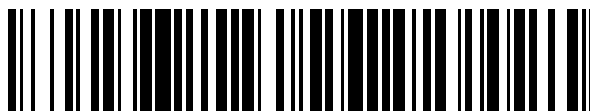


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 374 165**

51 Int. Cl.:
C07D 261/06 (2006.01)
C07D 413/12 (2006.01)
A61K 31/42 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)
A61P 43/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **06840218 .9**
96 Fecha de presentación: **13.12.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1962838**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **03.09.2008**

54 Título: **AGONISTAS DEL RECEPTOR X FARNESOIDE.**

30 Prioridad:
19.12.2005 US 751597 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
14.02.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
14.02.2012

73 Titular/es:
GLAXOSMITHKLINE LLC
ONE FRANKLIN PLAZA 200 NORTH 16TH
STREET
PHILADELPHIA, PA 19102, US

72 Inventor/es:
DEATON, David, Norman;
MCFADYEN, Robert, Blount;
NAVAS, Frank, III;
CALDWELL, Richard y
SPEARING, Paul, Kenneth

74 Agente: **de Elizaburu Márquez, Alberto**

ES 2 374 165 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

Agonistas del receptor X farnesoide

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

5 La presente invención se refiere a receptores X farnesoide (FXR). Más particularmente, la presente invención se refiere a compuestos útiles como agonistas para FXR, formulaciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, y el uso terapéutico de los mismos.

10 El FXR es un miembro de la clase de receptor nuclear de factores de transcripción activados por ligando. Las concentraciones fisiológicas de ácidos biliares enlazan y activan el FXR. [Parks, D.J., et al. 1999 Science 284:1365-1368; Makishima, M., et al. 1999 Science 284:1362-1365] Los ácidos biliares son moléculas anfipáticas que forman micelas y emulsionan los lípidos de la dieta. Esta propiedad también hace a los ácidos biliares citotóxicos si se alcanzan concentraciones suficientes y por consiguiente, se han desarrollado mecanismos para asegurar que las concentraciones de ácido biliar están rigurosamente reguladas. El FXR juega un papel clave en la regulación de la homeostasis del ácido biliar. [Makishima, M. 2005 J Pharmacol Sci 97:177-183; Kuