, fenantridina, fenantrolina, fenazina, ftalazina, pteridina, purina, pirano, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, pirrolizina, quinazolina, quinolina, quinolizina, quinoxalina, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiofeno, triazol, xanteno, tiazolidina, oxazolidina, y similares. En ciertas realizaciones, un grupo heteroarilo es heteroarilo de 4 a 20 miembros ( $C_{4-20}$ ), y en ciertas realizaciones heteroarilo de 4 a 12-miembros ( $C_{4-10}$ ). En ciertas realizaciones, grupos heteroarilo son aquellos derivados de tiofeno, pirrol, benzotiofeno, benzofurano, indol, piridina, quinolina, imidazol, oxazol o pirazina. Por ejemplo, en ciertas realizaciones, heteroarilo  $C_5$  puede ser furilo, tienilo, pirrolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo.

“Heterocicloalquilo” se refiere a un radical alquilo cíclico saturado o insaturado en el que uno o más átomos de carbono (y ciertos átomos de hidrógeno asociados) se sustituyen independientemente con el mismo heteroátomo o heteroátomo diferente; o con un sistema de anillos aromáticos parental en el que uno o más átomos de carbono (y ciertos átomos de hidrógeno asociados) se sustituyen independientemente con el mismo heteroátomo o heteroátomo diferente de forma que el sistema de anillo ya no contenga al menos un anillo aromático. Ejemplos de heteroátomos para sustituir el (los) átomo(s) de carbono incluyen, pero no se limitan a, N, P, O, S, Si, etc. Ejemplos de grupos heterocicloalquilo incluyen, pero no se limitan a, grupos derivados de epóxidos, azirinas, tiiranos, imidazolidina, morfolina, piperazina, piperidina, pirazolidina, pirrolidina, quinuclidina, y similares. En ciertas realizaciones, un grupo heterocicloalquilo es heterocicloalquilo  $C_{5-10}$ , heterocicloalquilo  $C_{5-8}$ , y en ciertas realizaciones heterocicloalquilo  $C_{5-6}$ .

“Grupo saliente” tiene el significado convencionalmente asociados a él en la química orgánica sintética, es decir, un átomo o un grupo que puede ser desplazado por un nucleófilo e incluye halógeno tal como cloro, bromo, flúor y yodo, aciloxi (alcoxicarbonilo) tal como acetoxi y benzoiloxi, ariloxicarbonilo, mesiloxi, tosiloxi, trifluorometanosulfoniloxi, ariloxi tal como 2,4-dinitrofenoxi, metoxi, *N,O*-dimetilhidroxilamino, *p*-nitrofenolato, imidazolilo, y similares.

“Sistema de anillos aromáticos parental” se refiere a un sistema de anillos cíclicos o policíclicos insaturados que tiene un sistema de electrones  $\pi$  (pi) conjugado. Incluido dentro de la definición de “sistema de anillo aromático parental” están sistemas de anillos condensados en los que uno o más de los anillos son aromáticos y uno o más de los anillos están saturados o insaturados, tales como, por ejemplo, fluoreno, indano, indeno, fenaleno, etc. Ejemplos de sistemas de anillos aromáticos parentales incluyen, pero no se limitan a, aceantrileno, acenaftileno, acefenantrileno, antraceno, azuleno, benceno, crisenno, coroneno, fluoranteno, fluoreno, hexaceno, hexafeno, hexaleno, *as*-indaceno, *s*-indaceno, indano, indeno, naftaleno, octaceno, octafeno, octaleno, ovaleno, penta-2,4-dieno, pentaceno, pentaleno, pentafeno, perileno, fenaleno, fenantreno, piceno, pleiadenno, pireno, pirantreno, rubiceno, trifenileno, trinaftaleno, y similares.

“Sistema de anillos heteroaromáticos parental” se refiere a un sistema de anillos aromáticos en el que uno o más átomos de carbono (y cualquier átomo de hidrógeno asociado) están sustituidos independientemente con el mismo heteroátomo o heteroátomo diferente de tal forma que mantenga el sistema de electrones  $\pi$  continuo característico de los sistemas aromáticos y varios electrones  $\pi$  fuera de plano correspondientes a la regla de Hückel ( $4n + 2$ ). Ejemplos de heteroátomos para sustituir los átomos de carbono incluyen, pero no se limitan a, N, P, O, S y Si, etc. Específicamente incluidos dentro de la definición de “sistemas de anillos heteroaromáticos parentales” están sistemas de anillos condensados en los que uno o más de los anillos son aromáticos y uno o más de los anillos están saturados o insaturados, tales como, por ejemplo, arsindol, benzodioxano, benzofurano, cromano, cromona, indol, indolina, xanteno, etc. Ejemplos de sistemas de anillos heteroaromáticos parentales incluyen, pero no se limitan a, arsindol, carbazol,  $\beta$ -carbolina, cromano, cromona, cinolina, furano, imidazol, indazol, indol, indolina, indolizina, isobenzofurano, isocromona, isoindol, isoindolina, isoquinolina, isotiazol, isoxazol, naftiridina, oxadiazol, oxazol, perimidina, fenantridina, fenantrolina, fenazina, ftalazina, pteridina, purina, pirano, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, pirrolizina, quinazolina, quinolina, quinolizina, quinoxalina, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiofeno, triazol, xanteno, tiazolidina, oxazolidina, y similares.

“Paciente” se refiere a un mamífero, por ejemplo, un ser humano.

“Farmacéuticamente aceptable” se refiere a autorizado o autorizable por una agencia reguladora del gobierno federal o un gobierno estatal o enumerado en la Farmacopea Estadounidense u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos.

5 “Sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sal de un compuesto que posee la actividad farmacológica deseada del compuesto parental. Tales sales incluyen sales de adición de ácido, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares; o formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1,2-etano-disulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido benzenosulfónico, ácido 4-clorobenzenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido canforsulfónico, ácido 4-metilbicyclo[2.2.2]-oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido *terc*-butilacético, ácido laurilsulfúrico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftoico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico, y similares; y sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto parental está sustituido con un ión metálico, por ejemplo, un ión de metal alcalino, un ión alcalinotérreo, o un ión aluminio; o coordinadas con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, *N*-metilglucamina, y similares. En ciertas realizaciones, una sal farmacéuticamente aceptable es la sal de clorhidrato. En ciertas realizaciones, una sal farmacéuticamente aceptable es la sal de sodio.

20 “Vehículo farmacéuticamente aceptable” se refiere a un diluyente farmacéuticamente aceptable, un adyuvante farmacéuticamente aceptable, un excipiente farmacéuticamente aceptable, un vehículo farmacéuticamente aceptable, o una combinación de cualquiera de los anteriores con los que un compuesto proporcionado por la presente divulgación puede administrarse a un paciente y que no destruye la actividad farmacológica del mismo y que es no tóxico cuando se administra en dosis suficientes para proporcionar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto.

25 “Composición farmacéutica” se refiere a un compuesto de fórmula (I) y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, con el que el compuesto de fórmula (I) se administra a un paciente.

30 “Sustituido” se refiere a un grupo en el que uno o más átomos de hidrógeno están independientemente sustituidos con el (los) mismo(s) grupo(s) o sustituyente(s). En ciertas realizaciones, cada grupo sustituyente se elige independientemente de halógeno, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, =O, NO<sub>2</sub>, bencilo, -C(O)NH<sub>2</sub>, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup>, -C(O)R<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>. En ciertas realizaciones, cada grupo sustituyente se elige independientemente de halógeno, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -NO<sub>2</sub>, bencilo, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>. En ciertas realizaciones, cada grupo sustituyente se elige independientemente de halógeno, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, =O, -NO<sub>2</sub>, bencilo, -C(O)NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup>, -C(O)R<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>. En ciertas realizaciones, cada grupo sustituyente se elige independientemente de -OH, alquilo C<sub>1-4</sub> y -NH<sub>2</sub>.

40 “Tratar” o “tratamiento” de cualquier enfermedad se refiere a invertir, aliviar, detener o mejorar una enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad, reducir el riesgo de adquirir una enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad, inhibir el progreso de una enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de la enfermedad, o reducir el riesgo de desarrollar una enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad. “Tratar” o “tratamiento” también se refiere a inhibir la enfermedad, tanto físicamente (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), fisiológicamente (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico), o ambos, y para inhibir al menos un parámetro físico que puede o puede no ser discernible al paciente. En ciertas realizaciones, “tratar” o “tratamiento” se refiere a retrasar la aparición de la enfermedad o al menos uno o más síntomas de la misma en un paciente que puede exponerse a o predispuesto a una enfermedad aún cuando ese paciente no experimente todavía o muestre síntomas de la enfermedad.

50 “Cantidad terapéuticamente eficaz” se refiere a la cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar una enfermedad, o al menos uno de los síntomas clínicos de una enfermedad, es suficiente para afectar tal tratamiento de la enfermedad o síntoma de la misma. La “cantidad terapéuticamente eficaz” puede variar dependiendo, por ejemplo, del compuesto, la enfermedad y/o síntomas de la enfermedad, gravedad de la enfermedad y/o síntomas de la enfermedad o trastorno, la edad, peso y/o salud del paciente que va a tratarse, y el criterio del médico que receta. Una cantidad apropiada en cualquier caso dado puede determinarse por aquellos expertos en la materia o capaz de determinación por experimentación rutinaria.

60 “Dosis terapéuticamente eficaz” se refiere a una dosis que proporciona tratamiento eficaz de una enfermedad o trastorno en un paciente. Una dosis terapéuticamente eficaz puede variar de compuesto a compuesto, y de paciente a paciente, y puede depender de factores tales como la afección del paciente y la vía de administración. Una dosis terapéuticamente eficaz puede determinarse según procedimientos farmacológicos rutinarios conocidos para aquellos expertos en la materia.

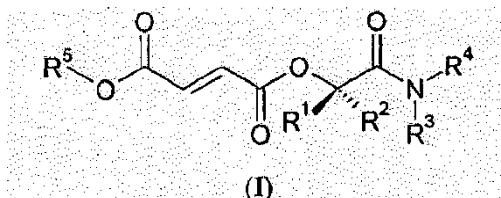
65

Ahora se hace referencia en detalle a ciertas realizaciones de compuestos, composiciones y procedimientos. Las realizaciones desveladas no pretenden ser limitantes de las reivindicaciones. Por el contrario, las reivindicaciones pretenden cubrir todas las alternativas, modificaciones y equivalentes.

### Compuestos

5

En el presente documento se describe un compuesto de fórmula (I):



10 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

15  $R^1$  y  $R^2$  se eligen independientemente de hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$  y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido;  
 $R^3$  y  $R^4$  se eligen independientemente de hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$ ; alquilo  $C_{1-6}$  sustituido, heteroarilo  $C_{1-6}$ ,  
 heteroarilo  $C_{1-6}$  sustituido, cicloalquil  $C_{4-12}$ -alquilo, cicloalquil  $C_{4-12}$ -alquilo sustituido, aril  $C_{7-12}$ -alquilo y aril  $C_{7-12}$ -  
 20 alquilo sustituido; o  $R^3$  y  $R^4$  junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un heteroarilo  
 $C_{5-10}$ , heteroarilo  $C_{5-10}$  sustituido, heterocicloalquilo  $C_{5-10}$  y heterocicloalquilo  $C_{5-10}$  sustituido; y  
 $R^5$  es metilo;  
 en la que cada grupo sustituyente se elige independientemente de halógeno, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, =O, -NO<sub>2</sub>,  
 bencilo, -C(O)NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup>, -C(O)R<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige independientemente  
 de hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ .

25 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), cada grupo sustituyente se elige independientemente de  
 halógeno, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno y  
 alquilo  $C_{1-4}$ . En ciertas realizaciones, cada grupo sustituyente se elige independientemente de -OH y -COOH.

30 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), cada grupo sustituyente se elige independientemente de  
 =O, alquilo  $C_{1-4}$  y -COOR<sup>11</sup> en la que R<sup>11</sup> se elige de hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ .

35 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), cada uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno.

En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  es alquilo  
 $C_{1-4}$ .

40 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de  
 metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *sec*-butilo y *terc*-butilo.

En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  es metilo.

45 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I),  $R^3$  y  $R^4$  se eligen independientemente de hidrógeno y  
 alquilo  $C_{1-6}$ .

En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I),  $R^3$  y  $R^4$  se eligen independientemente de hidrógeno y  
 alquilo  $C_{1-4}$ .

50 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I),  $R^3$  y  $R^4$  se eligen independientemente de hidrógeno, metilo  
 y etilo.

En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), cada uno de  $R^3$  y  $R^4$  es hidrógeno; en ciertas realizaciones,  
 cada uno de  $R^3$  y  $R^4$  es metilo; y en ciertas realizaciones, cada uno de  $R^3$  y  $R^4$  es etilo.

55 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I),  $R^3$  es hidrógeno; y  $R^4$  se elige de alquilo  $C_{1-4}$ , alquilo  $C_{1-4}$   
 sustituido, en la que el grupo sustituyente se elige de =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige  
 independientemente de hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ .

En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I),  $R^3$  es hidrógeno; y  $R^4$  se elige de alquilo  $C_{1-4}$ , bencilo, 2-  
 metoxietilo, carboximetilo, carboxipropilo, 1,2,4-tiadoxolilo; metoxi, 2-metoxicatonilo, 2-oxo(1,3-oxazolidinilo), 2-  
 (metiletoxi)etilo, 2-etoxietilo, (*terc*-butiloxicarbonil)metilo, (etoxicarbonil)metilo, carboximetilo,  
 (metiletil)oxicarbonilmetilo y etoxicarbonilmetilo.

60

- 5 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un anillo de heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub> sustituido, heteroarilo C<sub>5-6</sub> y heteroarilo C<sub>5-6</sub> sustituido. En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un anillo de heterocicloalquilo C<sub>5</sub>, heterocicloalquilo C<sub>5</sub> sustituido, heteroarilo C<sub>5</sub> y heteroarilo C<sub>5</sub> sustituido. En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un anillo de heterocicloalquilo C<sub>6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>6</sub> sustituido, heteroarilo C<sub>6</sub> y heteroarilo C<sub>6</sub> sustituido. En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un anillo de piperazina, 1,3-oxazolidinilo, pirrolidina y morfolina.
- 10 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo de heterocicloalquilo C<sub>5-10</sub>.
- 15 R<sup>5</sup> es metilo.
- En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>; R<sup>3</sup> es hidrógeno; R<sup>4</sup> se elige de hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub> y bencilo.
- 20 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>; R<sup>3</sup> es hidrógeno; R<sup>4</sup> se elige de hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub> y bencilo; y R<sup>5</sup> es metilo.
- En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se elige de hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>; y cada uno de R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>.
- 25 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se elige de hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>; cada uno de R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>; y R<sup>5</sup> es metilo. En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno; cada uno de R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>; y R<sup>5</sup> es metilo.
- 30 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se elige de hidrógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>; R<sup>3</sup> es hidrógeno; R<sup>4</sup> se elige de alquilo C<sub>1-4</sub>, alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido en el que el grupo sustituyente se elige de =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>; y R<sup>5</sup> es metilo. En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es metilo; R<sup>3</sup> es hidrógeno; R<sup>4</sup> se elige de alquilo C<sub>1-4</sub>, alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido en el que el grupo sustituyente se elige de -O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>; y R<sup>5</sup> es metilo. En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno; R<sup>3</sup> es hidrógeno; R<sup>4</sup> se elige de alquilo C<sub>1-4</sub>, alquilo C<sub>1-4</sub> sustituido en el que el grupo sustituyente se elige de =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en las que cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno y alquilo C<sub>1-4</sub>; y R<sup>5</sup> es metilo.
- 35
- 40 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo de heterocicloalquilo C<sub>5-10</sub>.
- En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se elige de hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>; R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un anillo de heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub> sustituido, heteroarilo C<sub>5-6</sub> y heteroarilo C<sub>5-6</sub> sustituido; y R<sup>5</sup> es metilo.
- 45 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es metilo; R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un anillo de heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub> sustituido, heteroarilo C<sub>5-6</sub> y heteroarilo C<sub>5-6</sub> sustituido; y R<sup>5</sup> es metilo. En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno; R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un anillo de heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub> sustituido, heteroarilo C<sub>5-6</sub> y heteroarilo C<sub>5-6</sub> sustituido; y R<sup>5</sup> es metilo.
- 50
- En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se elige de hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>; y R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de morfolina, piperazina y piperazina N-sustituida.
- 55
- En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se elige de hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>; R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de morfolina, piperazina y piperazina N-sustituida; y R<sup>5</sup> es metilo.
- 60
- En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), R<sup>1</sup> es hidrógeno, y en ciertas realizaciones R<sup>2</sup> es hidrógeno.
- En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), el compuesto se elige de:
- 65 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N,N-dietilcarbamoil)metilo;  
[N-bencilcarbamoil]metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;

2'-morfolin-4-il-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-butilcarbamoil)metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N-(2-metoxietil)carbamoil]metilo;  
 ácido 2-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxil]acetilamino}acético;  
 5 ácido 4-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxil]acetilamino}butanoico;  
 (N-(1,3,4-tiadiazol-2il)carbamoil)metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N,N-dimetilcarbamoil)metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-metoxi-N-metilcarbamoil)metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de bis-(2-metoxietilamino)carbamoil]metilo;  
 10 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N-(metoxicarbonil)carbamoil]metilo;  
 ácido 4-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxil]acetilamino}butanoico, sal de sodio;  
 2-oxo-2-piperaziniletal-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 2-oxo-2-(2-oxo(1,3-oxazolidin-3-il)etil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[2-(dimetilamino)etil]carbamoil}metilo;  
 15 2-(4-metilpiperazinil)-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 {N-[(propilamino)carbonil]carbamoil}metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de 2-((4-acetilpiperazinil)-2-oxoetil);  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N,N-bis[2-(metiletoxi)etil]carbamoil}metilo;  
 2-(4-bencilpiperazinil)-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 20 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N,N-bis(2-etoxietil)carbamoil]metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de 2-(((2S)-2-[(terc-butil)oxicarbonil]pirrolidinil)-2-oxoetil);  
 ácido 1-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxil]acetil}(2S)pirrolidin-2-carboxílico;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-{[terc-butil]oxicarbonil}metil)-N-metilcarbamoil]metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-(etoxicarbonil)metil]-N-metilcarbamoil]metilo;  
 25 1-metil-2-morfolin-4-il-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N,N-bis(2-metoxietil)carbamoil]etilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N,N-dimetilcarbamoil)etilo;  
 ácido 2-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxil]-N-metilacetilamino}acético;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-[[[terc-butil]oxicarbonil]metil]carbamoil]metilo;  
 30 (N-metil-N-[[[metiletil]oxicarbonil]metil]carbamoil)metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[(etoxicarbonil)metil]-N-bencilcarbamoil]metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[(etoxicarbonil)metil]-N-bencilcarbamoil]etilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[(etoxicarbonil)metil]-N-metilcarbamoil]etilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (1S)-1-metil-2-morfolin-4-il-2-oxoetil);  
 35 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (1S)-1-[N,N-bis(2-metoxietil)carbamoil]etilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (1R)-1-(N,N-dietilcarbamoil)etilo; y

una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores.

40 En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), el compuesto se elige de:

metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N,N-dietilcarbamoil)metilo;  
 [N-bencilcarbamoil]metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 2-morfolin-4-il-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 45 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-butilcarbamoil)metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N-(2-metoxietil)carbamoil]metilo;  
 ácido 2-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxil]acetilamino}acético;  
 ácido 4-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxil]acetilamino}butanoico;  
 (N-(1,3,4-tiadiazol-2il)carbamoil)metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 50 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N,N-dimetilcarbamoil)metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-metoxi-N-metilcarbamoil)metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de bis-(2-metoxietilamino)carbamoil]metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N-(metoxicarbonil)carbamoil]metilo;  
 2-oxo-2-piperaziniletal-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 55 2-oxo-2-(2-oxo(1,3-oxazolidin-3-il)etil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[2-(dimetilamino)etil]carbamoil}metilo;  
 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-[(metoxicarbonil)etil]carbamoil)metilo;  
 ácido 2-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxil]acetilamino}propanoico, y

60 una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los anteriores.

En ciertas realizaciones de un compuesto de fórmula (I), R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> se eligen independientemente de hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquilo C<sub>1-6</sub> sustituido, arilo C<sub>6-10</sub>, arilo C<sub>6-10</sub> sustituido, cicloalquil C<sub>4-12</sub>-alquilo, cicloalquil C<sub>4-12</sub>-alquilo sustituido, aril C<sub>7-12</sub>-alquilo, aril C<sub>7-12</sub>-alquilo sustituido, heteroarilo C<sub>1-6</sub>, heteroarilo C<sub>1-6</sub> sustituido, heteroarilo C<sub>6-10</sub>, heteroarilo C<sub>6-10</sub> sustituido, heterocicloalquil C<sub>4-12</sub>-alquilo, heterocicloalquil C<sub>4-12</sub>-alquilo sustituido, heteroaril C<sub>7-12</sub>-alquilo, heteroaril C<sub>7-12</sub>-alquilo sustituido; o R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un

heteroarilo C<sub>5-10</sub>, heteroarilo C<sub>5-10</sub> sustituido, heterocicloalquilo C<sub>5-10</sub> y heterocicloalquilo C<sub>5-10</sub> sustituido.

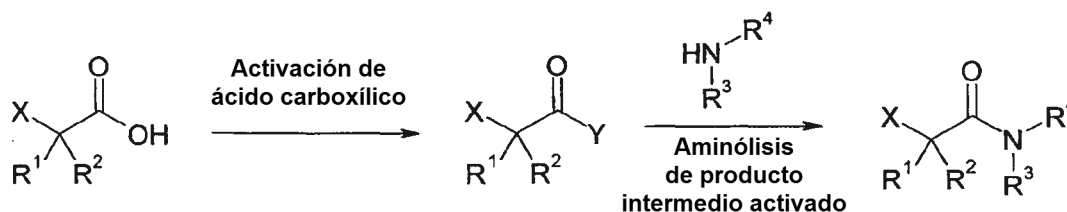
### Síntesis

5 Los compuestos desvelados en el presente documento pueden obtenerse mediante los procedimientos de síntesis ilustrados en los Esquemas 1 a 9. Procedimientos de síntesis generales útiles en la síntesis de los compuestos descritos en el presente documento están disponibles en la materia. Materiales de partida útiles para preparar compuestos y productos intermedios de los mismos y/o poner en práctica procedimientos descritos en el presente documento están comercialmente disponibles o pueden prepararse por procedimientos de síntesis muy conocidos.

10 Los procedimientos presentados en los esquemas proporcionados por la presente divulgación son ilustrativos en vez de comprensivos. Será evidente para aquellos expertos en la materia que muchas modificaciones, tanto a materiales como a procedimientos, pueden ponerse en práctica sin apartarse del alcance de la divulgación.

15 Ciertas de las haloacetamidas sin sustituir, 1-mono-sustituidas o 1,1-bis-sustituidas útiles para preparar compuestos de fórmula (I) están disponibles de fuentes comerciales. Las haloacetamidas sin sustituir, 1-mono-sustituidas o 1,1-bis-sustituidas no comercialmente disponibles útiles para preparar los compuestos de fórmula (I) y productos intermedios de los mismos pueden prepararse por procedimientos de síntesis muy conocidos tales como aquellos descritos en los Esquemas 1 y 2.

20 Las 1-haloacetamidas funcionalizadas útiles para la preparación de profármacos de acetamida de MHF de fórmula (I) pueden prepararse según el Esquema 1:



Esquema 1

25 en las que X e Y son grupos salientes tales como halógeno, y R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son como se definen en el presente documento. En ciertas realizaciones del Esquema 1, X es cloro e Y es cloro o una O-acilisourea.

30 La activación química del ácido carboxílico al cloruro de ácido carboxílico correspondiente como se muestra en el Esquema 1 puede lograrse mediante reacción con agentes de cloración tales como cloruro de tionilo (SOCl<sub>2</sub>), cloruro de oxalilo (C<sub>2</sub>O<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>) o pentacloruro fosforoso (PCl<sub>5</sub>), opcionalmente en presencia de un catalizador adecuado tal como N,N-dimetilformamida (DMF), y tanto en sustancia (ausencia de disolvente) como en un disolvente orgánico inerte tal como diclorometano (DCM) a una temperatura apropiada tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 70 °C. La activación química del ácido carboxílico puede realizarse *in situ* y sin aislar el sustrato

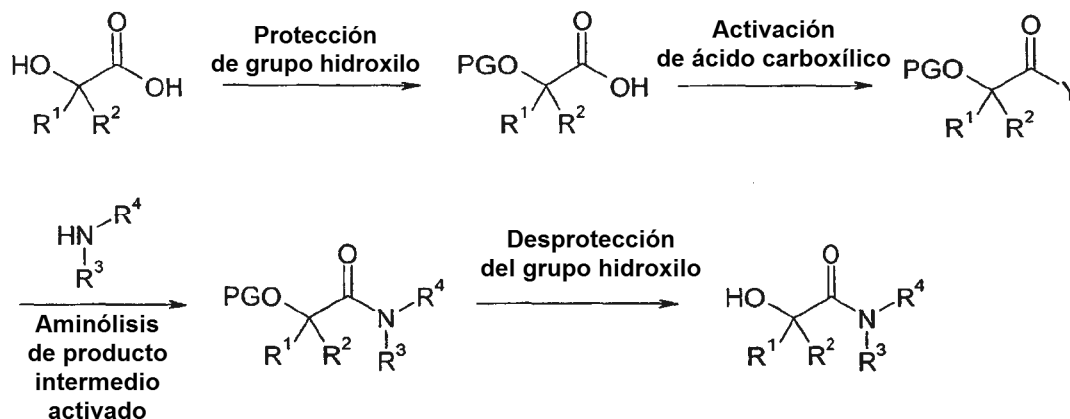
35 activado antes de la siguiente etapa de aminólisis. Opcionalmente, el ácido carboxílico activado puede aislarse y/o purificarse usando procedimientos muy conocidos en la técnica, es decir, destilación fraccionada.

Alternativamente, agentes de deshidratación de carbodiimida tales como N,N-diisopropilcarbodiimida (DIC), N,N-diciclohexilcarbodiimida (DCC) o 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDAC, EDC), opcionalmente en presencia de una cantidad catalítica o estequiométrica de un aditivo adecuado tal como 4-(N,N-dimetilaminopiridina (DMAP) (condiciones de esterificación de *Steglich*), 1-hidroxibenzotriazol (HOBT), 1-hidroxí-7-aza-benzotriazol (HOAt) o N-hidroxisuccinimida (NHS); sales de uronio o fosfonio con aniones no nucleófilos tales como hexafluorofosfato de N-[(1H-benzotriazol-1-il)(dimetilamino)metilén]-N-metilmetanaminio (HBTU), N-óxido de hexafluorofosfato de N-[(dimetilamino)-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridin-1-il-metilén]-N-metilmetanaminio (HATU), tetrafluoroborato de N-[(1H-benzotriazol-1-il)(dimetilamino)metilén]-N-metilmetanaminio (TBTU) o hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidinofosfonio (PyBOP), pueden emplearse para formar un derivado del ácido carboxílico activado. Opcionalmente también pueden emplearse bases terciarias orgánicas tales como trietilamina (TEA) o diisopropiletilamina (DIEA). La formación del derivado del ácido carboxílico activado puede tener lugar en un disolvente inerte tal como diclorometano (DCM), N,N-dimetilformamida (DMF), N-metilpirrolidona (NMP), N,N-dimetilacetamida (DMA, DMAc), o mezclas de cualquiera de los anteriores, a una temperatura apropiada tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 40 °C.

La aminólisis de derivados carboxílicos activados generados o aislados *in situ* con el derivado de amina apropiadamente funcionalizado (HNR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>) (Esquema 2) puede tener lugar en presencia de una base adecuada tal como una base terciaria orgánica, es decir, trietilamina (TEA), dietilaminoetilamina (DIEA), piridina, o mezclas de cualquiera de las anteriores, opcionalmente en presencia de aditivos adecuados tales como catalizadores de acilación nucleófila, es decir, 4-N,N-dimetilaminopiridina (DMAP), y en el mismo disolvente inerte u otro como se usa

para la etapa de activación tal como diclorometano (DCM), *N,N*-dimetilformamida (DMF), *N*-metilpirrolidona (NMP), *N,N*-dimetilacetamida (DMA, DMAc), o mezclas de cualquiera de los anteriores, a una temperatura apropiada tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 70 °C.

- 5 Las 1-hidroxiacetamidas funcionalizadas útiles para la preparación de profármacos de acetamida de MHF de fórmula (I) también pueden prepararse según el Esquema 2:



- 10 En las que PG es un grupo protector de hidroxilo; Y un grupo saliente tal como cloro o un radical derivado de O-isourea; y R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son como se definen en el presente documento.

- 15 Ciertos de los derivados del ácido 1-hidroxiacético funcionalizados y activados están comercialmente disponibles, es decir, ácido benciloixiacético y ácido *terc*-butiloxiláctico. Procedimientos para introducir grupos protectores de hidroxilo (PG) son muy conocidos en la técnica. Grupos protectores útiles para bloquear temporalmente el grupo hidroxilo de ácidos 1-hidroxiacéticos funcionalizados incluyen ciertos éteres de alquilo tales como bencilo (sustituido), éteres *terc*-butílicos, éter de tritilo, o diversos éteres de sililo tales como éter de *terc*-butildimetilsililo, éter de triisopropilsililo, o éteres de *terc*-butildifenilsililo.

- 20 Ciertos derivados del ácido 1-hidroxiacético protegidos, funcionalizados y activados están comercialmente disponibles, es decir, cloruro de benciloixiacético. Alternativamente, la activación química del derivado del ácido 1-hidroxiacético protegido y funcionalizado al derivado del ácido carboxílico activado correspondiente, es decir, cloruro de ácido carboxílico, O-acilisourea, ésteres activados, etc., puede lograrse usando procedimientos de reacción similares y condiciones como aquellas descritas en el Esquema 1 para la activación de derivados del ácido 1-haloacético funcionalizados.

- 30 La aminólisis de derivados de 1-hidroxiacético protegidos generados *in situ* o aislados, funcionalizados y activados con aminas funcionalizadas (HNR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>) puede tener lugar usando procedimientos y condiciones de reacción similares a aquellos descritos en el Esquema 1 para la aminólisis de derivados del ácido 1-haloacético funcionalizados, protegidos y activados.

- 35 La desprotección ortogonal (u ordenada) del derivado del ácido 1-hidroxiacético protegido libera el grupo hidroxilo libre correspondiente. Métodos, procedimientos y prácticas de desprotección son muy conocidos en la técnica.

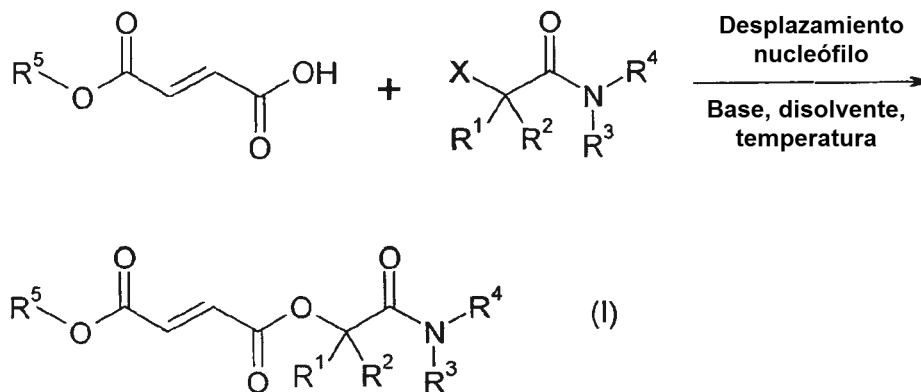
- 40 En ciertas realizaciones, el grupo protector puede ser un grupo alquilo tal como un grupo *terc*-butilo. La desprotección puede llevarse a cabo poniendo en contacto un derivado de 1-hidroxiacetamida funcionalizado protegido con *terc*-butilo con un exceso de un ácido de Brønsted fuerte tal como ácido trifluoroacético (TFA) o cloruro de hidrógeno (HCl) en un disolvente inerte tal como diclorometano (DCM), éter dietílico (Et<sub>2</sub>O), 1,4-dioxano, o mezclas de cualquiera de los anteriores, a una temperatura apropiada tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 40 °C.

- 45 En ciertas realizaciones, el grupo protector puede seleccionarse de un grupo alquilo tal como un grupo bencilo. Si el grupo protector es un grupo bencilo, la desprotección puede llevarse a cabo haciendo reaccionar el derivado de 1-hidroxiacetamida funcionalizado con hidrógeno (H<sub>2</sub>) gaseoso en presencia de un catalizador heterogéneo, es decir, 5-10 % en peso de paladio sobre (carbón activado o húmedo), en un disolvente tal como metanol (MeOH), etanol (EtOH), acetato de etilo (EtOAc), o mezclas de cualquiera de los anteriores, opcionalmente en presencia de una pequeña cantidad de un activador tal como ácido clorhídrico ac. 1 N a una temperatura apropiada tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 40 °C y bajo una atmósfera de hidrógeno a una presión de



aproximadamente 15 psi (103,4 kPa) a aproximadamente 60 psi (413,7 kPa).

Los profármacos de MHF de acetamida de fórmula (I) pueden prepararse según el Esquema 3:

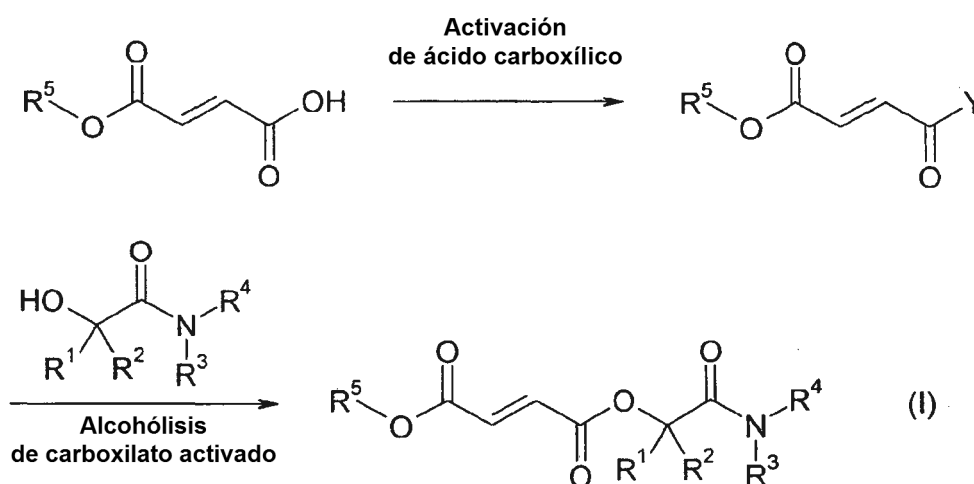


Esquema 3

en la que X es un grupo saliente tal como halógeno, y  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  y  $R^5$  son como se definen en el presente documento. En ciertas realizaciones del Esquema 3, X es cloro y  $R^5$  es alquilo tal como metilo.

El desplazamiento nucleófilo del ácido monoalquilfumárico con la 1-haloacetamida funcionalizada (Esquema 1) como se muestra en el Esquema 3 puede tener lugar en presencia de una base inorgánica tal como un carbonato de álcali tal como hidrogenocarbonato de cesio ( $\text{CsHCO}_3$ ), carbonato de cesio ( $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ ) o carbonato de potasio ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ). Opcionalmente, pueden emplearse bases terciarias orgánicas tales como trietilamina (TEA), diisopropilamina (DIEA) o amidina; bases basadas en guanidina tales como 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN) o 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), 1,1,3,3-tetrametilguanidina (TMG); sales de plata tales como óxido de plata (I) ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ) o carbonato de plata (I) ( $\text{Ag}_2\text{CO}_3$ ); u otros secuestrantes de haluro conocidos en la técnica. Las sales de álcali, tri- y tetraalquilamonio, amidina o guanida correspondientes del fumarato de monoalquilo pueden generarse *in situ* o, alternativamente, pueden prepararse por separado. La reacción puede tener lugar en un disolvente inerte tal como *N,N*-dimetilformamida (DMF), *N*-metilpirrolidona (NMP), *N,N*-dimetilacetamida (DMA, DMAc), sulfóxido de dimetilo (DMSO), tetrahidrofurano (THF), tolueno, o mezclas de cualquiera de los anteriores, a una temperatura apropiada tal como de aproximadamente temperatura ambiente a aproximadamente 70 °C.

Los profármacos de MHF de acetamida de fórmula (I) también pueden prepararse según el Esquema 4:



Esquema 4

en la que Y es un grupo saliente adecuado tal como halógeno, una *O*-acilisourea, diversos ésteres de triazolol, u otros; y  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^3$ ,  $R^4$  y  $R^5$  son como se definen en el presente documento. En ciertas realizaciones del Esquema 4, Y es cloro y  $R^5$  es alquilo tal como metilo.

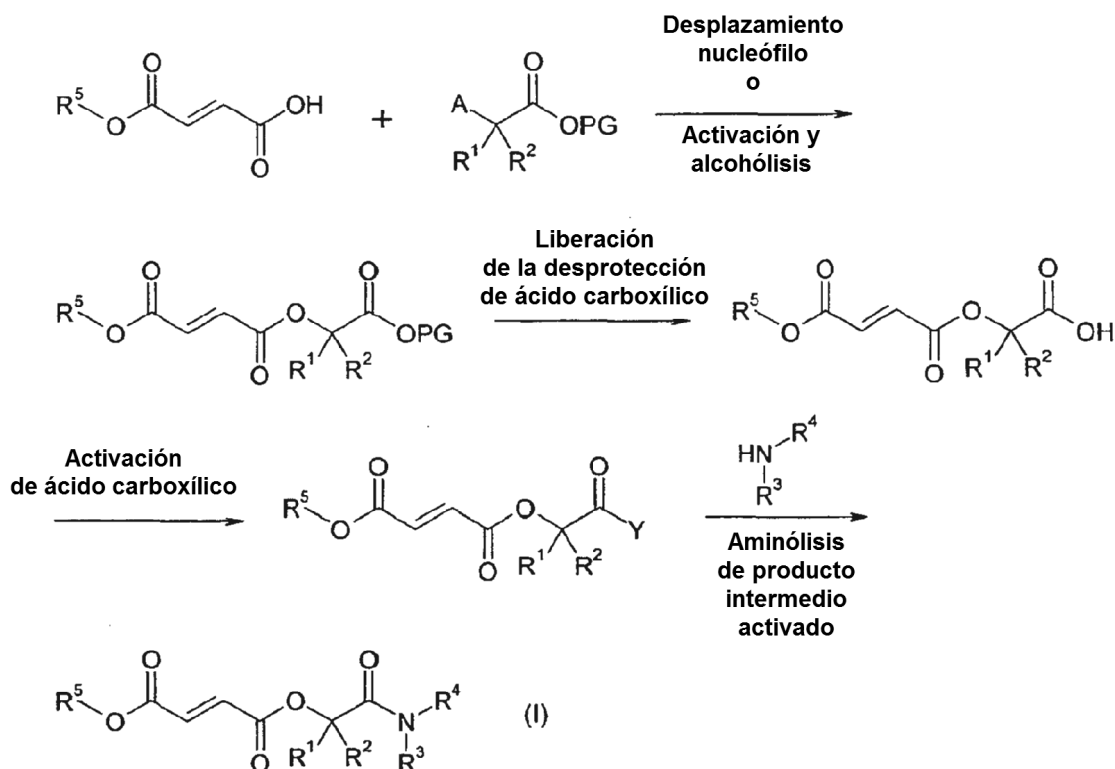
La activación química del ácido carboxílico al cloruro de ácido carboxílico correspondiente como se muestra en el Esquema 4 puede llevarse a cabo mediante reacción con un agente de cloración tal como cloruro de tionilo ( $\text{SOCl}_2$ ),

cloruro de oxalilo ( $C_2O_2Cl_2$ ), pentacloruro fosforoso ( $PCl_5$ ), u otros, opcionalmente en presencia de un catalizador tal como *N,N*-dimetilformamida (DMF), y tanto en sustancia (ausencia de disolvente) como en un disolvente orgánico inerte tal como diclorometano (DCM) a una temperatura apropiada tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 70 °C. La activación química del ácido carboxílico como se muestra en el Esquema 4 puede realizarse *in situ* sin aislar el sustrato activado antes de la posterior etapa de alcoholisis. Opcionalmente, el cloruro de ácido carboxílico activado puede aislarse y/o purificarse usando procedimientos muy conocidos en la técnica, es decir, destilación fraccionada.

Alternativamente, agentes de deshidratación de carbodiimida tales como *N,N*-diisopropilcarbodiimida (DIC), *N,N*-dicitclohexilcarbodiimida (DCC) o 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDAC, EDC), opcionalmente en presencia de una cantidad catalítica o estequiométrica de un aditivo tal como 4-*N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP) (condiciones de esterificación de *Steglich*), 1-hidroxibenzotriazol (HOBt), 1-hidroxi-7-aza-benzotriazol (HOAt) o *N*-hidroxisuccinimida (HOSu); una sal de uronio o fosfonio con aniones no nucleófilos tales como hexafluorofosfato de *N*-[(1*H*-benzotriazol-1-il)(dimetilamino)metileno]-*N*-metilmetanaminio (HBTU), *N*-óxido de hexafluorofosfato de *N*-[(dimetilamino)-1*H*-1,2,3-triazolo[4,5-*b*]piridin-1-ilmetileno]-*N*-metilmetanaminio (HATU), tetrafluoroborato de *N*-[(1*H*-benzotriazol-1-il)(dimetilamino)metileno]-*N*-metilmetanaminio (TBTU) o hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxitripirrolidinofosfonio (PyBOP), pueden emplearse para formar un derivado de fumarato de monoalquilo activado. Opcionalmente también pueden emplearse bases terciarias orgánicas tales como trietilamina (TEA) o dietilaminoetilamina (DIEA). La formación de derivados de fumarato de monoalquilo activados puede tener lugar en un disolvente inerte tal como diclorometano (DCM), *N,N*-dimetilformamida (DMF), *N*-metilpirrolidona (NMP), *N,N*-dimetilacetamida (DMA, DMAc), o mezclas de cualquiera de los anteriores, a una temperatura apropiada tal como de aproximadamente temperatura ambiente a aproximadamente 70 °C.

La alcoholisis del derivado de fumarato de monoalquilo activado con un derivado de hidroxiacetamida funcionalizado (Esquema 2) puede tener lugar en presencia de una base, por ejemplo, una base terciaria orgánica tal como, trietilamina (TEA), dietilaminoetilamina (DIEA) o piridina, opcionalmente en presencia de un aditivo tal como un catalizador de acilación nucleófila, es decir, 4-*N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP) (condiciones de esterificación de *Steglich*), y en el mismo disolvente inerte u otro como se usa para la etapa de activación tal como diclorometano (DCM), *N,N*-dimetilformamida (DMF), *N*-metilpirrolidona (NMP), *N,N*-dimetilacetamida (DMA, DMAc), o mezclas de cualquiera de los anteriores, a una temperatura apropiada tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 70 °C.

Los profármacos de MHF de acetamida de fórmula (I) también pueden prepararse según el Esquema 5:



Esquema 5

en la que A es tanto un grupo saliente tal como halógeno como un grupo de acoplamiento nucleófilo tal como hidroxilo; Y es un grupo saliente tal como halógeno, una O-acilisourea, diversos ésteres de triazolol, u otros; PG es un grupo protector de carboxilo; y R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> son como se definen en el presente documento. En ciertas realizaciones del Esquema 5, X es bromo, PG es *tert*-butilo, cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno, y el electrófilo es bromoacetato de *tert*-butilo. En ciertas realizaciones del Esquema 5, Y es cloro u O-acilisourea derivada de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDAC), y R<sup>5</sup> es alquilo tal como metilo.

La reacción de desplazamiento nucleófilo del ácido monoalquilfumárico con un derivado del ácido 1-haloacético protegido y funcionalizado, es decir, bromoacetato de *tert*-butilo comercialmente disponible u otros, puede tener lugar usando procedimientos y condiciones de reacción similares a aquellos descritos en el Esquema 3 para la formación directa de profármacos de MHF de acetamida funcionalizados de fórmula (I) a partir de un ácido monoalquilfumárico y una 1-haloacetamida apropiadamente funcionalizada.

La alcoholisis de un derivado del ácido monoalquilfumárico activado intermedio y un derivado del ácido 1-hidroxiacético protegido y funcionalizado puede tener lugar usando procedimientos y condiciones de reacción similares a aquellos usados en el Esquema 4 para la formación directa de profármacos de MHF de acetamida funcionalizados de fórmula (I) a partir de un ácido monoalquilfumárico y una 1-hidroxiacetamida apropiadamente funcionalizada.

La desprotección ortogonal (u ordenada) de un derivado del ácido acético funcionalizado con ácido monoalquilfumárico protegido libera el producto intermedio de éster de fumarato de monoalquilo libre correspondiente que lleva un resto de ácido carboxílico libre. Si el grupo protector es un grupo *tert*-butilo, la desprotección puede llevarse a cabo poniendo en contacto el derivado del ácido fumárico protegido con *tert*-butilo con un exceso de un ácido de Brønsted fuerte tal como ácido trifluoroacético (TFA) o cloruro de hidrógeno (HCl) en un disolvente inerte tal como diclorometano (DCM), éter dietílico (Et<sub>2</sub>O), 1,4-dioxano, o mezclas de cualquiera de los anteriores, a una temperatura apropiada tal como de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 40 °C.

La activación química del derivado hidroxiacético funcionalizado con fumarato de monoalquilo liberado (ácido carboxílico) al derivado del ácido carboxílico activado correspondiente, es decir, cloruro de ácido carboxílico, O-acilisourea, ésteres activados, etc., puede llevarse a cabo usando procedimientos y condiciones de reacción similares a aquellos descritos en el Esquema 4 para la activación de la formación directa de ácido monoalquilfumárico de profármacos de MHF de acetamida funcionalizada de fórmula (I) a partir del ácido monoalquilfumárico y la hidroxilacetamida funcionalizada correspondiente.

La aminólisis de derivados hidroxiacéticos funcionalizados con fumarato de monoalquilo activados generados *in situ* o aislados con aminas funcionalizadas (HNR<sup>3</sup>R<sup>4</sup>) puede tener lugar usando procedimientos y condiciones de reacción similares a aquellos descritos en los Esquemas 1 y 2 para la aminólisis de derivados del ácido hidroxiacético protegidos, adecuadamente funcionalizados y activados.

#### 40 **Composiciones farmacéuticas**

Las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente divulgación pueden comprender una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) junto con una cantidad adecuada de uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables de manera que se proporcione una composición para la adecuada administración a un paciente. Vehículos farmacéuticos adecuados se describen en la materia.

En ciertas realizaciones, un compuesto de fórmula (I) puede incorporarse en composiciones farmacéuticas para administrarse por vía oral. La administración por vía oral de tales composiciones farmacéuticas puede producir captación de un compuesto de fórmula (I) mediante el intestino y entrada en la circulación sistémica. Tales composiciones orales pueden prepararse de un modo conocido en la técnica farmacéutica y comprender un compuesto de fórmula (I) y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable. Composiciones farmacéuticas orales pueden incluir una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) y una cantidad adecuada de un vehículo farmacéuticamente aceptable, de manera que se proporcione una forma apropiada para administración a un paciente.

Los compuestos de fórmula (I) pueden incorporarse en composiciones farmacéuticas para administrarse por cualquier otra vía de administración apropiada que incluye intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, oral, sublingual, intracerebral, intravaginal, transdérmica, rectal, inhalación o tópica.

Las composiciones farmacéuticas comprenden un compuesto de fórmula (I) y pueden fabricarse por medio de procedimientos convencionales de mezcla, disolución, granulación, preparación de comprimidos recubiertos de azúcar, trituración, emulsión, encapsulación, atrapamiento o liofilización. Las composiciones farmacéuticas pueden formularse de un modo convencional usando uno o más vehículos, diluyentes, excipientes o auxiliares fisiológicamente aceptables, que facilitan el procesamiento de los compuestos de fórmula (I) o formas cristalinas de los mismos y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables en formulaciones que pueden usarse farmacéuticamente. La formulación apropiada depende de la vía de administración elegida. Composiciones

farmacéuticas proporcionadas por la presente divulgación pueden tomar la forma de disoluciones, suspensiones, emulsión, comprimidos, píldoras, pellas, cápsulas, cápsulas que contienen líquidos, polvos, formulaciones de liberación sostenida, supositorios, emulsiones, aerosoles, esprays, suspensiones, o cualquier otra forma adecuada para administración a un paciente.

5 Las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente divulgación pueden formularse en una forma de dosificación unitaria. Una forma de dosificación unitaria se refiere a una unidad físicamente discreta adecuada como dosis unitaria para pacientes que reciben tratamiento, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de un compuesto de fórmula (I) calculada para producir un efecto terapéutico previsto. Una forma de dosificación unitaria puede ser para una dosis diaria única, para administración 2 veces al día, o una de múltiples dosis diarias, por ejemplo, 3 o más veces al día. Si se usan múltiples dosis diarias, una forma de dosificación unitaria puede ser igual o diferente para cada dosis. Una o más formas de dosificación pueden comprender una dosis, que puede administrarse a un paciente en un único momento en el tiempo o durante un intervalo de tiempo.

15 Las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) pueden formularse para liberación inmediata.

20 En ciertas realizaciones, una forma de dosificación oral proporcionada por la presente divulgación puede ser una forma de dosificación de liberación controlada. Las tecnologías de liberación controlada pueden mejorar la absorción de un fármaco en una región particular o regiones del tubo gastrointestinal. Los sistemas de administración de fármacos controlada pueden diseñarse para administrar un fármaco de tal forma que el nivel de fármaco se mantenga dentro de una ventana terapéuticamente eficaz y se mantengan niveles en sangre eficaces y seguros durante un periodo en tanto que el sistema siga administrando el fármaco con un perfil de liberación particular en el tubo gastrointestinal. La administración de fármacos controlada puede producir niveles en sangre sustancialmente constantes de un fármaco durante un periodo de tiempo con respecto a fluctuaciones observadas con las formas de dosificación de liberación inmediata. Para algunos fármacos, mantener una concentración en sangre y tejido constante durante el transcurso de la terapia es el modo de tratamiento más deseable. La liberación inmediata de fármacos puede hacer que los niveles en sangre alcancen niveles por encima del nivel requerido para provocar una respuesta deseada, que puede desaprovechar el fármaco y puede producir o agravar efectos secundarios tóxicos. La administración controlada de fármacos puede producir terapia óptima, y no solo puede reducir la frecuencia de dosificación, sino también reducir la gravedad de los efectos secundarios. Ejemplos de formas de dosificación de liberación controlada incluyen sistemas controlados de solución, sistemas controlados de difusión, resinas de intercambio iónico, sistemas osmóticamente controlados, sistemas de matriz erosionable, formulaciones independientes del pH, sistemas de retención gástrica, y similares.

35 Una forma de dosificación oral apropiada para una composición farmacéutica particular proporcionada por la presente divulgación puede depender, al menos en parte, de las propiedades de absorción gastrointestinal de un compuesto de fórmula (I), la estabilidad de un compuesto de fórmula (I) en el tubo gastrointestinal, la farmacocinética de un compuesto de fórmula (I) y el perfil terapéutico previsto. Una forma de dosificación oral de liberación controlada apropiada puede seleccionarse para un compuesto particular de fórmula (I). Por ejemplo, formas de dosificación orales de retención gástrica pueden ser apropiadas para compuestos absorbidos principalmente del tubo gastrointestinal superior, y formas de dosificación oral de liberación sostenida pueden ser apropiadas para compuestos absorbidos principalmente del tubo gastrointestinal inferior. Ciertos compuestos son principalmente absorbidos del intestino delgado. En general, los compuestos atraviesan la longitud del intestino delgado en aproximadamente 3 a 5 horas. Para compuestos que no son fácilmente absorbidos por el intestino delgado o que no se disuelven fácilmente, la ventana para la absorción de agente activo en el intestino delgado puede ser demasiado corta para proporcionar un efecto terapéutico deseado.

50 En ciertas realizaciones, las composiciones farmacéuticas proporcionadas por la presente divulgación pueden ponerse en práctica con formas de dosificación adaptadas para proporcionar la liberación sostenida de un compuesto de fórmula (I) tras la administración por vía oral. Las formas de dosificación oral de liberación sostenida pueden usarse para liberar fármacos durante un periodo de tiempo prolongado y son útiles cuando se desea que un fármaco o forma de fármaco se administre al tubo gastrointestinal inferior. Las formas de dosificación oral de liberación sostenida incluyen cualquier forma de dosificación oral que mantenga concentraciones terapéuticas de un fármaco en un líquido biológico tal como plasma, sangre, líquido cefalorraquídeo, o en un tejido u órgano durante un periodo de tiempo prolongado. Las formas de dosificación oral de liberación sostenida incluyen sistemas controlados por difusión tales como dispositivos de depósito y dispositivos de matriz, sistemas controlados por solución, sistemas osmóticos y sistemas controlados por erosión. Las formas de dosificación oral de liberación sostenida y procedimientos de preparación de las mismas son muy conocidos en la técnica.

60 Una dosis apropiada de un compuesto de fórmula (I) o composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) puede determinarse según uno cualquiera de varios protocolos bien establecidos. Por ejemplo, pueden usarse estudios en animales tales como estudios usando ratones, ratas, perros y/o monos para determinar una dosis apropiada de un compuesto farmacéutico. Resultados de estudios en animales pueden extrapolarse para determinar dosis para su uso en otras especies tales como, por ejemplo, seres humanos.

65

## Usos

Los compuestos de fórmula (I) son profármacos de MHF. Así, los compuestos de fórmula (I) y composiciones farmacéuticas de los mismos pueden administrarse a un paciente que padece cualquier enfermedad que incluye un trastorno, afección o síntoma para el que se sabe o se descubre más adelante que MHF es terapéuticamente eficaz. Indicaciones para las que se ha recetado MHF, y de ahí para las que un compuesto de fórmula (I), o composiciones farmacéuticas del mismo, también se espera que sean eficaces, incluyen psoriasis. Otras indicaciones para las que los compuestos de fórmula (I) pueden ser terapéuticamente eficaces incluyen esclerosis múltiple, una enfermedad inflamatoria del intestino, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y artritis.

Procedimientos para tratar una enfermedad en un paciente proporcionados por la presente divulgación comprenden administrar a un paciente en necesidad de tal tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un profármaco de MHF de fórmula (I). Compuestos de fórmula (I) o composiciones farmacéuticas de los mismos pueden proporcionar concentraciones de MHF en plasma y/o sangre terapéuticas o profilácticas tras la administración a un paciente.

Los profármacos de MHF de fórmula (I) pueden incluirse en una composición farmacéutica y/o forma de dosificación adaptada para administración por vía oral, aunque el profármaco de MHF de fórmula (I) también puede administrarse por cualquier otra vía apropiada, tal como, por ejemplo, mediante inyección, infusión, inhalación, transdérmica, o absorción a través de las membranas epiteliales o mucosas (por ejemplo, mucosa oral, rectal y/o intestinal).

Los profármacos de MHF de fórmula (I) pueden administrarse en una cantidad y usando una programa de dosificación según convenga para el tratamiento de una enfermedad particular. Dosis diarias de un profármaco de MHF de fórmula (I) pueden oscilar de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, de aproximadamente 0,1 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, de aproximadamente 1 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg, y en ciertas realizaciones, de aproximadamente 5 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg. En ciertas realizaciones, los profármacos de MHF de fórmula (I) pueden administrarse a una dosis con el tiempo de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 5 g por día, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 4 g por día, y en ciertas realizaciones de aproximadamente 20 mg a aproximadamente 2 g por día. Una dosis apropiada de un profármaco de MHF de fórmula (I) puede determinarse basándose en varios factores, que incluyen, por ejemplo, el peso corporal y/o afección del paciente que está tratándose, la gravedad de la enfermedad que está tratándose, la incidencia y/o gravedad de efectos secundarios, el modo de administración y el criterio del médico que receta. Pueden determinarse intervalos de dosis apropiados mediante procedimientos conocidos para aquellos expertos en la materia.

Los profármacos de MHF de fórmula (I) pueden ensayarse *in vitro* e *in vivo* para la actividad terapéutica o profiláctica deseada antes de uso en seres humanos. También pueden usarse ensayos *in vivo*, por ejemplo, usando modelos animales apropiados, para determinar si la administración de un profármaco de MHF de fórmula (I) es o no terapéuticamente eficaz.

En ciertas realizaciones, una dosis terapéuticamente eficaz de un profármaco de MHF de fórmula (I) puede proporcionar beneficio terapéutico sin causar toxicidad sustancial que incluye efectos secundarios adversos. La toxicidad de profármacos de MHF de fórmula (I) y/o metabolitos de los mismos puede determinarse usando procedimientos farmacéuticos convencionales y puede determinarse por aquellos expertos en la materia. La relación de dosis entre efecto tóxico y terapéutico es el índice terapéutico. Una dosis de un profármaco de MHF de fórmula (I) puede estar dentro de un intervalo que puede establecer y mantener una concentración en plasma y/o sangre circulante terapéuticamente eficaz de un profármaco de MHF de fórmula (I) que presenta poca o ninguna toxicidad.

El profármaco de MHF de fórmula (I) puede usarse para tratar enfermedades, trastornos, afecciones y síntomas de cualquiera de los anteriores para los que se sabe que MHF proporciona o se encuentra después que proporciona beneficio terapéutico. Se sabe que el MHF es eficaz en el tratamiento de psoriasis, esclerosis múltiple, una enfermedad inflamatoria del intestino, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y artritis. Por tanto, los profármacos de MHF de fórmula (I) pueden usarse para tratar cualquiera de las enfermedades y trastornos anteriores. La etiología subyacente de cualquiera de las enfermedades anteriores que está tratándose puede tener una multiplicidad de orígenes. Además, en ciertas realizaciones, una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos de fórmula (I) puede administrarse a un paciente, tal como un ser humano, como medida preventiva contra diversas enfermedades o trastornos. Así, una cantidad terapéuticamente eficaz de uno o más compuestos de fórmula (I) puede administrarse como medida preventiva a un paciente que tiene una predisposición para y/o historia de enfermedades inmunológicas, autoinmunitarias y/o inflamatorias que incluye psoriasis, asma y enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, insuficiencia cardíaca que incluye insuficiencia ventricular izquierda, infarto de miocardio y angina de pecho, enfermedades mitocondriales y neurodegenerativas tales como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, retinopatía pigmentosa y encefalomiopatía mitocondrial, rechazo de trasplante, enfermedades autoinmunitarias que incluyen esclerosis múltiple, isquemia y lesión por reperusión, daño del genoma inducido por AGE, enfermedades inflamatorias del intestino tales como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa; y enfermedades mediadas por NF- $\kappa$ B.

*Psoriasis*

La psoriasis se caracteriza por hiperqueratosis y engrosamiento de la epidermis, además de por elevada vascularidad e infiltración de células inflamatorias en la dermis. La psoriasis vulgar se manifiesta como placas eritematosas escamosas plateadas sobre normalmente el cuero cabelludo, codos, rodillas y nalgas. La psoriasis se produce como lesiones de tamaño de una lágrima.

Los ésteres de ácido fumárico son reconocidos para el tratamiento de psoriasis y el fumarato de dimetilo se ha autorizado para el tratamiento sistémico de psoriasis en Alemania (Mrowietz y Asadullah, Trends Mol Med 2005, 11(1), 43-48; y Mrowietz y col., Br J Dermatology 1999, 141, 424-429).

La eficacia de profármacos de MHF para tratar psoriasis puede determinarse usando modelos animales y en ensayos clínicos.

*Artritis inflamatoria*

La artritis inflamatoria incluye enfermedades tales como artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil (artritis idiopática juvenil), artritis psoriásica y la espondilitis anquilosante produce inflamación de las articulaciones. Se cree que la patogénesis de las enfermedades inflamatorias inmunomediadas que incluyen artritis inflamatoria implica rutas de señalización de TNF y NK-κB (Tracey y col., Pharmacology & Therapeutics 2008, 117, 244-279). Se ha mostrado que DMF inhibe TNF y enfermedades inflamatorias que incluyen artritis inflamatoria que se cree que implican la señalización de TNF y NK-κB y, por tanto, pueden ser útiles en el tratamiento de artritis inflamatoria (Lowewe y col., J Immunology 2002, 168, 4781-4787).

La eficacia de profármacos de MHF para tratar artritis inflamatoria puede determinarse usando modelos animales y en ensayos clínicos.

*Esclerosis múltiple*

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad autoinmunitaria inflamatoria del sistema nervioso central producida por un ataque autoinmunitario contra las hojas de mielina axónica aislantes del sistema nervioso central. La desmielinización conduce a la rotura de la conducción y a grave enfermedad con destrucción de axones locales y muerte celular neuronal irreversible. Los síntomas de la EM varían mucho con cada paciente individual presentando un patrón particular de perturbaciones motoras, sensibles y sensoriales. La EM se tipifica patológicamente por múltiples focos inflamatorios, placas de desmielinización, gliosis y patología axónica dentro del cerebro y médula espinal, todos los cuales contribuyen a las manifestaciones clínicas de incapacidad neurológica (véase, por ejemplo, Wingerchuk, Lab Invest 2001, 81, 263-281; y Virley, NeuroRx 2005, 2(4), 638-649). Aunque los eventos causales que precipitan la EM no son completamente entendidos, la evidencia implica una etiología autoinmunitaria junto con factores medioambientales, además de predisposiciones genéticas específicas. La alteración funcional, incapacidad y minusvalía se expresan como parálisis, alteraciones sensoriales y cognitivas, espasticidad, temblor, una falta de coordinación y deterioro visual, que afectan la calidad de vida del individuo. La evolución clínica de la EM puede variar de individuo a individuo, pero invariablemente la enfermedad puede clasificarse en tres formas: recidivante-remitente, secundaria progresiva y primaria progresiva.

Estudios respaldan la eficacia de EAF para tratar EM y están sometiéndose a prueba clínica de fase II (Schimrigk y col., Eur J Neurology 2006, 13, 604-610; y Wakkee y Thio, Current Opinion Investigational Drugs 2007, 8(11), 955-962).

La evaluación de la eficacia del tratamiento de EM en ensayos clínicos puede llevarse a cabo usando herramientas tales como la Escala ampliada del estado de discapacidad y la funcional de EM, además de carga de lesión por obtención de imágenes de resonancia magnética, biomarcadores y calidad de vida auto-informada. Modelos animales de EM que mostraron ser útiles para identificar y validar posibles terapéuticos incluyen modelos de roedor de encefalomiélitis autoinmunitaria/alérgica experimental (EAE) que simulan las manifestaciones clínicas y patológicas de EM y modelos de EAE en primates no humanos.

*Enfermedad inflamatoria del intestino (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa)*

La enfermedad inflamatoria del intestino (EII) es un grupo de afecciones inflamatorias del intestino grueso y, en algunos casos, el intestino delgado, que incluyen enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa. La enfermedad de Crohn, que se caracteriza por áreas de inflamación con áreas de revestimiento normales entremedias, puede afectar cualquier parte del tubo gastrointestinal desde la boca hasta el ano. Los principales síntomas gastrointestinales son dolor abdominal, diarrea, estreñimiento, vómitos, pérdida de peso y/o aumento de peso. La enfermedad de Crohn también puede producir erupciones cutáneas, artritis e inflamación del ojo. La colitis ulcerosa se caracteriza por úlceras o heridas abiertas en el intestino grueso o colon. El principal síntoma de la colitis ulcerosa es normalmente diarrea constante con sangre mezclada de aparición gradual. Otros tipos de enfermedad del intestino intestinal incluyen colitis colagenosa, colitis linfocítica, colitis isquémica, colitis por derivación, colitis de Behcet y colitis

indeterminada.

Los EAF son inhibidores de la activación de NF- $\kappa$ B y, por tanto, pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades inflamatorias tales como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa (Atreya y col., J Intern Med 2008, 263(6), 59106).

5 La eficacia de los profármacos de MHF para tratar enfermedad inflamatoria del intestino puede evaluarse usando modelos animales y en ensayos clínicos. Se conocen modelos animales útiles de enfermedad inflamatoria del intestino.

#### 10 *Asma*

El asma es la obstrucción reversible de las vías respiratorias en la que las vías respiratorias se estrechan ocasionalmente, se inflaman y se revisten con una excesiva cantidad de moco. Los síntomas del asma incluyen disnea, sibilancias, opresión en el pecho y tos. Pueden inducirse episodios de asma por alérgenos transmitidos por el aire, alergias alimentarias, medicaciones, irritantes inhalados, ejercicio físico, infección respiratoria, estrés psicológico, cambios hormonales, clima frío, u otros factores.

20 Como inhibidor de la activación de NF- $\kappa$ B y como se muestra en estudios animales (Joshi y col., documento US 2007/0027076), los EAF pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades pulmonares tales como asma y trastorno pulmonar obstructivo crónico.

La eficacia de los profármacos de MHF de fórmula (I) para tratar asma puede evaluarse usando modelos animales y en ensayos clínicos.

#### 25 *Enfermedad pulmonar obstructiva crónica*

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), también conocida como enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias, es un grupo de enfermedades caracterizado por la limitación patológica del flujo de aire en las vías respiratorias que no es completamente reversible, e incluye afecciones tales como bronquitis crónica, enfisema, además de otros trastornos pulmonares tales como asbestosis, neumoconiosis y neoplasias pulmonares (véase, por ejemplo, Barnes, Pharmacological Reviews 2004, 56(4), 515-548). La limitación del flujo de aire es normalmente progresiva y está asociada a una respuesta inflamatoria anormal de los pulmones a partículas y gases nocivos. La EPOC se caracteriza por una disnea que dura meses o años, posiblemente acompañada de sibilancias, y una tos persistente con producción de esputo. La EPOC se produce casi siempre por fumar tabaco, aunque también puede producirse por otros irritantes transmitidos por el aire tales como polvo de carbón, asbestos, polución urbana o disolventes. La EPOC engloba bronquiolitis obstructiva crónica con fibrosis y obstrucción de pequeñas vías respiratorias, y enfisema con alargamiento de los espacios de aire y destrucción del parénquima pulmonar, pérdida de elasticidad pulmonar y cierre de pequeñas vías respiratorias.

40 La eficacia de la administración de al menos un compuesto de fórmula (I) para tratar enfermedad pulmonar obstructiva crónica puede evaluarse usando modelos animales de enfermedad pulmonar obstructiva crónica y en estudios clínicos. Por ejemplo, se conocen modelos murinos de enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

#### 45 *Trastornos neurodegenerativos*

Las enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington y esclerosis lateral amiotrófica se caracterizan por disfunción progresiva y muerte neuronal. Se ha propuesto la inhibición de NF- $\kappa$ B como diana terapéutica para enfermedades neurodegenerativas (Camandola y Mattson, Expert Opin Ther Targets 2007, 11(2), 123-32).

#### 50 *Enfermedad de Parkinson*

La enfermedad de Parkinson es un trastorno degenerativo lentamente progresivo del sistema nervioso caracterizado por temblor cuando los músculos están en reposo (temblor de reposo), lentitud de movimientos voluntarios y elevado tono muscular (rigidez). En la enfermedad de Parkinson, las células nerviosas en los ganglios basales, por ejemplo, sustancia negra, se degeneran, y así reducen la producción de dopamina y el número de conexiones entre células nerviosas en los ganglios basales. Como resultado, los ganglios basales son incapaces de mover los músculos lisos y de coordinar cambios en la postura como es normal, conduciendo a temblor, falta de coordinación y movimiento reducido lento (bradicinesia) (Blandini, y col., Mol. Neurobiol. 1996, 12, 73-94).

60 La eficacia de los compuestos de fórmula (I) para tratar enfermedad de Parkinson puede evaluarse usando modelos animales y humanos de enfermedad de Parkinson y en estudios clínicos.

*Enfermedad de Alzheimer*

La enfermedad de Alzheimer es una pérdida progresiva de la función mental caracterizada por degeneración de tejido cerebral, que incluye pérdida de células nerviosas y el desarrollo de placas seniles y ovillos neurofibrilares. En la enfermedad de Alzheimer, partes del cerebro se degeneran, destruyendo las células nerviosas y reduciendo la sensibilidad de las neuronas de mantenimiento a neurotransmisores. Las anomalías en el tejido cerebral consisten en placas seniles o neuríticas, por ejemplo, grupos de células nerviosas muertas que contienen una proteína insoluble anormal llamada amiloide, y ovillos neurofibrilares, hebras retorcidas de proteínas insolubles en la célula nerviosa.

La eficacia de los compuestos de fórmula (I) para tratar enfermedad de Alzheimer puede evaluarse usando modelos animales y humanos de enfermedad de Alzheimer y en estudios clínicos.

*Enfermedad de Huntington*

La enfermedad de Huntington es un trastorno neurodegenerativo dominante autosómico en el que se produce muerte celular específica en el neocórtex y corteza (Martin, N Engl J Med 1999, 340, 1970-80). La aparición normalmente se produce durante la cuarta o quinta década de vida, con una supervivencia media a la edad de aparición de 14 a 20 años. La enfermedad de Huntington es universalmente letal, y no hay tratamiento eficaz. Los síntomas incluyen un trastorno de movimiento característico (enfermedad de Huntington), disfunción cognitiva y síntomas psiquiátricos. La enfermedad se produce por una mutación que codifica una expansión anormal de repeticiones de poliglutamina codificadas por CAG en la proteína huntingtina.

La eficacia de los compuestos de fórmula (I) para tratar enfermedad de Huntington puede evaluarse usando modelos animales y humanos de enfermedad de Huntington y en estudios clínicos.

*Esclerosis lateral amiotrófica*

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es un trastorno neurodegenerativo progresivo caracterizado por la pérdida progresiva y específica de neuronas motoras en el cerebro, tronco encefálico y médula espinal (Rowland y Schneider, N Engl J Med 2001, 344, 1688-1700). La ELA empieza con debilidad, frecuentemente en las manos y menos frecuentemente en los pies, que generalmente avanza hacia un brazo o pierna. Con el tiempo, la debilidad aumenta y se desarrolla espasticidad caracterizada por fasciculaciones y contracciones musculares, seguido de espasmos musculares y posiblemente temblores. La edad promedio de aparición es 55 años, y la esperanza de vida promedio después de la aparición clínica es 4 años. El único tratamiento reconocido para la ELA es riluzol, que pueden prolongar la supervivencia solo aproximadamente tres meses.

Los compuestos de eficacia de fórmula (I) para tratar ELA pueden evaluarse usando modelos animales y humanos de ELA y en estudios clínicos.

## Otros

Otras enfermedades y afecciones para las que los compuestos de fórmula (I) pueden ser útiles en el tratamiento incluyen reuma, granuloma anular, lupus, carditis autoinmunitaria, eccema, sarcoidosis, y enfermedades autoinmunitarias que incluyen encefalomiелitis diseminada aguda, enfermedad de Addison, alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípido, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune, enfermedad del oído interno autoinmunitaria, pénfigo bulloso, enfermedad de Behcet, celiacía, enfermedad de Chagas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Crohn, dermatomiositis, diabetes mellitus tipo I, endometriosis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barre, enfermedad de Hashimoto, hidradenitis supurativa, enfermedad de Kawasaki, neuropatía por IgA, púrpura trombocitopénica idiopática, cistitis intersticial, lupus eritematoso, enfermedad mixta del tejido conjuntivo, morfea, esclerosis múltiple, miastenia grave, narcolepsia, neuromiotonía, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, psoriasis, artritis psoriásica, polimiositis, cirrosis biliar primaria, artritis reumatoide, esquizofrenia, esclerodermia, síndrome de Sjogren, síndrome de la persona rígida, arteritis temporal, colitis ulcerosa, vasculitis, vitiligo y granulomatosis de Wegener.

**Administración**

Los profármacos de MHF de fórmula (I) y composiciones farmacéuticas de los mismos pueden administrarse por vía oral o por cualquier otra vía apropiada, por ejemplo, por infusión o inyección en bolo, por absorción a través de los revestimientos epiteliales o mucocutáneos (por ejemplo, mucosa oral, mucosa rectal e intestinal, etc.). Otras vías de administración adecuadas incluyen, pero no se limitan a, intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, intranasal, epidural, oral, sublingual, intracerebral, intravaginal, transdérmica, rectal, inhalación o tópica.

La administración puede ser sistémica o local. Se conocen diversos sistemas de administración, por ejemplo, encapsulación en liposomas, micropartículas, microcápsulas, cápsulas, etc.) que pueden usarse administrando un compuesto y/o composición farmacéutica.



La cantidad de un profármaco de MHF de fórmula (I) que será eficaz en el tratamiento de una enfermedad en un paciente dependerá, en parte, de la naturaleza de la afección y puede determinarse por técnicas clínicas convencionales conocidas en la técnica. Además, pueden emplearse ensayos *in vitro* o *in vivo* para ayudar a identificar intervalos de dosificación óptimos. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un profármaco de MHF de fórmula (I) que va a administrarse puede también depender de, entre otros factores, el sujeto que está tratándose, el peso del sujeto, la gravedad de la enfermedad, el modo de administración y el criterio del médico prescriptor.

Para administración sistémica, una dosis terapéuticamente eficaz puede estimarse inicialmente a partir de ensayos *in vitro*. Por ejemplo, una dosis puede formularse en modelos animales para lograr un beneficioso intervalo de concentración de la composición circulante. También pueden estimarse dosis iniciales de datos *in vivo*, por ejemplo, modelos animales, usando técnicas que se conocen en la técnica. Tal información puede usarse para determinar con más exactitud dosis útiles en seres humanos. Un experto habitual en la materia puede optimizar la administración a seres humanos basándose en datos animales.

Una dosis puede administrarse en una única forma de dosificación o en múltiples formas de dosificación. Cuando se usan múltiples formas de dosificación, la cantidad de compuesto contenido dentro de cada forma de dosificación puede ser igual o diferente. La cantidad de un profármaco de MHF de fórmula (I) contenida en una dosis puede depender de la vía de administración y de si la enfermedad en un paciente es o no eficazmente tratada por administración aguda, crónica, o una combinación de aguda y crónica.

En ciertas realizaciones, una dosis administrada es inferior a una dosis tóxica. La toxicidad de las composiciones descritas en el presente documento puede determinarse mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales experimentales, por ejemplo, determinando la DL<sub>50</sub> (la dosis letal para el 50 % de la población) o la DL<sub>100</sub> (la dosis letal para el 100 % de la población). La relación de dosis entre efecto tóxico y terapéutico es el índice terapéutico. En ciertas realizaciones, un profármaco de MHF puede presentar un alto índice terapéutico. Los datos obtenidos de estos ensayos de cultivos celulares y estudios animales pueden usarse en la formulación de un intervalo de dosificación que es no tóxico para su uso en seres humanos. Una dosis de un profármaco de MHF proporcionado por la presente divulgación puede estar dentro de un intervalo de concentraciones circulantes en, por ejemplo, sangre, plasma o sistema nervioso central, que incluyen la dosis eficaz y que presenta poca o ninguna toxicidad. Una dosis puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. En ciertas realizaciones, puede administrarse una dosis de aumento.

### **Terapia de combinación**

Procedimientos proporcionados por la presente divulgación comprenden además administrar uno o más compuestos farmacéuticamente activos, además de un profármaco de MHF de fórmula (I).

Tales compuestos pueden proporcionarse para tratar la misma enfermedad o una enfermedad diferente a la enfermedad que está tratándose con el profármaco de MHF de fórmula (I).

En ciertas realizaciones, un profármaco de MHF de fórmula (I) puede usarse en combinación con al menos otro agente terapéutico. En ciertas realizaciones, un profármaco de MHF de fórmula (I) puede administrarse a un paciente junto con otro compuesto para tratar enfermedades y afecciones que implican procesos inmunológicos, autoinmunitarios y/o inflamatorios que incluyen: psoriasis; asma, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas y artritis; insuficiencia cardíaca que incluye insuficiencia ventricular izquierda, infarto de miocardio y angina de pecho; enfermedades mitocondriales y neurodegenerativas tales como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, retinopatía pigmentosa y encefalomiopatía mitocondrial; rechazo de trasplante; enfermedades autoinmunitarias que incluyen esclerosis múltiple (EM); isquemia y lesión por reperfusión (daño del genoma inducido por AGE; y otras. En ciertas realizaciones, un profármaco de MHF de fórmula (I) puede administrarse a un paciente junto con otro compuesto para tratar psoriasis, esclerosis múltiple, una enfermedad inflamatoria del intestino, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y artritis.

Un profármaco de MHF de fórmula (I) y el al menos otro agente terapéutico pueden actuar aditivamente o, y en ciertas realizaciones, sinérgicamente. El al menos un agente terapéutico adicional puede incluirse en la misma forma de dosificación que un profármaco de MHF de fórmula (I) o puede proporcionarse en una forma de dosificación separada. Los procedimientos proporcionados por la presente divulgación pueden incluir adicionalmente, además de administrar un profármaco de MHF de fórmula (I), administrar uno o más agentes terapéuticos eficaces para tratar la misma enfermedad o enfermedad diferente de la enfermedad que está tratándose por un profármaco de MHF de fórmula (I). Procedimientos proporcionados por la presente divulgación incluyen administración de un profármaco de MHF de fórmula (I) y uno o varios de otros agentes terapéuticos a condición de que la administración combinada no inhiba la eficacia terapéutica del profármaco de MHF y/o no produzca normalmente efectos de combinación adversos significativos y/o sustanciales.

En ciertas realizaciones, formas de dosificación que comprenden un profármaco de MHF de fórmula (I) pueden administrarse simultáneamente con la administración de otro agente terapéutico, que puede ser parte de la misma

forma de dosificación como, o en una forma de dosificación diferente a la que comprende un profármaco de MHF de fórmula (I). Un profármaco de MHF de fórmula (I) puede administrarse antes o posterior a la administración de otro agente terapéutico. En ciertas realizaciones de terapia de combinación, la terapia de combinación puede comprender alternar entre administrar un profármaco de MHF de fórmula (I) y una composición que comprende otro agente terapéutico, por ejemplo, para minimizar efectos de fármacos adversos asociados a un fármaco particular. Si un profármaco de MHF de fórmula (I) se administra simultáneamente con otro agente terapéutico que posiblemente puede producir un efecto de fármaco adverso que incluye, pero no se limitan a, toxicidad, el otro agente terapéutico puede administrarse ventajosamente a una dosis que se encuentra por debajo del umbral al que se provoca la reacción adversa del fármaco.

En ciertas realizaciones, formas de dosificación que comprenden un profármaco de MHF de fórmula (I) pueden administrarse con una o más sustancias para potenciar, modular y/o controlar la liberación, biodisponibilidad, eficacia terapéutica, potencia terapéutica, estabilidad, y similares, de un profármaco de MHF de fórmula (I). Por ejemplo, para potenciar la eficacia terapéutica de un ligando de profármaco de MHF de fórmula (I), el profármaco de MHF de fórmula (I) puede co-administrarse con o una forma de dosificación que comprende un profármaco de MHF de fórmula (I) puede comprender uno o más agentes activos para aumentar la absorción o difusión de un profármaco de MHF de fórmula (I) del tubo gastrointestinal a la circulación sistémica, o para inhibir la degradación del profármaco de MHF de fórmula (I) en la sangre de un paciente. En ciertas realizaciones, un profármaco de MHF de fórmula (I) puede co-administrarse con un agente activo que tiene efectos farmacológicos que potencian la eficacia terapéutica de un profármaco de MHF de fórmula (I).

En ciertas realizaciones, un profármaco de MHF de fórmula (I) o una composición farmacéutica del mismo puede administrarse a un paciente para tratar psoriasis en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de psoriasis. Fármacos útiles para tratar psoriasis incluyen esteroides tales como flurandrenolida, fluocinonida, aclometasona, amcinonida, desonida, halcinonida, triamcinolona, clobetasol, clocortolona, mometasona, desoximetasona y halobetasol; antirreumáticos tales como etanercept, infliximab y adalimumab; agentes inmunosupresores tales como ciclosporina, alefacept y efalizumab; psoralenos tales como metoxsaleno; y otros tales como calcipotrieno, metotrexato, hidrocortisona/pramoxina, acitretina, betametasona/calcipotrieno, tazaroteno, benzocaína/pirilamina/óxido de cinc y ustekinumab.

En ciertas realizaciones, un profármaco de MHF de fórmula (I) o una composición farmacéutica del mismo puede administrarse a un paciente para tratar artritis inflamatoria tal como artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, artritis psoriásica y espondilitis anquilosante en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de artritis inflamatoria tal como artritis reumatoide, artritis reumatoide juvenil, artritis psoriásica y espondilitis anquilosante.

Fármacos útiles para tratar artritis reumatoide incluyen agentes antiinflamatorios no esteroideos tales como ibuprofeno, ketoprofeno, salicilato, diclofenaco, nabumetona, naproxeno, meloxicam, sulindaco, flurbiprofeno, indometacina, tolmetina, piroxicam, fenoprofeno, oxaprozina y etodolaco; antirreumáticos tales como etanercept, adalimumab, infliximab, hidroxicloquina, leflunomida, azatioprina, penicilamina, metotrexato, anakinra, auranofina, rituximab, aurotioglucosa, tocilizumab y golimumab; inhibidores de la cox-2 tales como celecoxib y vademecoxib; corticosteroides tales como triamcinolona; glucocorticoides tales como metilprednisolona y prednisona; y otros tales como sulfasalazina.

Fármacos útiles para tratar artritis reumatoide juvenil incluyen adalimumab, abatacept e infliximab.

Fármacos útiles para tratar artritis psoriásica incluyen etanercept, adalimumab, triamcinolona, cortisona, infliximab y golimumab.

Fármacos útiles para tratar espondilitis anquilosante incluyen adalimumab, celecoxib, diclofenaco, etanercept, golimumab, indometacina infliximab, naptoxeno, olsalazina, salicilatos, sulfindaco y triamcinolona.

En ciertas realizaciones, un profármaco de MHF de fórmula (I) o una composición farmacéutica del mismo puede administrarse a un paciente para tratar artritis psoriásica en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de artritis psoriásica. Fármacos útiles para tratar artritis psoriásica incluyen etanercept, adalimumab, triamcinolona, cortisona, infliximab y golimumab.

En ciertas realizaciones, un profármaco de MHF de fórmula (I) o una composición farmacéutica del mismo puede administrarse a un paciente para tratar enfermedades autoinmunitarias tales como lupus en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias tales como lupus. Fármacos útiles para tratar lupus incluyen hidroxicloquina, triamcinolona, salicilato, azatioprina y abetimus.

En ciertas realizaciones, un profármaco de MHF de fórmula (I) o una composición farmacéutica del mismo puede administrarse a un paciente para tratar esclerosis múltiple en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de esclerosis múltiple. Fármacos útiles para tratar esclerosis

- múltiple incluyen interferón  $\beta$ -1a, interferón  $\beta$ -1b, glatiramer, modafinilo, azatioprina, prednisolona, micofenolato mofetilo, mitoxantrona y natalizumab. Otros ejemplos de fármacos útiles para tratar EM incluyen Ejemplos de fármacos útiles para tratar EM incluyen corticosteroides tales como metilprednisolona; IFN- $\beta$  tales como IFN- $\beta$ 1a y IFN- $\beta$ 1b; acetato de glatiramer; anticuerpos monoclonales que se unen al antígeno-4 muy tardío (VLA-4) integrina tal como natalizumab; agentes inmunomoduladores tales como modulador de esfingosina-1-fosfato FTY 720 e inhibidores de la COX-2 tales como BW755c, piroxicam y fenidona; y tratamientos neuroprotectores que incluyen inhibidores de la excitotoxicidad de glutamato e iNOS, secuestrantes de radicales libres y bloqueantes de canales catiónicos; memantina; antagonistas de AMPA tales como topiramato; y antagonistas de NMDA de sitio de glicina.
- 5
- 10 En ciertas realizaciones, un profármaco de MHF de fórmula (I) o una composición farmacéutica del mismo puede administrarse a un paciente para tratar enfermedad inflamatoria del intestino en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de enfermedad inflamatoria del intestino. Fármacos útiles para tratar enfermedad inflamatoria del intestino incluyen cromolina y mercaptopurina; y más particularmente para tratar enfermedad de Crohn incluyen certolizumab, budesonida, azatioprina, sulfasalazina, metronidazol, adalimumab, mercaptopurina, infliximab, mesalamina y natalizumab; y para tratar colitis ulcerosa incluyen balsalazida, infliximab, azatioprina, mesalamina y ciclosporina.
- 15
- 20 En ciertas realizaciones, los profármacos de MHF proporcionados por la presente divulgación y composiciones farmacéuticas de los mismos pueden administrarse a un paciente para tratar asma en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de asma, o en ciertas realizaciones, una enfermedad, trastorno o afección asociado al asma. Ejemplos de fármacos útiles en el tratamiento de asma incluyen albuterol, aminofilina, beclometasona, bitolterol, budesonida, cromolina, efedrina, epinefrina, flunisolida, fluticasona, formoterol, hidrocortisona, isoproterenol, levalbuterol, metilprednisolona, prednisolona, prednisona, pirbuterol, metaproterenol, rasepinefrina, omalizumab, oxitriplina, mometasona, montelukast, nedocromilo, oxitriplina, pirbuterol, salmeterol, terbutalina, teofilina, triamcinolona, zafirlukast y zileuton.
- 25
- 30 En ciertas realizaciones, los profármacos de MHF proporcionados por la presente divulgación y composiciones farmacéuticas de los mismos pueden administrarse a un paciente para tratar enfermedad pulmonar obstructiva crónica en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, o en ciertas realizaciones, una enfermedad, trastorno o afección asociado a enfermedad pulmonar obstructiva crónica. Ejemplos de fármacos útiles para tratar enfermedad pulmonar obstructiva crónica incluyen albuterol, arformoterol, azitromicina, bitolterol, epinefrina, fluticasona, formoterol, ipratropio, isoproterenol, levabuterol, metaproterenol, pirbuterol, rasepinefrina, salmeterol y tiotropio. Fármacos útiles para tratar enfermedad pulmonar obstructiva crónica incluyen además broncodilatadores tales como agonistas  $\beta$ 2 tales como salbutamol, bambuterol, clenbuterol, fenoterol y formoterol; antimuscarínicos M3 tales como ipratropio; antagonistas de leucotrieno tales como montelukast, pranlukast y zafirlukast; cromonas tales como cromoglicato y nedocromilo; xantinas tales como teofilina; corticosteroides tales como beclometasona, mometasona y fluticasona; y antagonistas de TNF tales como infliximab, adalimumab y etanercept. Otros tratamientos para enfermedad pulmonar obstructiva crónica incluyen terapia de oxígeno y rehabilitación pulmonar.
- 35
- 40 En ciertas realizaciones, los profármacos proporcionados por la presente divulgación y composiciones farmacéuticas de los mismos pueden administrarse a un paciente para tratar angiogénesis en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de la angiogénesis. Fármacos útiles para tratar angiogénesis incluyen angiostatina, endostatina, vitaxina, bevacizumab, talidomida, batimastat, marimastat, carboxamidotrazolol, TNP-470, CM101, IFN- $\alpha$ , IL-12, factor-4 de plaquetas, suramina, SU5416, trombospondina, VEGFR, esteroides angiostáticos, factor inhibidor de la angiogénesis derivado de cartílago, inhibidores de la metaloproteinasas de matriz, 2-metoxiestradiol, tecogalan, trombospondina, prolactina, inhibidores de  $\alpha_v\beta_3$  y linomida.
- 45
- 50 En ciertas realizaciones, los profármacos proporcionados por la presente divulgación y composiciones farmacéuticas de los mismos pueden administrarse a un paciente para tratar rechazo de trasplante en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de rechazo de trasplante. Fármacos útiles para tratar rechazo de trasplante incluyen inhibidores de la calcineurina tales como ciclosporina y tacrolimus, inhibidores de mTOR tales como sirolimus y everolimus, antiproliferativos tales como azatioprina y ácido micofenólico; corticosteroides tales como anticuerpos monoclonales anti-receptor de IL2R $\alpha$  que incluyen basiliximab y daclizumab; y anticuerpos policlonales anti-linfocitos T que incluyen globulina anti-timocitos y globulina anti-linfocitos.
- 55
- 60 En ciertas realizaciones, los profármacos proporcionados por la presente divulgación y composiciones farmacéuticas de los mismos pueden administrarse a un paciente para tratar rechazo de trasplante en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de rechazo de trasplante. Ejemplos de fármacos útiles en rechazo de trasplante incluyen corticosteroides tales como dexametasona, prednisolona y prednisona; globulinas tales como globulina anti-linfocitos y globulina anti-timocitos; inmunosupresores de macrólidos tales como sirolimus, tacrolimus y everolimus; inhibidores mitóticos tales como azatioprina, ciclofosfamida y metotrexato; anticuerpos monoclonales tales como basiliximab, daclizumab, infliximab, muromonoab; metabolitos fúngicos tales como ciclosporina; y otros tales como glatiramer y micofenolato.
- 65

En ciertas realizaciones, los profármacos proporcionados por la presente divulgación y composiciones farmacéuticas de los mismos pueden administrarse a un paciente para tratar insuficiencia cardíaca en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de insuficiencia cardíaca. Fármacos útiles para tratar insuficiencia cardíaca incluyen agentes moduladores de anti-tensina, diuréticos tales como furosemida, bumetanida, hidroclorotiazida, clortalidona, clortiazida, espironolactona, eplerenona; beta-bloqueantes tales como bisoprolol, carvedilol y metoprolol; inótrópos positivos tales como digoxina, milrinona y dobutamina; vasodilatadores alternativos tales como dinitrato de isosorbida/hidralazina; antagonistas de receptores de aldosterona; hormonas neuroendocrinas recombinantes tales como nesiritida; y antagonistas de receptores de vasopresina tales como tolvaptan y conivaptan.

En ciertas realizaciones, profármacos proporcionados por la presente divulgación y composiciones farmacéuticas de los mismos pueden administrarse a un paciente para tratar una enfermedad mitocondrial tal como un trastorno neurodegenerativo en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en el tratamiento de una enfermedad mitocondrial tal como un trastorno neurodegenerativo. En ciertas realizaciones, un trastorno neurodegenerativo se elige de enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington y esclerosis lateral amiotrófica.

Agentes terapéuticos útiles para tratar enfermedad de Parkinson incluyen precursores de dopamina tales como levodopa, agonistas de dopamina tales como bromocriptina, pergolida, pramipexol y ropinirol, inhibidores de MAO-B tales como selegilina, fármacos anticolinérgicos tales como bengtropina, trihexifenidilo, antidepresores tricíclicos tales como amitriptilina, amoxapina, clomipramina, desipramina, doxepina, imipramina, maprotilina, nortriptilina, protriptilina, amantadina y trimipramina, algunos antihistamínicos tales como difenhidramina; fármacos antivirales tales como amantadina; y beta-bloqueantes tales como propranolol.

Fármacos útiles para tratar enfermedad de Alzheimer incluyen rosiglitazona, raloxifeno, vitamina E, donepezilo, tacrina, rivastigmina, galantamina y memantina.

Fármacos útiles para tratar síntomas de enfermedad de Huntington incluyen antipsicóticos tales como haloperidol, clorpromazina y olanzapina para controlar alucinaciones, trastornos del pensamiento y ataques violentos; antidepresivos tales como fluoxetina, sertralina y nortriptilina para controlar depresión y comportamiento obsesivo-compulsivo; tranquilizantes tales como benzodiazepinas, paroxetina, venflaxina y beta-bloqueantes para controlar ansiedad y enfermedad; estabilizadores del estado de ánimo tales como litio, valproato y carbamazepina para controlar obsesión y trastorno bipolar; y toxina botulínica para controlar distonía y apretamiento de mandíbula. Fármacos útiles para tratar síntomas de enfermedad de Huntington incluyen adicionalmente inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (SSRI) tales como fluoxetina, paroxetina, sertralina, escitalopram, citalopram, fluvosamina; norepinefrina e inhibidores de la recaptación de serotonina (NSRI) tales como venlafaxina y duloxetina, benzodiazepinas tales como clonazepam, alprazolam, diazepam y lorazepam, antidepresivos tricíclicos tales como amitriptilina, nortriptilina e imipramina; y antidepresivos atípicos tales como buspirona, bupropiona y mirtazepina para tratar los síntomas de ansiedad y depresión; atomoxetina, dextroanfetamina y modafinilo para tratar síntomas de apatía; amantadina, memantina y tetrabenazina para tratar síntomas de enfermedad; citalopram, atomoxetina, memantina, rivastigmina y donepezilo para tratar síntomas cognitivos; lorazepam y trazodona para tratar insomnio; valproato, carbamazepina y lamotrigina para tratar síntomas de irritabilidad; antidepresivos de SSRI tales como fluoxetina, paroxetina, sertralina y fluvoxamina, antidepresivos de NSRI tales como venlafaxina, y otros tales como mirtazepina, clomipramina, lomotrigina, gabapentina, valproato, carbamazepina, olanzapina, risperidona y quetiapina para tratar síntomas de trastorno obsesivo-compulsivo; haloperidol, quetiapina, clozapina, risperidona, olanzapina, ziprasidona y aripiprazol para tratar psicosis; y pramipexol, levodopa y amantadina para tratar rigidez.

Fármacos útiles para tratar ELA incluyen riluzol. Otros fármacos de posible uso en el tratamiento de ELA incluyen memantina, tamoxifeno, talidomida, ceftriaxona, fenilbutirato de sodio, celecoxib, acetato de glatiramer, buspirona, creatina, minociclina, coenzima Q10, oxandrolona, IGF-1, topiramato, xaliprodeno e indinavir. Fármacos tales como baclofeno y diazepam puede ser útiles en el tratamiento de espasticidad asociada a ELA.

En ciertas realizaciones, un profármaco de MHF de fórmula (I) o una composición farmacéutica del mismo puede administrarse a un paciente en combinación con una terapia u otro agente terapéutico conocido o que se cree que es eficaz en inhibir la función de TNF.

Ejemplos de fármacos que se sabe que inhiben la función de TNF incluyen infliximab, adalimumab, etanercept, certolizumab, golimumab, pentoxifilina, guanilhidrozoona, talidomida, flavonoides tales como narigenina, resveratol y quecetina, alcaloides tales como licorina, terpenos tales como ácido acantoico, ácidos grasos tales como 13-HOA, y retinoides tales como ácido retinoico.

### Ejemplos

Los siguientes ejemplos describen en detalle la síntesis de profármacos de MHF de fórmula (I), propiedades de profármacos de MHF de fórmula (I) y usos de profármacos de MHF de fórmula (I).

**Protocolo experimentales generales**

Todos los reactivos y disolventes que se compraron de proveedores comerciales se usaron sin más procedimientos de purificación o manipulación.

5 Los espectros de RMN de protones (400 MHz) y de RMN de carbono (125 MHz) se registraron en un espectrómetro de RMN Varian AS 400 equipado con un inyector automático y software de procesamiento de datos.  $\text{CDCl}_3$  (99,8 % de D),  $\text{DMSO-d}^6$  (99,9 % de D) o  $\text{MeOH-d}^4$  (99,8+ % de D) y acetonitrilo- $\text{d}^3$  se usaron como disolventes, a menos que se indique lo contrario. Las señales de los disolventes  $\text{CHCl}_3$ ,  $\text{DMSO-d}^5$  o  $\text{MeOH-d}^3$  se usaron para la calibración de los espectros individuales. Se realizó cromatografía en capa fina (CCF) analítica usando un CCF Whatman, Schleicher & Schuell y placas de gel de sílice MK6F (2,5 x 7,5 cm, 250  $\mu\text{m}$  de espesor de capa). Los puntos de fusión se registraron en capilares de vidrio usando un sistema de punto de fusión automatizado Optimeit de Stanford Research Systems (SRS), S/N 78047. La EM/CL analítica se realizó en un módulo de separación de Waters 2790 equipado con un espectrómetro de masas Micromass QZ de Waters, un detector de fotodiodo 996 de Waters y una columna analítica Chromolith UM2072-027 de Merck o Luna C-18 de Phenomenex. La purificación por HPLC preparativa guiada por masa de compuestos finales se realizó usando un instrumento equipado con un controlador 600 de Waters, espectrómetro Micromass de ZMD, un detector de matriz de fotodiodos 2996 de Waters y un gestor de muestras 2700 de Waters. Se usaron gradientes de acetonitrilo/agua que contienen 0,05 % de ácido fórmico como eluyentes en tanto experimentos de HPLC analítica como preparativa. El aislamiento de compuestos de mezclas de disolventes acuosas, por ejemplo, acetonitrilo/agua/0,05 % de ácido fórmico, se llevó a cabo por liofilización primaria (secado por congelación) de las disoluciones congeladas a presión reducida a temperatura ambiente usando liofilizadores de colectores múltiples tales como a Heto Drywinner DW 6-85-1, un Heto FD4, o un VIRTIS Freezemobile 25 ES equipado con bombas de alto vacío. Si el compuesto aislado tenía grupos funcionales ionizables tales como un grupo amino o un ácido carboxílico, la liofilización se realizó en presencia de un ligero exceso de ácido clorhídrico uno molar (1 M) dando los compuestos purificados como las sales de clorhidrato correspondientes (sales de HCl) o los ácidos carboxílicos libres protonados correspondientes. Si el compuesto aislado tenía grupos funcionales ionizables tales como un ácido carboxílico, la liofilización se realizó en presencia de cantidades equimolares de hidrogenocarbonato de sodio ( $\text{NaHCO}_3$ ) dando los compuestos purificados como las sales de sodio correspondientes (sales de Na). Opcionalmente, los materiales aislados se purificaron adicionalmente por cromatografía en columna de gel de sílice de lavado, opcionalmente empleando cartuchos de gel de sílice previamente empaquetados Biotage. Disolventes orgánicos adecuados tales como acetato de etilo (EtOAc), hexano (Hxn), n-heptano (Hptn), o mezclas y/o gradientes de los mismos, se usaron como eluyentes para dar los compuestos diana como aceites o sólidos incoloros viscosos después de la evaporación de los disolventes. Los nombres químicos se generaron con Chemistry 4-D Draw Pro Versión 7.01c (Draw Chemical Structures Intelligently<sup>®</sup> 1993-2002) de ChemInnovation Software, Inc., San Diego, EE.UU.).

2-Haloacetamidas apropiadamente funcionalizadas o sustituidas no comercialmente disponibles, derivados del ácido 2-haloacético, 2-hidroxiacetamidas, derivados del ácido 2-hidroxiacético, haluros de aciloxialquilo, o haluros de alcoxi- o ariloxicarboniloxialquilo, se sintetizaron a partir de materiales de partida comercialmente disponibles, y adaptando procedimientos muy conocidos en la técnica.

**Procedimientos de síntesis general**

**Procedimiento general A: Sustitución nucleófila de 1-haloacetamidas o derivados del ácido 1-haloacético con fumarato de monometilo:**

Se disuelve ácido (2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoico (hidrogenofumarato de metilo, MHF), ácido (2E)-3-(*tert*-butoxicarbonil)prop-2-enoico (hidrogenofumarato de *tert*-butilo) o ácido fumárico (FA) (1,0 equivalente) en 5 - 10 ml/3,0 mmoles de un disolvente inerte tal como *N*-metilpirrolidona (NMP), *N,N*-dimetilformamida (DMF), *N,N*-dimetilacetamida (DMA, DMAc), acetonitrilo (MeCN), sulfóxido de dimetilo (DMSO), tetrahidrofurano (THF), tolueno, o mezclas de los mismos. A la solución se añaden 0,8 a 1,2 equivalentes de una base inorgánica apropiada tal como hidrogenocarbonato de cesio ( $\text{CsHCO}_3$ ), carbonato de cesio ( $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ ) o carbonato de potasio ( $\text{K}_2\text{CO}_3$ ). Alternativamente, pueden emplearse 0,8 a 1,2 equivalentes de una sal de plata tal como óxido de plata (I) ( $\text{Ag}_2\text{O}$ ) o carbonato de plata (I) ( $\text{Ag}_2\text{CO}_3$ ); una base secundaria o terciaria orgánica tal como diciclohexilamina (DCHA), trietilamina (TEA), diisopropiletilamina (DIEA), hidróxido de tetrabutilamonio (TBAOH), amidina; o una base basada en guanidina tal como 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN), 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU) o 1,1,3,3-tetrametilguanidina (TMG). También puede realizarse la sal alcalina, de plata, de di-, tri- y tetraalquilamonio, amidina o de guanilina correspondiente de fumarato de monoalquilo. La solución se agita durante 10 - 60 min a temperatura ambiente, seguido de la adición de 0,8-1,2 equivalentes de una 1-haloacetamida apropiadamente funcionalizada, derivado del ácido 1-haloacético, haluro de aciloxialquilo, o haluro de alquil- o ariloxicarboniloxialquilo. La mezcla de reacción se agita durante la noche a una temperatura entre 40 y 100 °C. Después de enfriarse hasta temperatura ambiente, los insolubles pueden separarse opcionalmente por filtración y la mezcla de reacción se diluyó con ácido clorhídrico uno molar (1,0 M) (HCl) y un disolvente orgánico apropiado tal como metil *tert*-butil éter (MTBE), éter dietílico ( $\text{Et}_2\text{O}$ ), acetato de etilo (EtOAc), o mezclas de los mismos. Después de la separación de fases, la fase acuosa se extrae varias veces con el mismo disolvente. Los extractos orgánicos combinados se lavan con agua, salmuera y se secan sobre sulfato de magnesio anhidro ( $\text{MgSO}_4$ ). Después de la filtración, los disolventes orgánicos

se eliminan a presión reducida usando un evaporador rotatorio. Si se requiere, los productos de reacción en bruto se purifican adicionalmente por técnicas de purificación muy conocidas tales como cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (es decir, Biotage), HPLC preparativa de fase inversa guiada por masa/líofilización, precipitación, o cristalización.

5 **Procedimiento general B1: Activación de derivados del ácido carboxílico con agentes de deshidratación para aminólisis o alcoholólisis**

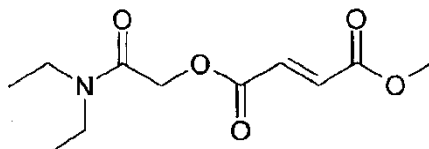
10 Se hacen reaccionar ácido (2*E*)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoico (hidrogenofumarato de metilo, MHF), ácido 2-[(2*E*)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acético (**23**) o ácido 2-[(2*E*)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]propanoico (**24**) (1,0 equivalente) a temperatura de aproximadamente 0 °C (baño de hielo) a temperatura ambiente con 1,0-1,5 equivalentes de un agente de deshidratación de carbodiimida tal como 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDAC, EDC), *N,N'*-diisopropilcarbodiimida (DIC), *N,N'*-diciclohexilcarbodiimida (DCC) en un disolvente inerte tal como diclorometano (DCM), *N,N*-dimetilformamida (DMF), *N*-metilpirrolidona (NMP) o *N,N*-dimetilacetamida (DMA, DMAc) (aproximadamente 3 ml/mmol). Se añaden 1,0-1,5 equivalentes de una amina o 2-hidroxiacetamida apropiadamente funcionalizada disuelta en el mismo disolvente y, opcionalmente, en presencia de una cantidad catalítica o estequiométrica de 4-*N,N*-dimetilaminopiridina (DMAP) a una temperatura de aproximadamente 0 °C a temperatura ambiente. Cuando la amina está en forma de sal, una cantidad equimolar de una base terciaria orgánica, tal como trietilamina (TEA), o diisopropiletilamina (DIEA), puede añadirse a la base de amina libre antes de la etapa de acoplamiento. La mezcla de reacción se agita durante 4 a 12 horas a temperatura ambiente. Opcionalmente, los disolventes orgánicos se eliminan a presión reducida usando un evaporador rotatorio y el residuo se diluye con un disolvente de extracción apropiado tal como éter dietílico (Et<sub>2</sub>O), metil *terc*-butil éter (MTBE), acetato de etilo (EtOAc), u otros. Pueden emplearse los procedimientos descritos en el Procedimiento A para aislamiento y purificación de producto.

25 **Procedimiento general B2: Activación de derivados del ácido carboxílico con agentes de cloración y aminólisis**

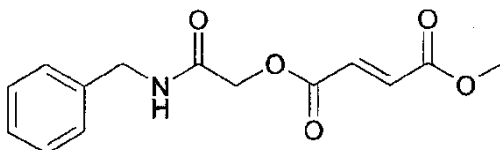
30 Se hacen reaccionar ácido 2-[(2*E*)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acético (**23**) o ácido 2-[(2*E*)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]propanoico (**24**) (1,0 equivalente) con cloruro de oxalilo (1,0 - 1,5 equivalentes) en diclorometano anhidro (DCM), aproximadamente 3 ml/mmol, a una temperatura de aproximadamente 0 °C (baño de hielo) en presencia de una cantidad catalítica de *N,N*-dimetilformamida (DMF) durante 1 a 3 horas. Los disolventes se eliminan a presión reducida usando un evaporador rotatorio y el material en bruto se disuelve en diclorometano anhidro (DCM), aproximadamente 3 ml/mmol. Se añaden 1,0 - 1,5 equivalentes de un nucleófilo apropiadamente funcionalizado (amina primaria o secundaria, o alcohol) en diclorometano anhidro (DCM), aproximadamente 3 ml/mmol, gota a gota a aproximadamente 0 °C (baño de hielo), opcionalmente en presencia de una cantidad catalítica de 4-(*N,N*-dimetilamino)piridina (DMAP). Si el componente de amina es una forma de sal, una cantidad equimolar de una base, tal como trietilamina (TEA), diisopropiletilamina (DIEA), u otras, se añade a la base de amina libre antes de la etapa de acoplamiento. La reacción se agita durante la noche con calentamiento a temperatura ambiente, los disolventes se eliminan opcionalmente a presión reducida usando un evaporador rotatorio, y luego se diluyen con un disolvente de extracción apropiado tal como éter dietílico (Et<sub>2</sub>O), metil *terc*-butil éter (MTBE), acetato de etilo (EtOAc), u otros. Pueden emplearse procedimientos descritos en el Procedimiento A para el aislamiento y purificación de productos.

45 **Ejemplo 1**

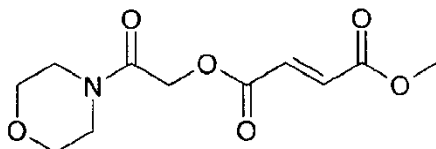
**Metil-(2*E*)but-2-eno-1,4-dioato de (*N,N*-dietilcarbamoil)metilo (1)**



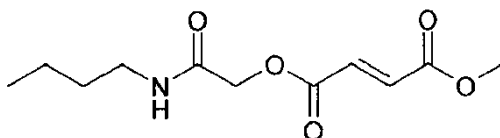
50 Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,39 g, 3,00 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con 2-cloro-*N,N*-dietilacetamida (0,44 g, 3,00 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,69 g, 3,60 mmoles) proporcionando 0,37 g (rendimiento del 51 %) del compuesto del título (**1**) después de la purificación por cromatografía en columna de gel de sílice (Biotage) usando una mezcla de acetato de etilo (EtOAc) y hexanos (1:1) como eluyente. P.f.: 53-56 °C. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,99-6,90 (m, 2H), 4,83 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,39 (q, J= 7,2 Hz, 2H), 3,26 (q, J= 7,2 Hz, 2H), 1,24 (t, J= 7,2 Hz, 3H), 1,14 (t, J= 7,2 Hz, 3H). EM (ESI): *m/z* 244,13 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 2****[N-Bencilcarbamoil]metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo (2)**

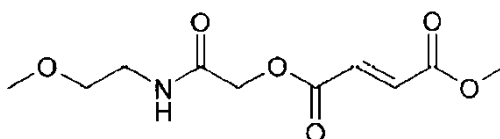
5  
10  
Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,85 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con *N*-bencilcloroacetamida (0,84 g, 4,61 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmoles) proporcionando 0,56 g (rendimiento del 53 %) del compuesto del título (**2**) como un sólido blanco después de la purificación en HPLC preparativa guiada por masa y liofilización. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7,36-7,26 (m, 5H), 6,94-6,88 (m, 2H), 6,19 (s a, 1H), 4,73 (s, 2H), 4,51 (d, *J*= 5,6 Hz, 2H), 3,81 (s, 3H). EM (ESI): *m/z* 278,04 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 3****2-Morfolin-4-il-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo (3)**

20  
25  
Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con 4-(cloroacetil)morfolina (0,75 g, 4,61 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmoles) proporcionando 0,34 g (rendimiento del 35 %) del compuesto del título (**3**) como un sólido blanco después de la purificación en HPLC preparativa guiada por masa y liofilización. P.f.: 124 a 126 °C; RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,97-6,91 (m, 2H), 4,84 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,72-3,70 (m, 4H), 3,64-3,62 (m, 2H), 3,46-3,41 (m, 2H). EM (ESI): *m/z* 258,04 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 4****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-butilcarbamoil)metilo (4)**

35  
40  
Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con *N*-butilcloroacetamida (0,69 g, 4,61 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmoles) proporcionando 0,19 g (rendimiento del 21 %) del compuesto del título (**4**) como un sólido blanco después de la purificación en HPLC preparativa guiada por masa y liofilización. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,98-6,92 (m, 2H), 6,09 (s a, 1H), 4,68 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,34 -3,29 (q, 2H, *J* = 6,4Hz), 1,54-1,48 (m, 2H), 1,38-1,32 (m, 2H), 0,956-0,920 (t, *J*= 7,6 Hz, 3H). EM (ESI): *m/z* 244,04 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 5****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N-(2-metoxietil)carbamoil]metilo (5)**

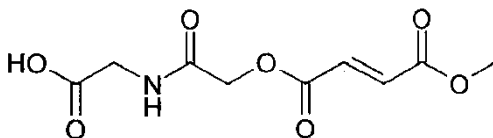
45  
Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con *N*-(2-metoxietil)cloroacetamida (0,69 g, 4,60 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmoles) proporcionando 0,07 g (rendimiento del 8 %) del compuesto del título (**5**) como un sólido blanco después de la purificación en HPLC preparativa guiada por masa y liofilización. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400

MHz):  $\delta$  6,94-6,92 (m, 2H), 6,46 (s a, 1H), 4,68 (s, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,52-3,46 (m, 4H), 3,36 (s, 3H). EM (ESI):  $m/z$  245,98 (M+H)<sup>+</sup>.

### Ejemplo 6

5

#### Ácido 2-[2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxil]acetilamino]acético (6)

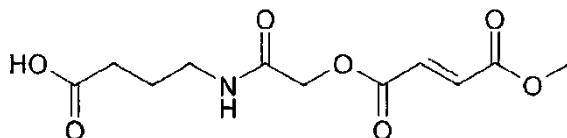


10 Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,68 g, 5,26 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con 2-(2-cloroacetilamino)acetato de *terc*-butilo (0,91 g, 4,38 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (1,19 g, 6,13 mmoles) del producto intermedio protegido con *terc*-butilo y luego se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Biotage) usando una mezcla de acetato de etilo (EtOAc) y hexanos (1:2 a 2:3 a 1:1) como eluyente. El producto purificado se trató con 50 % de ácido trifluoroacético (TFA) en diclorometano (DCM). La eliminación de disolventes dio 0,13 g (rendimiento del 12 %) del compuesto del título (6).  
 15 RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz):  $\delta$  6,96-6,93 (m, 2H), 4,74 (s, 2H), 3,98-3,95 (m, 2H), 3,81 (s, 3H). EM (ESI):  $m/z$  246,00 (M+H)<sup>+</sup>, 244,02 (M-H)<sup>-</sup>.

### Ejemplo 7

20

#### Ácido 4-[2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxil]acetilamino]butanoico (7)

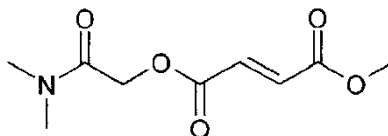


25 Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,56 g, 4,33 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con 4-(2-cloroacetilamino)butanoato de *terc*-butilo (0,85 g, 3,61 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,98 g, 5,05 mmoles) del producto intermedio protegido con *terc*-butilo y luego se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (Biotage) usando una mezcla de acetato de etilo (EtOAc) y hexanos (1:1) como eluyente. El producto purificado se trató con 50 % de ácido trifluoroacético (TFA) en diclorometano (DCM). La eliminación de disolventes dio 0,45 g (rendimiento del 46 %) del compuesto del título (7).  
 30 RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz):  $\delta$  6,94-6,91 (m, 2H), 4,65 (s, 2H), 3,81 (s, 3H), 3,28 (t,  $J$  = 6,8 Hz, 2H), 2,33 (t,  $J$  = 7,2 Hz, 2H), 1,81 (p,  $J$  = 7,1 Hz, 2H). EM (ESI):  $m/z$  274,03(M+H)<sup>+</sup> 272,06 (M-H)<sup>-</sup>.

### Ejemplo 9

35

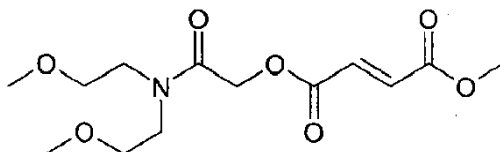
#### Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de *N,N*-dimetilcarbamoil)metilo (9)



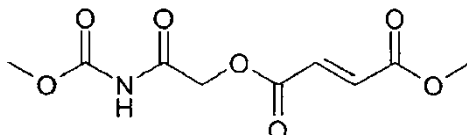
40 Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con *N,N*-dimetilcloroacetamida (0,56 g, 4,61 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub>(0,89 g, 4,61 mmoles). El material en bruto se precipitó fuera de una mezcla de acetato de etilo (EtOAc) y hexanos (Hxn) (1:1) proporcionando un sólido blanco. Este sólido se disolvió adicionalmente en diclorometano (DCM) y la fase orgánica se lavó con agua. Después de eliminar los disolventes se obtuvieron 0,55 g (rendimiento del 67 %) del compuesto del título (9) como un sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz):  $\delta$  6,98- 6,90 (m, 2H), 4,84 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 2,99-2,97 (2s, 6H). EM (ESI):  $m/z$  216 (M+H)<sup>+</sup>.

45

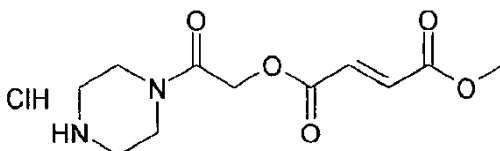


**Ejemplo 11****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de bis-(2-metoxietilamino)carbamoil]metilo (11)**

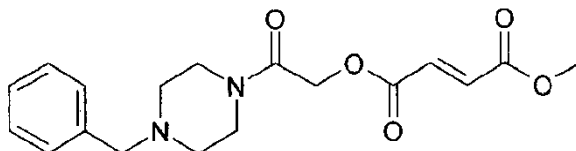
5  
10  
15  
Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con bis-(2-metoxietil)-cloroacetamida (0,96 g, 4,61 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmoles) proporcionando 0,53 g (rendimiento del 46 %) del compuesto del título (11) como un sólido blanco después de la purificación en HPLC preparativa guiada por masa y liofilización. P.f.: 79-82 °C; RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,98-6,88 (m, 2H), 4,98 (s, 2H), 3,8 (s, 3H), 3,57-3,50 (m, 8H), 3,41 (s, 3H), 3,31 (s, 3H). EM (ESI): *m/z* 304,14 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 12****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N-(metoxicarbonil) carbamoil]metilo (12)**

20  
25  
Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con N-(2-cloroacetil)carbamato de metilo (0,69 g, 4,61 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmoles). El material en bruto precipitó fuera de una solución de éter dietílico (Et<sub>2</sub>O). El sólido se separó por filtración, se lavó varias veces con diclorometano (DCM) y se secó a vacío proporcionando 0,19 g (rendimiento del 21 %) del compuesto del título (12) como un sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,99-6,91 (m, 2H), 5,23 (s, 2H), 3,81 (s, 6H). EM (ESI): *m/z* 246,09 (M+H)<sup>+</sup>, 268,00 (M+Na)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 14****Clorhidrato de 2-oxo-2-piperaziniletil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo (14)**

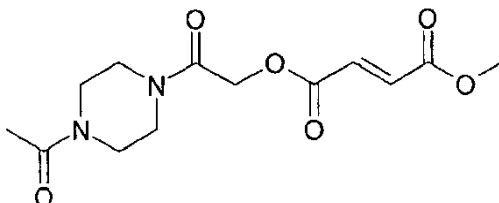
35  
40  
45  
Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (1,00 g, 7,68 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con 1-(*tert*-butiloxicarbonil)-4-cloroacetilpiperazina (2,42 g, 9,22 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (1,78 g, 9,22 mmoles). Después del procesamiento y eliminación del disolvente, el material en bruto se obtuvo como un sólido blanco. El sólido se hizo reaccionar a temperatura ambiente con 15 ml de una solución 4 molar (4 M) de cloruro de hidrógeno (HCl) en 1,4-dioxano. Después de eliminar los disolventes, la sal de clorhidrato sólida se purificó adicionalmente en HPLC preparativa guiada por masa proporcionando 0,93 g (rendimiento del 41 %) del compuesto del título (14) como un sólido blanco después de la liofilización de los disolventes en presencia de un exceso de ácido clorhídrico 1 normal (1 N) acuoso. RMN <sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ 6,93-6,86 (m, 2H), 4,92 (s, 2H), 3,70-3,63 (m, 7H), 3,23 (t, *J* = 5,2 Hz, 2H), 3,17 (t, *J* = 6 Hz, 2H). EM (ESI): *m/z* 257,13 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 15****2-(4-Bencilpiperazinil)-2-oxoetil-(2E) but-2-eno-1,4-dioato de metilo (15)**

Se hizo reaccionar clorhidrato de 2-oxo-2-piperaziniletíl-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo (**14**) (0,50 g, 1,71 mmoles) a aproximadamente 0 °C con bromuro de bencilo (BnBr) (0,243 ml, 0,35 g, 2,05 mmoles) y diisopropiletilamina (DIEA) (1,00 ml, 0,74 g, 5,76 mmoles) en diclorometano (DCM) seguido de calentamiento a temperatura ambiente. Después del procesamiento acuoso, el producto en bruto se purificó en HPLC preparativa guiada por masa proporcionando 0,18 g (rendimiento del 27 %) del compuesto del título (**15**) como un sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 7,08-7,01 (m, 5H), 6,72-6,71 (m, 2H), 4,60 (s, 2H), 3,58-3,57 (s, 3H), 3,23-3,19 (s a, 2H), 3,30 (s, 2H), 3,1,19-3,11 (s a, 2H), 2,23 (s a, 4H); EM (ESI) *m/z* 347,13 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 16

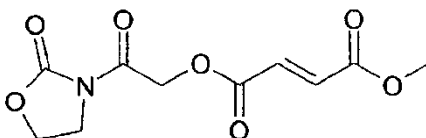
##### Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de 2-(4-acetilpiperazinil)-2-oxoetilo (16)



Se hizo reaccionar clorhidrato de 2-oxo-2-piperaziniletíl-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo (**14**) (0,20 g, 0,68 mmoles) con cloruro de acetilo (AcCl) (0,60 ml, 0,66 g, 0,84 mmoles) y diisopropiletilamina (0,70 ml, 0,52 g, 4,0 mmoles) en diclorometano (DCM). Tras el procesamiento acuoso, el producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice proporcionando 0,12 g (rendimiento del 54 %) del compuesto del título (**16**) como un sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,98-6,93 (m, 2H), 4,86 (s, 2H), 3,83 (s, 3H), 3,66 3,63 (m, 4H), 3,50-3,40 (m, 4H), 2,14 (s, 3H). EM (ESI): *m/z* 299,12 (M+H)<sup>+</sup>.

#### Ejemplo 17

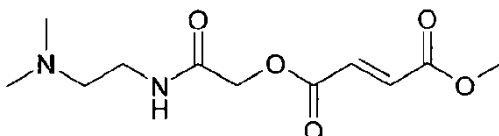
##### 2-Oxo-2-(2-oxo(1,3-oxazolidin-3-il)etil)-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo (17)



Seguendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con 3-(cloroacetil)-1,3-oxazolidin-2-ona (0,75 g, 4,61 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmoles) dando 0,30 g (rendimiento del 30 %) del compuesto del título (**17**) como un sólido blanco después de la purificación en HPLC preparativa guiada por masa y liofilización. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,97-6,92 (m, 2H), 5,32 (s, 2H), 4,53 (t, *J* = 8 Hz, 2H), 4,05 (t, *J* = 8,0 Hz, 2H), 3,82 (s, 3H). EM (ESI); *m/z* 258,20 (M+H)<sup>+</sup>.

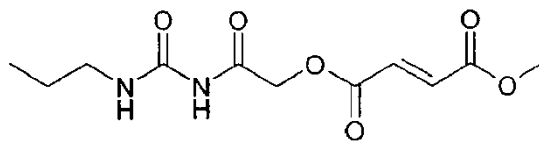
#### Ejemplo 18

##### Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[2-(dimetilamino)etil]carbamoil}metilo (18)



Seguendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con *N,N*-dimetiletildiaminocloroacetamida (0,75 g, 4,61 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmoles) proporcionando 0,02 g (rendimiento del 2 %) del compuesto del título (**18**) como un sólido blanco después de la purificación en HPLC preparativa guiada por masa y liofilización. RMN <sup>1</sup>H (D<sub>2</sub>O, 400 MHz): δ 8,27, (s, 1H), 6,87-6,78, (m, 2H), 4,63 (s, 2H), 3,68 (s, 3H), 3,51 (t, *J* = 6,2 Hz, 2H), 3,17 (t, *J* = 6,0 Hz, 2H), 2,76 (s, 6H). EM (ESI); *m/z* 259,14 (M+H)<sup>+</sup>.

## Ejemplo 19

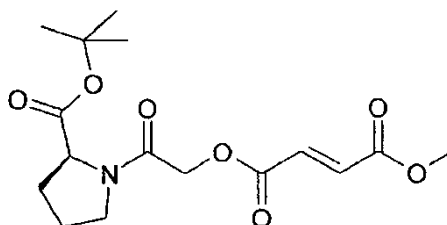
***N*-[(Propilamino)carbonil]carbamoil]metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo (19)**

5

10 Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con 1-(2-cloroacetil)-3-propilurea (0,82 g, 4,60 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmoles) proporcionando 0,02 g (rendimiento del 2 %) del compuesto del título **(19)** como un sólido blanco. La adición de metanol (MeOH) dio 0,49 g (rendimiento del 48 %) de sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,90-6,99 (m, 2H), 4,77 (s, 2H), 3,82 (s, 3H), 3,25-3,24 (q, 2H, J= 5,6 Hz), 1,57-1,55 (q, 2H, J= 7,2 Hz), 0,95-0,91 (t, 3H, J= 7,6 Hz). EM (ESI): m/z 273,08 (M+H)<sup>+</sup>.

## Ejemplo 20

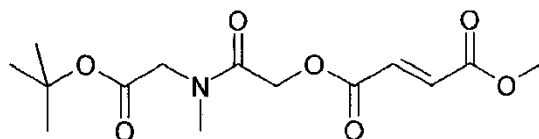
15

**Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de 2-[(2S)-2[(*tert*-butil)oxicarbonil]pirrolidinil]-2-oxoetil (20)**

20 Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con (2S)-1-(2-cloroacetil)pirrolidin-2-carboxilato de *tert*-butilo (0,82 g, 4,60 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmoles) proporcionando 0,44 g (rendimiento del 34 %) del compuesto del título **(20)** como un sólido blanco después de la purificación en HPLC preparativa guiada por masa y liofilización. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, todos los rotámeros): δ 6,97-6,90 (m, 2H), 4,91-4,55 (m, 2H), 4,44-4,29 (m, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,61-3,58 (m, 2H), 2,23-2,03 (m a, 4H), 1,54-1,46 (s, 9H). EM (ESI): m/z 342,16 (M+H)<sup>+</sup>, 364,09 (M+Na)<sup>+</sup>.

25

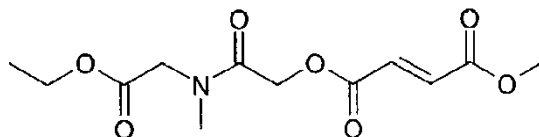
## Ejemplo 21

**Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-[(*tert*-butil)oxicarbonil]metil]-N-metilcarbamoil]metilo (21)**

35 Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con 2-(2-cloro-N-metilacetilamino)acetato de *tert*-butilo (1,02 g, 4,60 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmoles) proporcionando 0,24 g (rendimiento del 21 %) del compuesto del título **(21)** como un sólido blanco después de la purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Biotage). RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, todos los rotámeros): δ 7,00-6,93 (m, 2H), 4,90-4,79 (2s, 2H), 4,03-3,89 (2s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,04-2,99 (2S, 3H), 1,45 (S, 9H). EM (ESI): m/z 316,13 (M+H)<sup>+</sup>.

40

## Ejemplo 22

**Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-(etoxicarbonil)metil]-N-metilcarbamoil]metilo (22)**

45

5 Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con 2-(2-cloro-*N*-metilacetilamino)acetato de etilo (0,89 g, 4,60 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (0,89 g, 4,61 mmoles) proporcionando 0,30 g (rendimiento del 27 %) del compuesto del título (**22**) como un sólido blanco después de la purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Biotage). RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, todos los rotámetros): δ 7,00-6,93 (m, 2H), 4,90-4,79 (2s, 2H), 4,03-3,89 (2s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,04-2,99 (2s, 3H), 1,45 (s, 9H). EM (ESI): *m/z* 316,13 (M+H)<sup>+</sup>.

(Referencia) Ejemplo 23

10 **Ácido 2-[(2*E*)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxilacético (23)**

15 Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (6,91 g, 53,12 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con ácido *terc*-butil-2-cloroacético (9,48 ml, 10,0 g, 66,4 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (15,41 g, 79,68 mmoles) proporcionando 13,11 g (rendimiento del 81 %) del éster intermedio como un sólido blanco después de la precipitación en un solución concentrada de éter dietílico (Et<sub>2</sub>O). El material fue de suficiente pureza para usarse en la siguiente etapa. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,95-6,92 (m, 2H), 4,61 (s, 2H), 3,81 (s, 3H), 1,47 (s, 9H). El material se disolvió en 50 ml de 50 % en vol. de ácido trifluoroacético (TFA) en diclorometano (DCM) y se hizo reaccionar durante la noche a temperatura ambiente. Después de eliminar los disolventes, el material en bruto se precipitó en una mezcla de acetona y hexanos (1:3) proporcionando 12,3 g (rendimiento del 92 %) del compuesto del título (**23**) como un sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 7,02-6,90 (m, 2H), 4,79 (s, 2H), 3,82 (s, 3H). EM (ESI): *m/z* 189,07 (M+H)<sup>+</sup>. EM (ESI): *m/z* 189,07 (M+H)<sup>+</sup>.

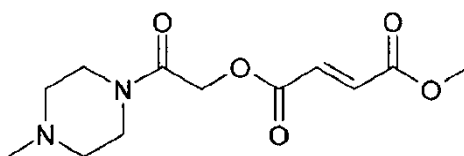
(Referencia) Ejemplo 24

25 **Ácido *rac*-2-1(2*E*)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxilpropanoico (24)**

30 Siguiendo el Procedimiento general A, hidrogenofumarato de metilo (MHF) (4,68 g, 36,0 mmoles) disuelto en NMP se hizo reaccionar a aproximadamente 55 °C con ácido *rac-terc*-butil-2-bromopropiónico (4,98 ml, 6,27 g, 30,0 mmoles) en presencia de CsHCO<sub>3</sub> (6,40 g, 33,0 mmoles) dando el éster intermedio. El material fue de pureza suficiente para usarse en la siguiente etapa. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,93-6,88 (m, 2H), 5,02 (q, *J*= 7,2 Hz, 2H), 3,79 (s, 3H), 1,49 (d, *J*= 7,2 Hz, 3H), 1,44 (s, 9H). El material se disolvió en 25 ml de 50 % en vol. de ácido trifluoroacético (TFA) en diclorometano (DCM) y se hizo reaccionar durante la noche a temperatura ambiente. Después de eliminar los disolventes, el compuesto del título (**24**) se obtuvo como un sólido blanco que fue de pureza suficiente para usarse en etapas posteriores. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,97-6,92 (m, 2H), 5,22 (q, *J*= 7,2 Hz, 2H), 3,82 (s, 3H), 1,60 (d, *J*= 7,2 Hz, 3H).

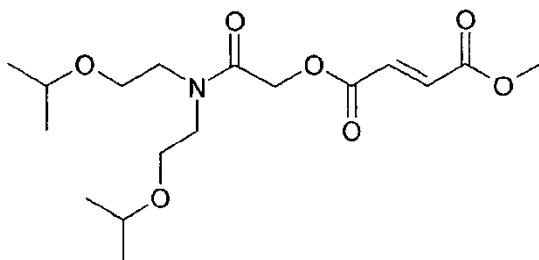
Ejemplo 25

40 **2-(4-Metilpiperazinil)-2-oxoetil-(2*E*)but-2-eno-1,4-dioato de metilo (25)**



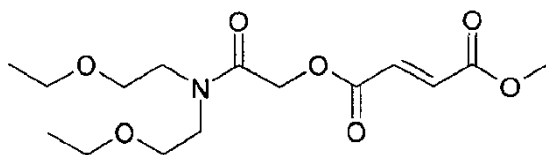
45 Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido 2-[(2*E*)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxil]acético (**23**) (0,50 g, 2,65 mmoles) se activó con clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDAC) (0,60 g, 3,18 mmoles) en 10 ml de diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C. Se añadieron *N*-metilpiperazina (0,353 ml, 0,31 g, 3,18 mmoles) y 4-(*N,N*-dimetil)aminopiridina (DMAP) (0,40 g, 3,18 mmoles) al ácido carboxílico activado. Después del procesamiento y aislamiento, y purificación en HPLC preparativa guiada por masa, dio 0,09 g (rendimiento del 13 %) del compuesto del título (**25**) como un sólido blanco después de la liofilización. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,93-6,78 (m, 2H), 4,77 (s, 2H), 3,73 (s, 3H), 3,56-3,54 (m, 2H), 3,35-3,25 (m, 2H), 2,37-2,33 (m, 4H), 2,31 (s, 3H). EM (ESI): *m/z* 271,13 (M+H)<sup>+</sup>.

50

**Ejemplo 26****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N,N-bis[2-(metiletoxietil)carbamoil]metilo (26)**

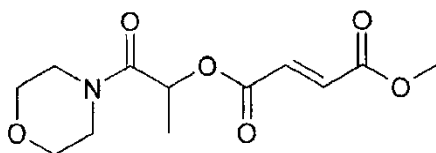
5  
10  
15

Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido 2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acético (**23**) (0,50 g, 2,65 mmoles) se activó con clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*'-etilcarbodiimida (EDAC) (0,60 g, 3,18 mmoles) en 10 ml de diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C. Se añadieron bis(2-isopropoxietil)amina (0,60 g, 3,18 mmoles) y 4-(*N,N*-dimetil)aminopiridina (DMAP) (0,40 g, 3,18 mmoles) al ácido carboxílico activado. Después del procesamiento y aislamiento, y purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Biotage) usando acetato de etilo (EtOAc) y hexanos (1:1), dio 0,30 g (rendimiento del 32 %) del compuesto del título (**26**) como un sólido blanco tras la refrigeración. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,95-6,86 (m, 2H), 4,98 (s, 2H), 3,76 (s, 3H), 3,50-3,47 (m, 10H), 1,10-1,05 (m, 12H). EM (ESI): *m/z* 360,16 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 27****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N,N-bis(2-etoxietil)carbamoil]metilo (27)**

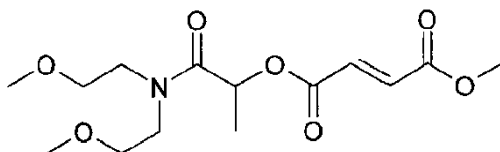
20  
25  
30

Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido 2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acético (**23**) (0,80 g, 6,14 mmoles) se activó con clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*'-etilcarbodiimida (EDAC) (1,40 g, 7,37 mmoles) en 20 ml de diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C. Se añadieron clorhidrato de bis(2-etoxietil)amina (1,18 g, 7,37 mmoles) y diisopropiletilamina (DIEA) (1,34 ml, 0,99 g, 7,67 mmoles) al ácido carboxílico activado. Después del procesamiento y aislamiento, y purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Biotage) usando acetato de etilo (EtOAc) y hexanos (1:1), dio 0,30 g (rendimiento del 15 %) del compuesto del título (**27**) como un sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,97 (d, *J* = 15,6 Hz, 1H), 6,94 (d, *J* = 1,6 Hz, 1H), 5,01 (s, 2H), 3,80 (s, 3H), 3,56-3,43 (m, 12H), 1,19 (q, *J* = 7,6 Hz, 6H). EM (ESI): *m/z* 332,20 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 28****1-Metil-2-morfolin-4-il-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo**

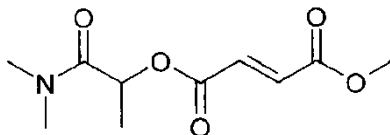
35  
40  
45

Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido 2-[(2E)-3-(metoxicarbonil) prop-2-enoiloxi]propanoico (**24**) (0,48 g, 2,40 mmoles) se activó con clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*'-etilcarbodiimida (EDAC) (0,64 g, 3,36 mmoles) en 10 ml de diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C. Se añadió morfolina (0,25 ml, 0,25 g, 2,88 mmoles) al ácido carboxílico activado. Después del procesamiento y aislamiento, y purificación en HPLC preparativa guiada por masa, dio 0,22 g (rendimiento del 33 %) del compuesto del título (**28**) como un sólido blanco después de la liofilización. P.f.: 70-73 °C. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,95-6,89 (m, 2H), 5,45 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,71-3,68 (m, 4H), 3,58-3,54 (m, 4H), 1,48 (d, *J* = 7,2 Hz, 3H). EM (ESI): *m/z* 272,13 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 29****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N,N-bis(2-metoxietil)carbamoil]etilo (29)**

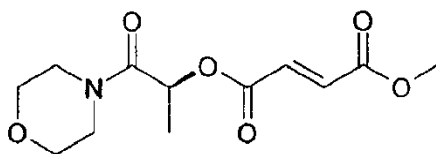
5

10 Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido 2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]propanoico (**24**) (0,48 g, 2,40 mmoles) se activó con clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (EDAC) (0,64 g, 3,36 mmoles) en 10 ml de diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C. Se añadió bis(2-metoxietil)amina (0,42 ml, 0,37 g, 2,88 mmoles) al ácido carboxílico activado. Después del procesamiento y aislamiento, y purificación en HPLC preparativa guiada por masa, dio 0,29 g (rendimiento del 38 %) del compuesto del título (**29**) como un sólido blanco después de la liofilización. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,94-6,88 (m, 2H), 5,52 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 3,80-3,79 (s, 3H), 3,57-3,49 (m, 8H), 3,33-3,31 (2s, 6H), 1,48 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). EM (ESI): *m/z* 318,13 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 30****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N,N-dimetilcarbamoil)etilo (30)**

20

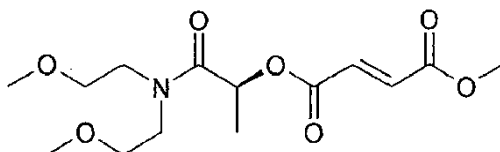
25 Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido 2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]propanoico (**24**) (0,48 g, 2,40 mmoles) se activó con clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (EDAC) (0,64 g, 3,36 mmoles) en 10 ml de diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C. Se añadieron clorhidrato de *N,N*-dimetilamina (0,23 g, 2,88 mmoles) y diisopropiletilamina (DIEA) (0,63 ml, 0,467 g, 3,61 mmoles) al ácido carboxílico activado. Después del procesamiento y aislamiento, y purificación en HPLC preparativa guiada por masa, dio 0,25 g (rendimiento del 46 %) del compuesto del título (**30**) como un sólido blanco después de la liofilización. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,93-6,86 (m, 2H), 5,46 (q, *J* = 6,8 Hz 1H), 3,79 (s, 3H), 3,06-2,97 (2s, 6H), 1,47 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H). EM (ESI): *m/z* 230,13 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 31****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (1S)-1-metil-2-morfolin-4-il-2-oxoetilo (31)**

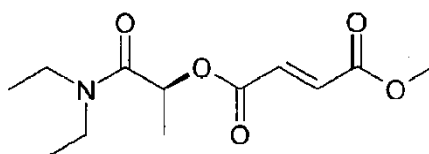
35

40 Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido (2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoico (hidrogenofumarato de metilo, MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) se activó con clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N*-etilcarbodiimida (EDAC) (0,81 g, 4,20 mmoles) en 10 ml de diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C. Se añadieron (2S)-2-hidroxi-1-morfolin-4-il-propan-1-ona (0,48 g, 3,07 mmoles) y 4-(*N,N*-dimetil)aminopiridina (DMAP) (0,40 g, 3,18 mmoles) al ácido carboxílico activado. Después del procesamiento y aislamiento, y purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Biotage) usando acetato de etilo (EtOAc) y hexanos (aproximadamente 3:2) dio 0,42 g (rendimiento del 51 %) del compuesto del título (**31**) como un sólido blanco. P.f.: 79-82 °C; RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>CN, 400 MHz): δ 6,90-6,81 (m, 2H), 5,44 (q, *J* = 6,8 Hz 1H), 3,78 (s, 3H), 3,65-3,60 (m, 4H), 3,51-3,50 (m, 4H), 1,42 (d, *J* = 6,8 Hz 3H). EM (ESI): *m/z* 272,05 (M+H)<sup>+</sup>.

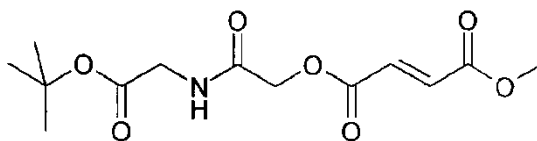
45

**Ejemplo 32****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (1S)-1-[N,N-bis(2-metoxietil)carbamoil]etilo (32)**

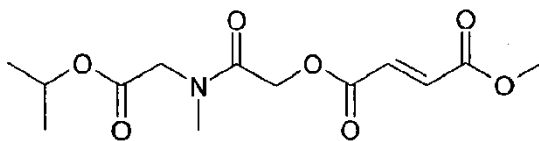
5  
10  
15  
Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido (2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoico (hidrogenofumarato de metilo, MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) se activó con clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDAC) (0,88 g, 4,60 mmoles) en 20 ml de diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C. Se añadieron (2S)-2-hidroxi-*N,N*-bis(2-metoxietil)propanamida (0,63 g, 3,07 mmoles) y 4-(*N,N*-dimetil)aminopiridina (DMAP) (0,40 g, 3,18 mmoles) al ácido carboxílico activado. Después del procesamiento y aislamiento, y purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Biotage) usando acetato de etilo (EtOAc) y hexanos (2:1), dio 0,16 g (rendimiento del 14 %) del compuesto del título (**32**) como un aceite transparente. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400MHz): δ 6,93-6,77 (m, 2H), 5,53 (q, *J* = 6,4 Hz, 1H), 3,80 (s, 3H), 3,58-3,50 (m, 8H), 3,47-3,32 (2s, 6H), 1,49 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H). EM (ESI): *m/z* 318,05 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 33****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (1S)-1-(N,N-dietilcarbamoil)etilo (33)**

20  
25  
30  
Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido (2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoico (hidrogenofumarato de metilo, MHF) (0,50 g, 3,84 mmoles) se activó con clorhidrato de *N*-(3-dimetilaminopropil)-*N'*-etilcarbodiimida (EDAC) (0,88 g, 4,60 mmoles) en 12 ml de diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C. Se añadieron (2S)-*N,N*-dietil-2-hidroxiopropanamida (0,44 g, 3,07 mmoles) (0,44 g, 3,07 mmoles) y 4-(*N,N*-dimetil)aminopiridina (DMAP) (0,40 g, 3,18 mmoles) al ácido carboxílico activado. Después del procesamiento y aislamiento, y purificación en HPLC preparativa guiada por masa/líofilización y por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice (Biotage) usando acetato de etilo (EtOAc) y hexanos, dio 0,17 g (rendimiento del 18 %) del compuesto del título (**33**) como un aceite transparente. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz): δ 6,95-6,87 (m, 2H), 5,43 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H) 3,80 (s, 3H), 3,50-3,26 (m, 4H), 1,49 (d, *J* = 6,4 Hz, 3H), 1,26 (t, *J* = 6,8, 3H), 1,12 (t, *J* = 7,6 Hz, 3H). EM (ESI): *m/z* 258,06 (M+H)<sup>+</sup>.

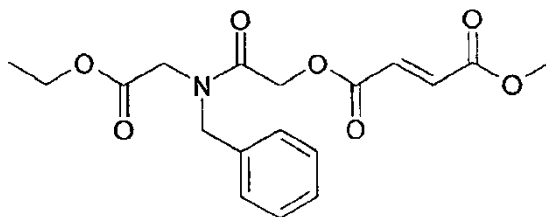
**Ejemplo 34****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-[(terc-butil)oxicarbonil]metil)carbamoil)metilo (34)**

40  
45  
Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido 2-[(2E)-3-(metoxicarbonil) prop-2-enoiloxi]acético (**23**) (0,50 g, 2,65 mmoles) se activó con cloruro de oxalilo (0,30 ml, 0,40 g, 3,18 mmoles) en diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C y en presencia de una cantidad catalítica de *N,N*-dimetilformamida (DMF). Una solución de DCM del cloruro de ácido en bruto recientemente preparada se hizo reaccionar a aproximadamente 0 °C (baño de hielo) con éster *terc*-butílico de glicina (H-GlyOtBu) (0,53 g, 3,18 mmoles) en DCM y en presencia de 4-(*N,N*-dimetil)aminopiridina (DMAP) (0,40 g, 3,18 mmoles). Después del procesamiento acuoso y aislamiento, y purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, dio 0,16 g (rendimiento del 20 %) del compuesto del título (**34**) como material semi-sólido. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, todos los rotámeros): δ 6,95-6,69 (m, 2H), 6,63 (m a, 1H), 4,73 (s, 2H), 3,99 (d, *J* = 4,8 Hz, 2H), 3,83 (s, 3H), 1,48 (s, 9H). EM (ESI): *m/z* 324,05 (M+Na)<sup>+</sup>.

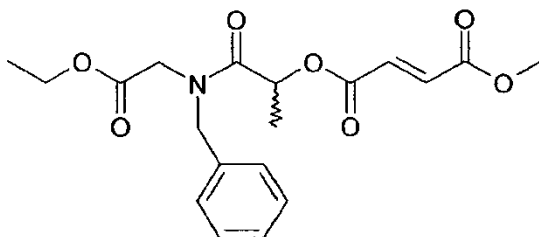
**Ejemplo 35****(N-Metil-N-[(metiletil)oxicarbonil]metil}carbamoil)metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo (35)**

5

10 Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido 2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acético (**23**) (0,50 g, 2,65 mmoles) se activó con cloruro de oxalilo (0,30 ml, 0,40 g, 3,18 mmoles) en diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C y en presencia de una cantidad catalítica de *N,N*-dimetilformamida (DMF). Una solución de DCM del cloruro de ácido en bruto recientemente preparada se hizo reaccionar a aproximadamente 0 °C (baño de hielo) con éster isopropílico de sarcosina (H-Sar-OiPr) (0,41 g, 3,18 mmoles) y diisopropiletilamina (DIEA) (0,41 ml, 0,304 g, 2,35 mmoles) en DCM y en presencia de 4-(*N,N*-dimetil)aminopiridina (DMAP) (0,10 g, 0,82 mmoles). Después del procesamiento acuoso y aislamiento, y purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, dio 0,214 g (rendimiento del 27 %) del compuesto del título (**35**) como un sólido amarillo pálido. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, todos los rotámeros): δ 6,94-6,90 (m, 2H), 5,09-4,99 (m, 1H), 4,89-4,79 (2s, 2H), 4,07-3,95 (2s, 2H), 3,78 (s, 3H), 3,04-2,98 (2s, 3H), 1,27-1,21 (m, 6H). EM (ESI): *m/z* 302,04 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 36****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[(etoxicarbonil)metil]-N-bencilcarbamoil}metilo (36)**

25 Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido 2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acético (**23**) (0,50 g, 2,65 mmoles) se activó con cloruro de oxalilo (0,27 ml, 0,40 g, 3,15 mmoles) en diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C y en presencia de una cantidad catalítica de *N,N*-dimetilformamida (DMF). Una solución de DCM del cloruro de ácido en bruto recientemente preparada se hizo reaccionar a aproximadamente 0 °C (baño de hielo) con éster etílico de *N*-bencilglicina (Bn-Gly-OEt) (0,61 g, 3,18 mmoles) en DCM y un exceso de diisopropiletilamina (DIEA) en presencia de una cantidad catalítica de 4-(*N,N*-dimetil)aminopiridina (DMAP). Después del procesamiento acuoso y aislamiento, y purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, dio 0,12 g (rendimiento del 13 %) del compuesto del título (**36**) como un sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, todos los rotámeros): δ 7,37-7,20 (m, 5H), 6,97-6,86 (m, 2H), 4,94-4,83 (2s, 2H), 4,63-4,55 (2s, 2H), 4,18-4,14 (m, 2H), 4,04-3,88 (2s, 2H), 3,79 (s, 3H), 1,24-1,20 (m, 3H). EM (ESI): *m/z* 364,15 (M+H)<sup>+</sup>.

**Ejemplo 37****Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[(etoxicarbonil)metil]-N-bencilcarbamoil}etilo (37)**

40 Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido 2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]propanoico (**24**) (0,50 g, 2,47 mmoles) se activó con cloruro de oxalilo (0,25 ml, 0,35 g, 2,71 mmoles) en diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C y en presencia de una cantidad catalítica de *N,N*-dimetilformamida (DMF). Una solución de DCM del cloruro de ácido en bruto recientemente preparada se hizo reaccionar a aproximadamente 0 °C (baño de hielo) con éster etílico de *N*-bencilglicina (Bn-Gly-OEt) (0,56 g, 2,90 mmoles) en DCM y diisopropiletilamina (DIEA) (0,506 ml, 0,376 g, 2,90 mmoles) en presencia de una cantidad catalítica de 4-(*N,N*-dimetil)aminopiridina (DMAP). Después del procesamiento acuoso y aislamiento, y purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, dio 0,31 g

45

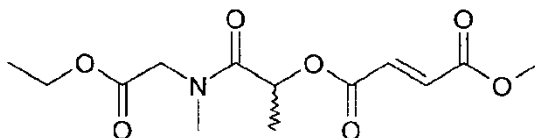


(rendimiento del 33 %) del compuesto del título (**37**) como un sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, todos los rotámeros): δ 7,37-7,17 (m, 5H), 6,88-6,77 (m, 2H), 5,49 (q, *J* = 6,4 Hz, 0,75H), 5,33 (q, *J* = 6,4 Hz, 0,25 H), 4,7-4,27 (m, 3H), 4,16-4,13 (m, 2H), 3,83-3,63 (m, 4H), 1,53 (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,21 (t, *J* = 4,0 Hz, 3H). EM (ESI): *m/z* 378,10 (M+H)<sup>+</sup>.

5

### Ejemplo 38

#### Metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[(etoxicarbonil)metil]-N-metilcarbamoil}etilo (38)



10

Siguiendo el Procedimiento general B2, ácido 2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]propanoico (**24**) (0,50 g, 2,47 mmoles) se activó con cloruro de oxalilo (0,25 ml, 0,35 g, 2,71 mmoles) en diclorometano (DCM) a aproximadamente 0 °C y en presencia de una cantidad catalítica de *N,N*-dimetilformamida (DMF). Una solución de DCM del cloruro de ácido en bruto recientemente preparada se hizo reaccionar a aproximadamente 0 °C (baño de hielo) con éster etílico de sarcosina (H-Sar-OEt) (0,43 g, 2,90 mmoles) y diisopropiletilamina (DIEA) (0,506 ml, 0,376 g, 2,90 mmoles) en DCM y en presencia de una cantidad catalítica de 4-(*N,N*-dimetil)aminopiridina (DMAP). Después del procesamiento acuoso y aislamiento, y purificación por cromatografía ultrarrápida en gel de sílice, dio 0,30 g (rendimiento del 39 %) del compuesto del título (**38**) como un sólido blanco. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz, todos los rotámeros): δ 6,88-6,81 (m, 2H), 5,47 (q, 0,75 H, *J* = 6,8 Hz), 5,32 (q, 0,25H, *J* = 6,8 Hz), 4,40-4,33 (m, 1H), 4,16-4,11 (m, 2H), 3,94-3,75 (m, 4H), 3,10 (s, 2,25H), 2,96 (s, 0,75H), 1,50-1,44 (dd, 3H), 1,26-1,20 (m, 3H). EM (ESI): *m/z* 302,09 (M+H)<sup>+</sup>.

15

20

### Ejemplo 52

#### Procedimientos para determinar la estabilidad de profármacos *in vitro*

25

Para un profármaco puede ser deseable que el profármaco siga intacto (es decir, sin escindir) mientras está en la circulación sistémica y se escinda (es decir, libere el fármaco parental) en el tejido diana. Alternativamente, puede ser deseable que el profármaco siga intacto (es decir, sin escindir) mientras está en el tubo gastrointestinal y se escinda (es decir, libere el fármaco parental) después de ser absorbido o captado de la luz gastrointestinal, por ejemplo, en tanto los enterocitos que revisten la luz gastrointestinal como en la sangre. Un nivel útil de estabilidad puede determinarse al menos en parte por el mecanismo y farmacocinética del profármaco. En general, los profármacos que son más estables en pancreatina o ensayo de lavado colónico y son más lábiles en preparaciones de plasma de rata, plasma humano, hígado S9 de rata y/o hígado S9 humano pueden ser útiles como profármaco administrado por vía oral. En general, los profármacos que son más estables en preparaciones de plasma de rata, plasma humano, hígado S9 de rata y/o hígado S9 humano y que son más lábiles en preparaciones de homogeneizado celular, tales como preparaciones de S9 de CaCo<sub>2</sub>, puede ser útiles como profármacos sistémicamente administrados y/o pueden ser más eficaces en administrar un profármaco a un tejido diana. En general, profármacos que son más estables en un intervalo de tampones de pH fisiológico (pH 6,0 a pH 8,5) pueden ser más útiles como profármacos. En general, los profármacos que son más lábiles en preparaciones de homogeneizado celular, tales como preparaciones de S9 de CaCo<sub>2</sub>, pueden escindirse intracelularmente para liberar el fármaco parental a un tejido diana. Los resultados de las pruebas, tales como aquellas descritas en este ejemplo, para determinar la escisión enzimática o química de los profármacos *in vitro* pueden usarse para seleccionar profármacos para la prueba *in vivo*.

30

35

40

45

Las estabildades de los profármacos pueden evaluarse en uno o más sistemas *in vitro* usando varias preparaciones siguiendo procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, procedimientos usados para determinar la estabilidad de profármacos en homogeneizado de S9 de Caco<sub>2</sub>, hígado S9 de rata, plasma de rata, pancreatina porcina, lavado colónico de rata y tampón de pH 8,0 se describen en el presente documento.

50

El homogeneizado de S9 de Caco<sub>2</sub> se preparó usando el siguiente procedimiento. Células CaCo<sub>2</sub> se cultivaron en cultivo durante 21 días antes de la recogida. El medio de cultivo se eliminó del recipiente de cultivo y la monocapa se aclaró dos veces con 10-15 ml de tampón PBS enfriado. El tampón PBS (7-10 ml) se añadió al matraz y las células se rasparon de la superficie de crecimiento y se transfirieron a un tubo de centrifuga. Las células se sedimentaron por centrifugación a 1500 rpm durante 5 min a 4 °C. El sobrenadante se eliminó y el sedimento de células se lavó con PBS enfriado en hielo y se resedimentó por centrifugación. El sobrenadante se eliminó y el sedimento se resuspendió en tampón de lisis de células (KCl 0,15 M y tampón fosfato de sodio 10 mM, pH 7,4). Las células se lisaron por sonicación a 4 °C usando un sonicador de sondas. Entonces, las células lisadas se transfirieron a viales y se centrifugaron a 1600 rpm durante 10 min a 4 °C para eliminar células intactas, núcleos y residuos celulares grandes. El sobrenadante se eliminó y se transfirió a un tubo para centrifugación a 8600 rpm durante 20 min a 4 °C. Después de la centrifugación, el sobrenadante resultante que representa la fracción S9 del homogeneizado de células CaCo<sub>2</sub> se extrajo cuidadosamente y se separó en alícuotas en viales para almacenamiento a -80 °C hasta el

55

60

momento de uso. En el momento de uso, el lisado de S9 de CaCo2 se diluyó a 0,5 mg/ml en tampón Tris 0,1 M, pH 7,4.

5 Hígado S9 de rata (XenoTech, Lenexa, KS; R1000.S9, 20 mg/ml) se diluyó a 0,5 mg/ml en tampón fosfato de potasio 0,1 M a pH 7,4 y cofactor de NADPH 1 mM.

Plasma de rata (Pel-Freez<sup>®</sup> Biologicals, Rogers, AR; 36150) se usó como se obtuvo del proveedor.

10 Pancreatina porcina (Sigma Aldrich, St. Louis, MO; P1625-100G) se diluyó a 10 mg/ml en tampón Tris 0,1 M, pH 7,4.

Para preparar el lavado colónico de rata, el colon entre el ciego y el recto se reseccionó de una rata sacrificada. Cinco a 10 ml de tampón PBS a pH 7,4 (dependiendo del peso de la rata) se lavaron en la luz del intestino grueso y se recogieron en un vaso de precipitados de vidrio de 250 ml a 0 °C (baño de hielo). El lavado colónico se transfirió a tubos cónicos de 10 ml usando una jeringuilla de 10 ml equipada de un filtro. Las muestras del lavado colónico de 15 0,5 ml se almacenan a -80 °C hasta el momento de uso. Se usó colónico sin dilución.

Los ensayos de estabilidad enzimática para el profármaco en S9 de CaCo2, hígado S9 de rata, plasma de rata, pancreatina de cerdo y colónico de rata se realizaron usando el siguiente procedimiento. Noventa (90) µl de lisado se separan en alícuotas en tubos designados sobre placas agrupadas. El lisado se preincubó durante 10 min a 37 °C. Con la excepción del momento de tiempo t(0), 10 µl de una solución 400 µM del compuesto de prueba en tampón Tris 0,1 M, pH 7,4, se añadieron a múltiples pocillos que representaban diferentes tiempos de incubación. Las muestras se incubaron a 37 °C. En cada momento de tiempo, la reacción se inactivó añadiendo 300 µl de etanol al 100 %. Las muestras se mezclaron minuciosamente, los tubos se transfirieron a una placa con fondo en V y se guardaron a -20 °C. Para el momento de tiempo t(0), el lisado se inactivó con 300 µl de etanol al 100 % helado, se mezcló minuciosamente, se añadieron 10 µl de compuesto de prueba 400 µM y se mezclaron, y el tubo de muestra se transfirió a una placa de fondo en V y se guardó a -20 °C. Para el análisis, 180 µl de cada muestra se transfirieron a una placa de fondo en V de 96 pocillos y se selló. Después de recogerse todos los momentos de tiempo, la placa se centrifugó durante 10 min a 5600 rpm a 4 °C. Entonces, ciento cincuenta (150) µl de cada pocillo se transfirieron a una placa de fondo redondo de 96 pocillos. Las muestras se analizaron usando CL/EM/EM para determinar las 30 concentraciones de profármaco y fármaco parental.

Para los estudios de estabilidad a pH 8,0, 190 µl de tampón NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 150 mM a pH 8,0 se añadieron a cada tubo de muestra. Diez (10) µl del compuesto de prueba 20 mM se añadieron a cada tubo y se mezclaron. Las muestras se incubaron durante 60 min a 37 °C. Tras la incubación, las muestras se transfirieron a temperatura ambiente y se añadieron 800 µl de 50 % de ACN en agua a cada tubo. Las muestras se analizaron usando CL/EM/EM para 35 determinar las concentraciones de profármaco y fármaco parental.

Se realizó análisis de CL-EM/EM para MHF usando un API 4000 equipado con un HPLC de Agilent 1100 y un inyector automático de Leap Technologies. Se usó una columna de HPLC Onyx Monolithic C18 (CH0-7644) de Phenomenex a una temperatura de 35 °C, velocidad de flujo de 2,0 ml/min, volumen de inyección de 30 µl y un tiempo de ejecución de 3 min. La fase móvil A1 fue 0,1 % de ácido fórmico en agua y la fase móvil AII fue 0,1 % de ácido fórmico en acetonitrilo. El gradiente fue 98 % de A1 / 2 % de AII en el momento 0; 98 % de A1 / 2 % de AII en el momento 0,1 min; 5 % de A1 / 95 % de AII en el momento 1,4 min; 5 % de A1 / 95 % de AII en el momento 2,2 min; 98 % de A1 / 2 % de AII en el momento 2,3 min; y 98 % de A1 / 2 % de AII en el momento 3,0 min. El contenido de 45 MHF se determinó usando modo de ión negativo (Q1 128,94; Q2 71).

La estabilidad de DMF y ciertos profármacos de MHF proporcionados por la presente divulgación en diversos medios se presenta en la Tabla 1.

50 Tabla 1. Estabilidad de profármacos de MHF en medios biológicos.

Escisión del profármaco parental T <sub>1/2</sub> (min)							
Comp	CaCo2	Hígado de rata	Plasma de rata	Pancreatina de cerdo	Lavado colónico de rata	pH 8,0 <sup>s</sup>	
DMF	2	1	2	0	>60	0	
10	3	1	1	4	>60	42	
4	5	2	1	2	33	40	
2	4	9	9	1	25	17	
9	8	6	1	4	>60	47	
1	8	2	1	8	>60	63	
5	30	10	2	3	>60	53	
3	56	22	1	8	>60	53	
8	52	23	6	15	27	141	

<sup>s</sup> Porcentaje de DMF o profármaco restante después de 60 minutos.

**Ejemplo 53****Biodisponibilidad de hidrogenofumarato de metilo tras la administración oral de profármacos de hidrogenofumarato de metilo**

- 5 Se obtuvieron ratas comercialmente y se canularon previamente en la vena yugular. Los animales estuvieron conscientes en el momento del experimento. Todos los animales ayunaron durante la noche y hasta 4 horas después de la dosificación de un profármaco de fórmula (I).
- 10 Se recogieron muestras de sangre de ratas (0,3 ml/muestra) de todos los animales antes de la dosificación y en diferentes momentos de tiempo hasta 24 h después de la dosis en tubos que contenían EDTA. Se inactivaron dos alícuotas (100 µl cada una) con 300 µl de metanol y se guardaron a -20 °C antes del análisis.
- 15 Para preparar patrones de análisis, 90 µl de sangre de rata se inactivaron con 300 µl de metanol seguido de 10 µl de patrón de enriquecimiento y/o 20 µl de patrón interno. Los tubos de muestra se agitaron con vórtex durante al menos 2 min y luego se centrifugaron a 3400 rpm durante 20 min. Entonces, el sobrenadante se transfirió a un vial de inyección o placa para análisis por CL-EM-EM.
- 20 Para preparar muestras para análisis, 20 µl de patrón interno se añadieron a cada tubo de muestra extinguida. Los tubos de muestra se agitaron con vórtex durante al menos 2 min y luego se centrifugaron a 3400 rpm durante 20 min. Entonces, el sobrenadante se transfirió a un vial de inyección o placa para análisis por CL-EM-EM.
- 25 El análisis de CL-EM-EM se realizó usando un API 4000 (MS12) equipado con HPLC Agilent 1100 y un inyector automático de Leap Technologies. Se usaron las siguientes condiciones de la columna de HPLC: columna de HPLC: Onyx Monolithic C18 Phenomex (PN CH0-7644), 35C; velocidad de flujo 2,0 ml/min; volumen de inyección 30 µl; tiempo de ejecución 3 min; fase móvil A: 0,1 % de ácido fórmico en agua; fase móvil B: 0,1 % de ácido fórmico en acetonitrilo (ACN); gradiente: 98 % de A / 2 % de B a 0,0 min; 98 % de A / 2 % de B a 0,1 min; 5 % de A / 95 % de B a 1,4 min; 5 % de A / 95 % de B a 2,2 min; 98 % de A / 2 % de B a 2,3 min; y 98 % de A / 2 % de B a 3,0 min. MHF se monitorizó en modo de ión negativo.
- 30 Se realizó análisis no compartimental usando el software WinNonlin (v.3.1 Professional Version, Pharsight Corporation, Mountain View, California) en perfiles de animales individuales. El resumen estadísticos de los principales cálculos estimados de parámetros se realizó para  $C_{m\acute{a}x}$  (concentración observada pico tras la dosificación),  $T_{m\acute{a}x}$  (el tiempo hasta la máxima concentración es el tiempo al que se observó la concentración pico),  $ABC_{(0-t)}$  (área bajo la concentración en la curva de plasma-tiempo de tiempo cero al último tiempo de recogida, estimado usando el procedimiento trapezoidal lineal logarítmico),  $ABC_{(0-\infty)}$ , (área bajo la curva de concentración en plasma-tiempo de tiempo cero a infinito, estimado usando el procedimiento trapezoidal lineal logarítmico al último tiempo de recogida con extrapolación a infinito) y  $t_{1/2,z}$  (semivida terminal).
- 35 MHF, DMF o profármaco de MHF se administró por sonda nasogástrica oral a grupos de cuatro a seis ratas Sprague-Dawley macho adultas (aproximadamente 250 g). Los animales estuvieron conscientes en el momento del experimento. MHF, DMF o profármaco de MHF se administró por vía oral o colónicamente en 3,4 % de Phosal a una dosis de 70 mg-equivalentes de MHF por kg de peso corporal.
- 40 El porcentaje de biodisponibilidad relativa (% de F) de MHF se determinó comparando el área bajo la concentración de MHF frente a la curva de tiempo (ABC) siendo la administración oral o colónica de DMF, MHF o profármaco de MHF con el ABC de la curva de concentración de MHF frente al tiempo tras la administración intravenosa de MHF en una base normalizada a la dosis.
- 45 Los profármacos de MHF (3), (9) y (11), cuando se administran por vía oral a ratas a una dosis de 30 mg/kg de MHF-equivalentes en acetato sódico 50 mM a pH 4,6 mostraron una biodisponibilidad oral absoluta (con respecto a IV) que oscila de aproximadamente el 43 % a aproximadamente el 60 % con una biodisponibilidad promedio de aproximadamente el 51 %.

**Ejemplo 54****Modelo animal de EAE para evaluar la eficacia terapéutica de profármacos de MHF para tratar esclerosis múltiple*****Animales e inducción de EAE***

- 60 Ratones C57BL/6 hembra, 8-10 semanas de edad (Harlan Laboratories, Livermore, CA) se inmunizaron subcutáneamente en los flancos y la región medio-escapular con 200 µg de péptido de glicoproteínas de oligodendrocitos de mielina (MOG<sub>35-55</sub>) (sintetizada por Invitrogen) emulsionada (relación de volumen 1:1) con adyuvante completo de Freund (CFA) (que contiene 4 mg/ml de *Mycobacterium tuberculosis*). La emulsión se preparó por el procedimiento de extrusión con jeringuilla con dos jeringuillas de vidrio Luer-Lock conectadas por una
- 65

llave de paso de 3 vías. A los ratones también se les administró una inyección intraperitoneal de 200 ng de toxina Pertussis (List Biological Laboratories, Inc, Campbell, CA) el día de la inmunización y en el día dos después de la inmunización. Los ratones se pesaron y se examinaron diariamente para signos clínicos de encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE). Se proporcionó alimento y agua a voluntad y una vez los animales empiezan a mostrar enfermedad, se proporcionó alimento sobre el fondo de la caja. Todos los experimentos fueron autorizados por el Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales.

#### *Evaluación clínica*

Se puntuaron ratones diariamente empezando en el día 7 después de la inmunización. La escala de puntuación clínica fue del siguiente modo (Miller y Karplus, Current Protocols in Immunology 2007, 15,1,1-15,1,18): 0 = normal; 1 = cola flácida o debilidad de las extremidades traseras (definido por patinamientos de las patas entre los barrotes del techo de la jaula mientras camina); 2 = cola flácida y debilidad de las extremidades traseras; 3 = parálisis parcial de las extremidades traseras (definido como que no lleva peso en las extremidades traseras pero todavía puede mover una o ambas extremidades traseras un cierto grado); 4 = parálisis completa de las extremidades traseras; 5 = estado moribundo (incluye parálisis de las extremidades delanteras) o muerte.

#### *Tratamiento*

DMF o profármaco de MHF se disuelven en 0,5 % de metocelulosa/0,1 % de Tween80 en agua destilada y se administra por sonda nasogástrica oral dos veces al día empezando a partir del día 3 después de la inmunización hasta el fin. Se disolvió dexametasona en 1X tampón PBS y se administró subcutáneamente una vez al día. Los grupos de tratamiento fueron los siguientes: vehículo solo, 15 mg/kg de DMF, 20 mg/kg de profármaco de MHF y 1 mg/kg de dexametasona.

#### **Descripción 1**

##### **Uso de un modelo animal para evaluar la eficacia en el tratamiento de psoriasis**

Puede usarse el modelo de ratón inmunodeficiente combinado grave (SCID) para evaluar la eficacia de compuestos para tratar psoriasis en seres humanos (Boehncke, Ernst Schering Res Found Workshop 2005, 50, 213-34; y Bhagavathula y col., JPharmacol Exptl Therapeutics 2008, 324(3), 938-947).

Se usan ratones SCID como receptores de tejido. Una biopsia de cada voluntario normal o psoriásico se trasplanta sobre la superficie dorsal de un ratón receptor. El tratamiento se inicia 1 a 2 semanas después del trasplante. Los animales con los trasplantes de piel humana se dividen en grupos de tratamiento. Los animales se tratan dos veces al día durante 14 días. Al final del tratamiento, los animales se fotografían y luego se sacrifican. El tejido humano trasplantado junto con la piel del ratón circundante se extirpa quirúrgicamente y se fija en 10 % de formalina y se obtienen muestras para microscopía. Se mide el espesor epidérmico. Las secciones de tejido se tiñen con un anticuerpo para el antígeno asociado a proliferación Ki-67 y con un anticuerpo monoclonal anti-CD3<sup>+</sup> humano para detectar linfocitos T humanos en el tejido trasplantado. Las secciones también se sondan con anticuerpos para c-myc y  $\beta$ -catenina. Un tratamiento de respuesta positiva se refleja por una reducción en el espesor epidérmico promedio de los trasplantes de piel psoriásica. Una respuesta positiva también está asociada con expresión reducida de Ki-67 en queratinocitos.

#### **Descripción 2**

##### **Modelo animal para evaluar la eficacia terapéutica de profármacos de MHF para tratar esclerosis múltiple**

Se realizan experimentos en ratones hembra de 4-6 semanas de edad que pertenecen a la cepa C57BL/6 que pesan 17-20 g. Se induce activamente encefalomiелitis autoinmunitaria experimental (EAE) usando el péptido 35-55 de glicoproteínas de oligodendrocitos de mielina de  $\geq 95$  % de pureza (MOG35-55, MEVGWYRSPFSRVVHLYRNGK). Cada ratón se anestesia y recibe 200  $\mu$ g de péptido MOG y 15  $\mu$ g de extracto de saponina de corteza de Quillaja emulsionado en 100  $\mu$ l de solución salina tamponada con fosfato. Un volumen de 25  $\mu$ l se inyecta subcutáneamente sobre cuatro áreas de los flancos. Los ratones también se inyectan intraperitonealmente con 200 ng de toxina Pertussis en 200  $\mu$ l de PBS. Se administra una segunda inyección idéntica de toxina Pertussis después de 48 h.

Un profármaco de MHF se administra a dosis variables. Los animales de control reciben 25  $\mu$ l de DMSO. El tratamiento diario se extiende del día 26 al día 36 después de la inmunización. Se obtienen puntuaciones clínicas diariamente desde el día 0 después de la inmunización hasta el día 60. Se puntúan signos clínicos usando el siguiente protocolo: 0, sin signos detectables; 0,5, flojedad de la cola distal, aspecto encorvado y comportamiento tranquilo; 1, cola completamente flácida; 1,5, cola flácida y debilidad de las extremidades traseras (paso inestable y mal agarre con las extremidades traseras); 2, parálisis parcial de las extremidades traseras unilateral; 2,5, parálisis de las extremidades traseras bilateral; 3, parálisis completa de las extremidades traseras bilateral; 3,5, parálisis completa de las extremidades traseras y parálisis de las extremidades delanteras unilateral; 4, parálisis total de las

extremidades traseras y extremidades delanteras (Eugster y col., Eur J Immunol 2001, 31, 2302-2312).

La inflamación y desmielinización se evalúan por histología en secciones del SNC de ratones con EAE. Los ratones se sacrifican después de 30 ó 60 días y las médulas espinales completas se extraen y se ponen en solución de sacarosa 0,32 M a 4 °C durante la noche. Los tejidos se preparan y se seccionan. Se usa tinción Luxol fast blue para observar áreas de desmielinización. Se usa tinción con hematoxilina y eosina para resaltar áreas de inflamación tiñendo de forma oscura los núcleos de células mononucleares. Las células inmunitarias teñidas con H&E se cuentan de una manera ciega bajo un microscopio óptico. Las secciones se separan en materia gris y blanca y cada sector se cuenta manualmente antes de combinarse para dar un total para la sección. Los linfocitos T se inmunomarcán con anticuerpo monoclonal anti-CD3+. Después de lavar, las secciones se incuban con anticuerpo secundario de cabra anti-HRP de cabra. Entonces, las secciones se lavan y se contratiñen con verde de metilo. Los esplenocitos aislados de ratones 30 y 60 días después de la inmunización se tratan con tampón de lisis para eliminar glóbulos rojos. Entonces, las células se resuspenden en PBS y se cuentan. Células a una densidad de aproximadamente  $3 \times 10^6$  células/ml se incuban durante la noche con 20 µg/ml de péptido MOG. Los sobrenadantes de células estimuladas se ensayan para niveles de proteína de IFN- $\gamma$  usando un sistema de inmunoensayo de IFN- $\gamma$  de ratón apropiado.

### Descripción 3

#### **Uso de un modelo animal para evaluar la eficacia en el tratamiento de: Enfermedad inflamatoria del intestino**

Modelos animales de enfermedad inflamatoria del intestino se describen por Jurjus y col., J Pharmacol Toxicol Methods 2004, 50, 81-92; Villegas y col., Int'l Immunopharmacol 2003, 3, 1731-1741; y Murakami y col., Biochemical Pharmacol 2003, 66, 1253-1261. Por ejemplo, el siguiente protocolo puede usarse para evaluar la eficacia de un compuesto para tratar enfermedad inflamatoria del intestino.

Se usan ratones ICR hembra. Los ratones se dividen en grupos de tratamiento. A los grupos se le administra tanto agua (control), 5 % de DSS en agua de grifo se administra al principio del experimento para inducir colitis, como diversas concentraciones del compuesto de prueba. Después de administrar el compuesto de prueba durante 1 semana, también se administra 5 % de DSS en agua de grifo a los grupos que reciben el compuesto de prueba durante 1 semana. Al final del experimento, todos los ratones se sacrifican y se extrae el intestino grueso. Se obtienen muestras de mucosa colónica y se homogeneizan. Se cuantifican los mediadores proinflamatorios (por ejemplo, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , PGE2 y PGF2 $\alpha$ ) y concentraciones de proteína. Cada intestino grueso extirpado se examina histológicamente y se puntúa la lesión al colon.

### Descripción 4

#### **Ensayo clínico para evaluar la eficacia en el tratamiento de asma**

Se enrolan sujetos adultos (no fumadores) con asma de leve a moderado estable (véase, por ejemplo, Van Schoor y Pauwels, Eur Respir J 2002, 19, 997-1002). Se usa un diseño aleatorizado, de doble ciego, controlado por placebo, de dos periodos y de grupos cruzados. En el día de selección 1, los pacientes reciben una exposición a metacolina (< 8 mg/ml). El volumen espiratorio forzado del nivel inicial en un segundo (FEV1) antes de cada exposición posterior debe estar dentro del 15 % del FEV1 del nivel inicial de selección obtenido en la primera visita. Una exposición a neuroquinina ( $1 \times 10^{-6}$  mol/ml) en el día de selección 2 se realiza 24-72 h después. El periodo de estudio uno comienza en el plazo de 10 días después de la visita dos. Primero, se realiza una exposición a metacolina y a neuroquinina-A (NKA) en los días 1 y 0, respectivamente. En la visita cuatro, el compuesto de prueba se administra a una dosis apropiada y durante un periodo de tiempo apropiado. En los 2 últimos días del periodo de tratamiento, las exposiciones de metacolina y NKA se repiten. Tras el periodo de tratamiento uno hay un periodo de lavado de aproximadamente 5 semanas, tras el cual los pacientes cruzaron a otra medicación o placebo en el periodo de estudio dos, que es idéntico al periodo uno. Las pruebas de la función pulmonar se realizan usando un espirómetro. La exposición a metacolina se realiza inhalando concentraciones duplicadas de metacolina hasta que el FEV1 cae >20 % del FEV1 del nivel inicial después del diluyente de ese día como se describe por Cockcroft y col., Clin Allergy 1977, 7, 235-243. La exposición a NKA se realiza inhalando concentraciones crecientes de NKA como se describe por Van Schoor y col., Eur Respir J 1998, 12, 17-23. El efecto de un tratamiento sobre la sensibilidad de las vías respiratorias se determina usando procedimientos estadísticos apropiados.

### Descripción 5

#### **Uso de un modelo animal para evaluar la eficacia en el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica**

Puede usarse un modelo animal usando ratones crónicamente expuestos al humo de cigarros para evaluar la eficacia en el tratamiento de enfisema (véase, por ejemplo, Martorana y col., Am J Respir Crit Care Med 2005, 172, 848-835; y Cavarra y col., Am J Respir Crit Care Med 2001, 164, 886-890). Se usan ratones C57B1/6J macho de seis semanas de edad. En el estudio agudo, los ratones se exponen tanto al aire ambiente como al humo de cinco

cigarros durante 20 minutos. En el estudio crónico, los ratones se exponen tanto al aire ambiental como al humo de tres cigarros/día durante 5 días/semana durante 7 meses.

5 Para el estudio agudo, los ratones se dividen en tres grupos de 40 animales cada uno. Estos grupos se dividen entonces en cuatro subgrupos de 10 ratones cada uno del siguiente modo: (1) sin tratamiento/expuestos al aire; (2) sin tratamiento/expuestos al humo; (3) una primera dosis de compuesto de prueba más expuestos al humo; y (4) una segunda dosis del compuesto de prueba. En el primer grupo, la capacidad antioxidante equivalente de trolox se evalúa al final de la exposición en líquido de lavado broncoalveolar. En el segundo grupo, citocinas y quimiocinas se determinan en líquido de lavado broncoalveolar usando un panel de citocinas comercial a las 4 horas; y en el tercer grupo la cifra de células del líquido de lavado broncoalveolar se evalúa a las 24 horas.

15 Para el estudio crónico se usan cinco grupos de animales: (1) sin tratamiento/expuestos al aire; (2) una primera dosis de un compuesto de prueba más expuestos al aire; (3) sin tratamiento/expuestos al humo; (4) una segunda dosis del compuesto de prueba más expuestos al humo; y (5) la primera dosis del compuesto de prueba más expuestos al humo. Siete meses después de la exposición crónica al aire ambiental o humo de cigarro, 5 a 12 animales de cada grupo se sacrifican y los pulmones se fijan intratraquealmente con formalina. El volumen del pulmón se mide por desplazamiento de agua. Los pulmones se tiñen. La evaluación de enfisema incluye la ordenada en el origen lineal media y el área superficial interna. La densidad en volumen de macrófagos, marcados inmunohistoquímicamente con anticuerpos monoclonales anti-Mac-3 de ratón, se determina contando puntos. Un ratón se considera que tiene metaplasia de células caliciformes cuando al menos uno o más bronquios/pulmón de tamaño medio mostró una tinción de Schiff con ácido peryódico positiva. Para la determinación de desmosina, pulmones frescos se homogeneizan, se procesan y se analizan por cromatografía de líquidos de alta presión.

## 25 Descripción 6

### Modelos animales para evaluar: Eficacia terapéutica de profármacos de MHF para tratar enfermedad de Parkinson

#### 30 Neurotoxicidad inducida por MPTP

MPTP, o 1-metil-4-fenil-1,2,3,6-tetrahidropiridina, es una neurotoxina que produce un síndrome parkinsoniano en tanto el hombre como en animales experimentales. Los estudios del mecanismo de neurotoxicidad de MPTP muestran que implica la generación de un metabolito importante,  $MPP^+$ , formado por la actividad de monoamina oxidasa en MPTP. Los inhibidores de la monoamina oxidasa bloquean la neurotoxicidad de MPTP en tanto ratones como primates. La especificidad de los efectos neurotóxicos de  $MPP^+$  por neuronas dopaminérgicas parece ser debido a la captación de  $MPP^+$  por el transportador de dopamina sináptico. Los bloqueantes de este transportador previenen la neurotoxicidad de  $MPP^+$ . Se ha mostrado que  $MPP^+$  es un inhibidor relativamente específico de la actividad del complejo I mitocondrial, uniéndose al complejo I en el sitio de unión de rotenona y confiriendo fosforilación oxidativa. Estudios *in vivo* han mostrado que MPTP puede reducir las concentraciones de ATP estriatales en ratones. Se ha demostrado que  $MPP^+$  administrado intraestriatalmente a ratas produce la reducción significativa de ATP, además del aumento de la concentración de lactato confinado al estriado en el sitio de las inyecciones. Los compuestos que potencian la producción de ATP pueden protegerse de la toxicidad de MPTP en ratones.

45 Un profármaco de fórmula (I) se administra a animales tales como ratones o ratas durante tres semanas antes del tratamiento con MPTP. MPTP se administra a una dosis apropiada, intervalo de dosificación y modo de administración durante 1 semana antes del sacrificio. Los grupos de control reciben tanto solución salina normal como clorhidrato de MPTP solo. Tras el sacrificio, los dos estriados se diseccionan rápidamente y se ponen en ácido perclórico 0,1 M. El tejido se sonica posteriormente y se analizan alícuotas para contenido de proteína usando un ensayo de fluorímetro. También se cuantifican dopamina, ácido 3,4-dihidroxifenilacético (DOPAC) y el ácido homovanilílico (HVA). Las concentraciones de dopamina y metabolitos se expresan como nmol/mg de proteína.

50 Los profármacos de fórmula (I) que protegen de la reducción de DOPAC inducida por la reducción de MPTP, HVA y/o dopamina son neuroprotectores y, por tanto, pueden ser útiles para el tratamiento de enfermedad de Parkinson.

#### 55 Hipolocomoción inducida por haloperidol

La capacidad de un compuesto para invertir los efectos depresores conductuales de antagonistas de dopamina tales como haloperidol en roedores y se considera un procedimiento válido para cribar fármacos con posibles efectos antiparkinsonianos (Mandhane, y col., Eur. J. Pharmacol 1997, 328, 135-141). Por tanto, la capacidad de profármacos de fórmula (I) para bloquear las deficiencias inducidas por haloperidol en la actividad locomotora en ratones puede usarse para evaluar tanto la eficacia antiparkinsoniana *in vivo* como posible.

65 Los ratones usados en los experimentos se alojan en un entorno controlado y se deja que se aclimaten antes del uso experimental. Una y una hora y media (1,5) antes de la prueba, a los ratones se les administran 0,2 mg/kg de haloperidol, una dosis que reduce la actividad locomotora del nivel inicial al menos el 50 %. Un compuesto de

prueba se administra 5-60 min antes de la prueba. Entonces, los animales se ponen individualmente en jaulas limpias de policarbonato limpias con una tapa perforada plana. La actividad locomotora horizontal se determina poniendo las jaulas dentro de un marco que contiene una matriz de 3 x 6 de fotocélulas conectadas con un ordenador para tabular las interrupciones de haces. Los ratones se dejan tranquilos que exploren durante 1 h, y el número de interrupciones de haces hechas durante este periodo sirve de indicador de la actividad locomotora, que se compara con datos para animales de control para diferencias estadísticamente significativas.

#### *Modelo animal de 6-hidroxidopamina*

Las deficiencias neuroquímicas observadas en enfermedad de Parkinson pueden reproducirse por inyección local de la neurotoxina dopaminérgica, 6-hidroxidopamina (6-OHDA), en regiones cerebrales que contienen tanto los cuerpos celulares como fibras axonales de las neuronas nigroestriales. Dañando unilateralmente la ruta nigroestriatal en solo un lado del cerebro se observa una asimetría conductual en la inhibición del movimiento. Aunque los animales unilateralmente dañados son todavía móviles y pueden mantenerse por sí mismos, las restantes neuronas sensibles a dopamina en el lado lesionado se vuelven supersensibles a la estimulación. Esto se demuestra por la observación de que tras la administración sistémica de agonistas de dopamina, tales como apomorfina, los animales muestran una rotación pronunciada en una dirección contralateral al lado de la lesión. La capacidad de los compuestos para inducir rotaciones contralaterales en ratas dañadas con 6-OHDA se ha mostrado que es un modelo sensible para predecir la eficacia de fármacos en el tratamiento de enfermedad de Parkinson.

Ratas Sprague-Dawley macho se alojan en un entorno controlado y se deja que se aclimaten antes del uso experimental. Quince minutos antes de la cirugía, a los animales se les administra una inyección intraperitoneal del inhibidor de la captación noradrenérgica desipramina (25 mg/kg) para prevenir la lesión a las neuronas no dopamina. Entonces, los animales se ponen en una cámara anestésica y se anestesian usando una mezcla de oxígeno e isoflurano. Una vez inconscientes, los animales se transfieren a un marco estereotáxico, en el que la anestesia se mantiene mediante una máscara. Se afeita la parte superior de la cabeza y se esteriliza usando una solución de yodo. Una vez seca se hace una incisión de 2 cm de longitud a lo largo de la línea media del cuero cabelludo y se retrae la piel y se sujeta hacia atrás para exponer el cráneo. Entonces se perfora un pequeño orificio a través del cráneo por encima del sitio de inyección. Con el fin de dañar la ruta nigroestriatal, la cánula de inyección se baja lentamente a la posición por encima del haz prosencefálico medial derecho a -3,2 mm anterior posterior, -1,5 mm medial lateral del bregma, y a una profundidad de 7,2 mm por debajo de la duramadre. Dos minutos después de bajar la cánula, 6-OHDA se infunde a una tasa de 0,5 µl/min durante 4 min, proporcionando una dosis final de 8 µg. La cánula se deja en su sitio durante 5 min adicionales para facilitar la difusión antes se extraerse lentamente. Entonces, la piel se cierra con sutura, el animal se saca del marco estereotáxico y se devuelve a su alojamiento. Se deja que las ratas se recuperen de la cirugía durante dos semanas antes de la prueba conductual.

El comportamiento rotacional se mide usando un sistema de rotámetro que tiene cuencos de acero inoxidable (45 cm de diámetro x 15 cm de altura) encerrados en una cubierta de Plexiglas transparente alrededor del borde del cuenco y que se extiende a una altura de 29 cm. Para evaluar la rotación, las ratas se colocan en una chaqueta de tela unida a una unión de resorte conectada a un rotámetro óptico posicionado por encima del cuenco, que evalúa el movimiento a la izquierda o derecha tanto como rotaciones parciales (45°) o completas (360°).

Para reducir el estrés durante la administración de un compuesto de prueba, las ratas se habitúan inicialmente al aparato durante 15 min en cuatro días consecutivos. En el día de prueba, a las ratas se les administra un compuesto de prueba, por ejemplo, un profármaco de fórmula (I). Inmediatamente antes de la prueba, a los animales se les administra una inyección subcutánea de una dosis subumbral de apomorfina, y luego se ponen en el arnés y se registra el número de rotaciones durante una hora. El número total de rotaciones contralaterales completas durante el periodo de prueba de una hora sirve de índice de eficacia del fármaco antiparkinsoniano.

#### **Descripción 7**

#### **Modelo animal para evaluar la eficacia terapéutica de profármacos de MHF para tratar enfermedad de Alzheimer**

Ratones transgénicos heterocigóticos que expresan el gen mutante de EA sueca, hAPPK670N, M671L (Tg2576; Hsiao, Learning & Memory 2001, 8, 301-308) se usan como modelo animal de enfermedad de Alzheimer. Los animales se alojan bajo condiciones habituales con un ciclo de 12:12 de luz/oscuridad y alimento y agua disponible a voluntad. A partir de los 9 meses de edad, los ratones se dividen en dos grupos. Los dos primeros grupos de animales reciben dosis crecientes de un profármaco de MHF, durante seis semanas. El grupo de control restante recibe diariamente inyecciones de solución salina durante seis semanas.

Las pruebas conductuales se realizan a cada dosis de fármaco usando la misma secuencia durante dos semanas en todos los grupos experimentales: (1) aprendizaje inverso espacial, (2) locomoción, (3) acondicionamiento al miedo, y (4) sensibilidad al choque.

La adquisición del paradigma de aprendizaje espacial y aprendizaje inverso se prueban durante los cinco primeros días de administración del compuesto de prueba usando un laberinto en T de agua como se describe en Bardgett y col., Brain Res Bull 2003, 60, 131-142. Los ratones se habitúan al laberinto en T de agua durante los días 1-3, y la adquisición de tareas empieza en el día 4. En el día 4, los ratones son entrenados para encontrar la plataforma de escape en un brazo de elección del laberinto hasta que se hacen 6 a 8 elecciones correctas en rastros consecutivos. Entonces, la fase de aprendizaje inverso se realiza en el día 5. Durante la fase de aprendizaje inverso, los ratones son entrenados para encontrar la plataforma de escape en el brazo de elección opuesto de la localización de la plataforma de escape en el día 4. Se usan los mismos criterios de rendimiento e intervalo entre ensayos que durante la adquisición de tareas.

Se evalúan movimientos ambulatorios grandes para determinar que los resultados del paradigma de aprendizaje inverso espacial no están influidos por la capacidad para ambulación. Después de un periodo de descanso de dos días, los movimientos ambulatorios horizontales, excluyendo movimientos motores verticales y delicados, se evalúan en una cámara equipada con una rejilla de detectores sensibles al movimiento en el día 8. El número de movimientos acompañados por bloqueo y desbloqueo simultáneo de un detector en la dimensión horizontal se miden durante un periodo de una hora.

La capacidad de un animal para memoria contextual y señalada se prueba usando un paradigma de acondicionamiento al miedo que empieza en el día 9. La prueba tiene lugar en una cámara que contiene un trozo de algodón absorbente empapado en una solución emisora de olor tal como extracto de menta puesta debajo del suelo de rejilla. Se administra una secuencia de 5 min, 3 ensayos de 80 db, choque de tono-pie de 2800 Hz para entrenar los animales en el día 9. En el día 10, la memoria al contexto se prueba devolviendo cada ratón a la cámara sin exposición al choque de tono y pie, y grabando la presencia o ausencia de comportamiento de congelación cada 10 segundos durante 8 minutos. La congelación se define como no movimiento, tal como ambulación, olisqueo o estereotipia, distintos de respiración.

En el día 11 se prueba la respuesta del animal a un contexto alterno y a la señal auditiva. Se pone extracto de coco en una taza y se presenta el tono de 80 dB, pero no se administra choque de pie. La presencia o ausencia de congelación en respuesta al contexto alternativo se determina entonces durante los 2 primeros minutos del ensayo. Entonces, el tono se presenta continuamente durante los 8 minutos restantes del ensayo, y se determina la presencia o ausencia de congelación en respuesta al tono.

En el día 12, los animales se prueban para evaluar su sensibilidad al estímulo de acondicionamiento, es decir, choque de pie.

Tras el último día de prueba conductual, los animales se anestesian y los cerebros se extraen, se fijan posteriormente durante la noche, y las secciones se cortan a través del hipocampo. Las secciones se tiñen para obtener imágenes de placas de  $\beta$ -amiloide.

Se analizan datos usando procedimientos estadísticos apropiados.

## Descripción 8

### Modelo animal para evaluar: Eficacia terapéutica de profármacos de MHF para tratar enfermedad de Huntington

#### *Efectos neuroprotectores en un modelo de ratón transgénico de enfermedad de Huntington*

Ratones con EH transgénicos de la cepa N171-82Q y compañeros de camada no transgénicos se tratan con un profármaco de fórmula (I) o un vehículo a partir de las 10 semanas de edad. Los ratones se ponen en una barra giratoria ("rotarod"). La duración de tiempo a la que un ratón se cae de la barra giratoria se registra como una medida de coordinación motora. La distancia total recorrida por un ratón también se registra como una medida de la locomoción global. Ratones administrados con profármacos de fórmula (I) que son neuroprotectores en el modelo de ratón con EH transgénico N171-82Q siguen en la barra giratoria durante un mayor periodo de tiempo y se desplazan más que los ratones administrados con vehículo.

#### *Modelo de malonato de enfermedad Huntington*

Se ha usado una serie de inhibidores reversibles e irreversibles de enzimas que participan en rutas de generación de energía para generar modelos animales para enfermedades neurodegenerativas tales como enfermedad de Parkinson y de Huntington. En particular, se han usado inhibidores de succinato deshidrogenasa, una enzima que afecta la homeostasis de la energía celular, para generar un modelo para enfermedad de Huntington.

Para evaluar el efecto de profármacos de MHF de fórmula (I) en este modelo de malonato para enfermedad de Huntington, un profármaco de fórmula (I) se administra a una dosis apropiada, intervalo de dosificación y vía, a ratas Sprague-Dawley macho. Un profármaco se administra durante dos semanas antes de la administración de malonato



y luego durante una semana adicional antes del sacrificio. El malonato se disuelve en agua desionizada destilada y el pH se ajusta a 7,4 con HCl 0,1 M. Las inyecciones intraestriales de 1,5 µl de 3 µmoles de malonato se hacen en el estriado izquierdo al nivel del bregma 2,4 mm lateral a la línea media y 4,5 mm ventral a la duramadre. Los animales se sacrifican a los 7 días por decapitación y los cerebros se extraen rápidamente y se colocan en 0,9 % de solución salina helada. Los cerebros se seccionan a intervalos de 2 mm en un molde de cerebro. Entonces, las rebanadas se colocan con posterior hacia abajo en 2 % de cloruro de 2,3,5-tifeniltetrazolio. Las rebanadas se tiñen en la oscuridad a temperatura ambiente durante 30 min y luego se recogen y se ponen en 4 % de paraformaldehído a pH 7,3. Las lesiones, observadas por la tinción pálida, se evalúan sobre la superficie posterior de cada sección. Las mediciones se validan comparando con mediciones obtenidas en sección con tinción de Nissl adyacentes. Los compuestos que presentan un efecto neuroprotector y, por tanto, posiblemente útiles en el tratamiento de enfermedad de Huntington, muestran una reducción en las lesiones inducidas por malonato.

### Descripción 9

#### **Modelo animal para evaluar la eficacia terapéutica de profármacos de MHF para tratar esclerosis lateral amiotrófica**

Se ha desarrollado un modelo murino de ELA asociada a la mutación SOD1 en el que ratones expresan la mutación superóxido dismutasa (SOD) humana glicina→alanina en el residuo 93 (SOD1). Estos ratones SOD1 presentan una ganancia dominante en la propiedad adversa de SOD, y desarrollan degeneración de neuronas motoras y disfunción similar a la de ELA humana. Los ratones transgénicos SOD1 muestran signos de debilidad de las extremidades posteriores a aproximadamente 3 meses de edad y mueren a los 4 meses. Características comunes a ELA humana incluyen astrocitosis, microgliosis, estrés oxidativo, elevados niveles de ciclooxigenasa/prostaglandina y, a medida que avanza la enfermedad, profunda pérdida de neuronas motoras.

Se realizan estudios en ratones transgénicos que expresan en exceso mutaciones Cu/Zn-SOD G93A humanas (B6SJL-TgN (SOD1-G93A) 1 Gur) y ratones B6/SJL no transgénicos y sus compañeros de camada naturales. Los ratones se alojan a un ciclo de 12 h de día/luz y (empezando a los 45 d de edad) se permitió acceso a voluntad a tanto pienso complementado con compuesto de prueba como un pienso prensado en frío de fórmula regular de control, procesado en gránulos idénticos. El genotipado puede realizarse a los 21 días de edad como se describe en Gurney y col., Science 1994, 264(5166), 1772-1775. Los ratones SOD1 se separan en grupos y se tratan con un compuesto de prueba, por ejemplo, un profármaco de MHF, o sirven de controles.

Los ratones se observan diariamente y se pesan semanalmente. Para evaluar el estado de salud, los ratones se pesan semanalmente y se examinan para cambios en la lacrimación/salivación, cierre palpebral, sacudida de orejas y respuestas pupilares, orientación de los bigotes, reflejos posturales y de enderezamiento, y puntuación de la condición del cuerpo global. Se realiza un examen patológico general en el momento del sacrificio.

El rendimiento de la coordinación motora de los animales puede evaluarse por uno o más procedimientos conocidos para aquellos expertos en la materia. Por ejemplo, la coordinación motora puede evaluarse usando un procedimiento de puntuación neurológica. En la puntuación neurológica, la puntuación neurológica de cada extremidad se monitoriza y se registra según una escala de 4 puntos definida: 0 – reflejo normal en las extremidades traseras (el animal separará sus extremidades traseras cuando se levante por su cola); 1 – reflejo anormal de extremidades traseras (falta de separación de las extremidades traseras cuando el animal se levanta por la cola); 2 – reflejo anormal de extremidades y evidencia de parálisis; 3 – falta de reflejo y parálisis completa; y 4 – incapacidad para enderezarse cuando se pone de lado en 30 segundos o se encuentra muerto. El criterio principal de valoración es la supervivencia con criterios secundarios de valoración de puntuación neurológica y peso corporal. Las observaciones de puntuaciones neurológicas y peso corporal se hacen y se registran cinco días por semana. El análisis de datos se realiza usando procedimientos estadísticos apropiados.

La prueba de la barra giratoria evalúa la capacidad de un animal para permanecer sobre una espiga giratoria que permite la evaluación de la coordinación motora y sensibilidad propioceptiva. El aparato es una barra automatizada de 3 cm de diámetro que gira a, por ejemplo, 12 vueltas por min. La prueba de la barra giratoria mide cuánto tiempo puede mantenerse el ratón por sí mismo sobre la barra sin caerse. La prueba puede detenerse después de un límite arbitrario de 120 s. Si el animal se ha caído antes de 120 s, el rendimiento se registra y se realizan dos ensayos adicionales. Se calcula el tiempo medio de 3 ensayos. Una deficiencia motora se indica por una disminución del tiempo caminado.

En la prueba de la rejilla, los ratones se colocan sobre una rejilla (longitud: 37 cm, anchura: 10,5 cm, tamaño de malla: 1 x 1 cm<sup>2</sup>) situada por encima de un soporte plano. Se cuenta el número de veces que los ratones ponen sus patas a través de la rejilla y sirve de medida para la coordinación motora.

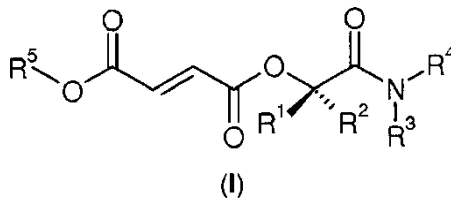
La prueba de cuelgue evalúa la capacidad de un animal para colgarse de un alambre. El aparato es un alambre estirado horizontalmente 40 cm por encima de una mesa. El animal se sujeta al alambre por sus patas delanteras. Se registra el tiempo necesitado por el animal para coger la cuerda con sus patas traseras (máx 60 s) durante tres ensayos consecutivos.

También pueden usarse mediciones electrofisiológicas (EMG) para evaluar la condición de actividad motora. Se realizan registros electromiográficos usando un aparato de electromiografía. Durante la monitorización EMG los ratones se anestesian. Los parámetros medidos son la amplitud y la latencia del potencial de acción muscular compuesto (CMAP). El CMAP se mide en el músculo gastrocnemio después de la estimulación del nervio ciático. Se inserta un electrodo de referencia próximo al tendón de Aquiles y se coloca una aguja activa en la base de la cola. Se inserta una aguja con bisel en la espalda inferior de los ratones. El nervio ciático se estimula con un único pulso de 0,2 ms a intensidad supramáxima (12,9 mA). Se miden la amplitud (mV) y la latencia de la respuesta (ms). La amplitud es indicativa del número de unidades motoras activas, mientras que la latencia distal refleja la velocidad de conducción nerviosa motora.

La eficacia de los compuestos de prueba también puede evaluarse usando análisis de biomarcadores. Para evaluar la regulación de los biomarcadores de proteína en ratones SOD1 durante la aparición del deterioro motor, muestras de médula espinal lumbar (extractos de proteína) se aplican a matrices ProteinChip con propiedades químicas/bioquímicas superficiales variables y se analizan, por ejemplo, por espectrometría de masas de tiempo de vuelo con ionización por desorción láser potenciada por superficie. Entonces, usando procedimientos de análisis de perfiles de masas de proteínas integrados se usan datos para comparar perfiles de expresión de proteínas en los diversos grupos de tratamiento. El análisis puede realizarse usando procedimientos estadísticos apropiados.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

- 10  $R^1$  y  $R^2$  se eligen independientemente de hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$  y alquilo  $C_{1-6}$  sustituido;  
 $R^3$  y  $R^4$  se eligen independientemente de hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$ , alquilo  $C_{1-6}$  sustituido, heteroarilo  $C_{1-6}$ ,  
heteroarilo  $C_{1-6}$  sustituido, cicloalquil  $C_{4-12}$ -alquilo, cicloalquil  $C_{4-12}$ -alquilo sustituido, aril  $C_{7-12}$ -alquilo y aril  $C_{7-12}$ -  
alquilo sustituido;  
o  $R^3$  y  $R^4$  junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un heteroarilo  $C_{5-10}$ , heteroarilo  
15  $C_{5-10}$  sustituido, heterocicloalquilo  $C_{5-10}$  y heterocicloalquilo  $C_{5-10}$  sustituido; y  
 $R^5$  es metilo;  
en la que cada grupo sustituyente se elige independientemente de halógeno, -OH, -CN, -CF<sub>3</sub>, =O, -NO<sub>2</sub>,  
bencilo, -C(O)NR<sup>11</sup><sub>2</sub>, -R<sup>11</sup>, -OR<sup>11</sup>, -C(O)R<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en donde cada R<sup>11</sup> se elige independientemente  
de hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ .
- 20 2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que cada uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno.
3. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de  
metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *sec*-butilo y *terc*-butilo.
- 25 4. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que  $R^3$  y  $R^4$  se eligen independientemente de hidrógeno y alquilo  
 $C_{1-6}$ .
5. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que  $R^3$  y  $R^4$  junto con el nitrógeno al que están unidos forman un  
anillo de heterocicloalquilo  $C_{5-10}$ .
- 30 6. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que  $R^3$  y  $R^4$  junto con el nitrógeno al que están unidos forman un  
anillo elegido de anillos de piperazina, 1,3-oxazolidinilo, pirrolidina y morfolina.
7. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de  
35 hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ; y  $R^3$  y  $R^4$  junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de morfolina,  
piperazina y piperazina *N*-sustituida.
8. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno; y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de  
40 hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ;  $R^3$  es hidrógeno; y  $R^4$  se elige de hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$  y bencilo.
9. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de  
hidrógeno y alquilo  $C_{1-6}$ ; y cada uno de  $R^3$  y  $R^4$  es alquilo  $C_{1-6}$ .
10. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que cada uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno; y cada uno de  $R^3$  y  $R^4$  es  
45 alquilo  $C_{1-6}$ .
11. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  se elige de  
hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ ;  $R^3$  es hidrógeno; y  $R^4$  se elige de alquilo  $C_{1-4}$ , alquilo  $C_{1-4}$  sustituido, en donde el grupo  
sustituyente se elige de =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en donde cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno  
50 y alquilo  $C_{1-4}$ .
12. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno y el otro de  $R^1$  y  $R^2$  es metilo;  $R^3$   
es hidrógeno; y  $R^4$  se elige de alquilo  $C_{1-4}$ , alquilo  $C_{1-4}$  sustituido, en donde el grupo sustituyente se elige de =O, -  
OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub> en donde cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ .
- 55 13. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que cada uno de  $R^1$  y  $R^2$  es hidrógeno;  $R^3$  es hidrógeno; y  $R^4$  se  
elige de alquilo  $C_{1-4}$ , alquilo  $C_{1-4}$  sustituido, en donde el grupo sustituyente se elige de =O, -OR<sup>11</sup>, -COOR<sup>11</sup> y -NR<sup>11</sup><sub>2</sub>  
en donde cada R<sup>11</sup> se elige independientemente de hidrógeno y alquilo  $C_{1-4}$ .

14. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se elige de hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>; y R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un anillo de heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub> sustituido, heteroarilo C<sub>5-6</sub> y heteroarilo C<sub>5-6</sub> sustituido.
- 5 15. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es metilo; y R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un anillo de heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub> sustituido, heteroarilo C<sub>5-6</sub> y heteroarilo C<sub>5-6</sub> sustituido.
- 10 16. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que cada uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno; y R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de un anillo de heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub>, heterocicloalquilo C<sub>5-6</sub> sustituido, heteroarilo C<sub>5-6</sub> y heteroarilo C<sub>5-6</sub> sustituido.
- 15 17. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que uno de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> es hidrógeno y el otro de R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> se elige de hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub>; y R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> junto con el nitrógeno al que están unidos forman un anillo elegido de morfolina, piperazina y piperazina N-sustituida.
18. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto se elige de:
- 20 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N,N-dietilcarbamoil)metilo;  
[N-bencilcarbamoil]metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
2-morfolin-4-il-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-butilcarbamoil)metilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N-(2-metoxietil)carbamoil]metilo;  
25 ácido 2-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acetilamino}acético;  
ácido 4-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acetilamino}butanoico;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N,N-dimetilcarbamoil)metilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de bis-(2-metoxietilamino)carbamoil]metilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N-(metoxicarbonil)carbamoil]metilo;  
2-oxo-2-piperazinilet-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
30 2-oxo-2-(2-oxo(1,3-oxazolidin-3-il)etil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[2-(dimetilamino)etil]carbamoil}metilo;  
2-(4-metilpiperazinil)-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
{N-[(propilamino)carbonil]carbamoil}metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
35 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de 2-((4-acetilpiperazinil)-2-oxoetilo);  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N,N-bis[2-(metiletoxi)etil]carbamoil}metilo;  
2-(4-bencilpiperazinil)-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N,N-bis(2-etoxietil)carbamoil]metilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de 2-(((2S)-2-[(terc-butil)oxicarbonil]pirrolidinil)-2-oxoetilo);  
40 ácido 1-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acetil}(2S)pirrolidin-2-carboxílico;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-[[terc-butil]oxicarbonil]metil)-N-metilcarbamoil]metilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-(etoxicarbonil)metil]-N-metilcarbamoil}metilo;  
1-metil-2-morfolin-4-il-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de [N,N-bis(2-metoxietil)carbamoil]etilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N,N-dimetilcarbamoil)etilo;  
45 ácido 2-{2-[(2E)-3-(metoxi carbonil)prop-2-enoiloxil]-N-metilacetilamino}acético;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-[[terc-butil]oxicarbonil]metil]carbamoil)metilo;  
(N-metil-N-[[metiletil]oxicarbonil]metil]carbamoil)metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[(etoxicarbonil)metil]-N-bencilcarbamoil}metilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[(etoxicarbonil)metil]-N-bencilcarbamoil}etilo;  
50 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de {N-[(etoxicarbonil)metil]-N-metilcarbamoil}etilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (1S)-1-metil-2-morfolin-4-il-2-oxoetilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (1S)-1-[N,N-bis(2-metoxietil)carbamoil]etilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (1R)-1-(N,N-dietilcarbamoil)etilo;  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N-[(metoxicarbonil)etil]carbamoil)metilo;  
55 ácido 2-{2-[(2E)-3-(metoxicarbonil)prop-2-enoiloxi]acetilamino}propanoico; y sales farmacéuticamente aceptables de los anteriores.

19. Un compuesto según la reivindicación 1, que es:

60 metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N,N-dietilcarbamoil)metilo.

20. Un compuesto según la reivindicación 1, que es:

65 2-morfolin-4-il-2-oxoetil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de metilo.

21. Un compuesto según la reivindicación 1, que es:  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de (N,N-dimetilcarbamoil)metilo.
- 5 22. Un compuesto según la reivindicación 1, que es:  
metil-(2E)but-2-eno-1,4-dioato de bis-(2-metoxietilamino)carbamoil]metilo.
- 10 23. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 y al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 10 24. Una composición farmacéutica según la reivindicación 23, que es una formulación oral.
- 15 25. Una composición farmacéutica según la reivindicación 23, que es una formulación de liberación controlada oral.
- 15 26. Una composición farmacéutica según la reivindicación 23, que es una formulación de liberación sostenida oral.
- 20 27. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 26, que comprende además otro agente terapéutico.
- 20 28. Una composición farmacéutica según la reivindicación 27, en la que el otro agente terapéutico es eficaz en minimizar un efecto adverso asociado al compuesto.
- 25 29. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 para su uso en el tratamiento del cuerpo humano o animal por terapia.
- 25 30. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 para su uso en el tratamiento de psoriasis, esclerosis múltiple, una enfermedad inflamatoria del intestino, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o artritis.
- 30 31. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 para su uso en el tratamiento de psoriasis.
- 35 32. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 para su uso en el tratamiento de esclerosis múltiple.
- 35 33. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 para su uso en el tratamiento de psoriasis, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia cardíaca, insuficiencia ventricular izquierda, infarto de miocardio, angina de pecho, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, retinopatía pigmentosa, encefalomiopatía mitocondrial, rechazo de trasplante, esclerosis múltiple, isquemia, lesión por reperfusión, daño del genoma inducido por AGE, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa.
- 40 34. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 para su uso en el tratamiento de reuma, granuloma anular, lupus, carditis autoinmunitaria, eccema, sarcoidosis, encefalomielitis diseminada aguda, enfermedad de Addison, alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípido, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune, enfermedad del oído interno autoinmunitaria, pénfigo bulloso, enfermedad de Behcet, celiacía, enfermedad de Chagas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Crohn, dermatomiositis, diabetes mellitus tipo I, endometriosis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barre, enfermedad de Hashimoto, hidradenitis supurativa, enfermedad de Kawasaki, neuropatía por IgA, púrpura trombocitopénica idiopática, cistitis intersticial, lupus eritematoso, enfermedad mixta del tejido conjuntivo, morfea, esclerosis múltiple, miastenia grave, narcolepsia, neuromiotonía, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, psoriasis, artritis psoriásica, polimiositis, cirrosis biliar primaria, artritis reumatoide, esquizofrenia, esclerodermia, síndrome de Sjogren, síndrome de la persona rígida, arteritis temporal, colitis ulcerosa, vasculitis, vitíligo o granulomatosis de Wegener.
- 50 55 35. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o de una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 para su uso en el tratamiento de alopecia areata.
- 60 36. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o de una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de psoriasis, esclerosis múltiple, una enfermedad inflamatoria del intestino, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica o artritis.
- 65 37. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o de una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de psoriasis.

38. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o de una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de esclerosis múltiple.

5 39. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o de una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de psoriasis, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, insuficiencia cardíaca, insuficiencia ventricular izquierda, infarto de miocardio, angina de pecho, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Huntington, retinopatía pigmentosa, encefalomiopatía mitocondrial, rechazo de trasplante, esclerosis múltiple,  
10 isquemia, lesión por reperfusión, daño del genoma inducido por AGE, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn o colitis ulcerosa.

15 40. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o de una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de reuma, granuloma anular, lupus, carditis autoinmunitaria, eccema, sarcoidosis, encefalomielitis diseminada aguda, enfermedad de Addison, alopecia areata, espondilitis anquilosante, síndrome de anticuerpos antifosfolípido, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune, enfermedad del oído interno autoinmunitaria, pénfigo bulloso, enfermedad de Behcet, celiacía, enfermedad de Chagas, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad de Crohn, dermatomiositis, diabetes mellitus tipo I, endometriosis, síndrome de Goodpasture, enfermedad de Graves,  
20 síndrome de Guillain-Barre, enfermedad de Hashimoto, hidradenitis supurativa, enfermedad de Kawasaki, neuropatía por IgA, púrpura trombocitopénica idiopática, cistitis intersticial, lupus eritematoso, enfermedad mixta del tejido conjuntivo, morfea, esclerosis múltiple, miastenia grave, narcolepsia, neuromiotonía, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, psoriasis, artritis psoriásica, polimiositis, cirrosis biliar primaria, artritis reumatoide, esquizofrenia, esclerodermia, síndrome de Sjogren, síndrome de la persona rígida, arteritis temporal, colitis ulcerosa, vasculitis,  
25 vitíligo o granulomatosis de Wegener.

41. Uso de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 22 o de una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 23 a 28 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de alopecia areata.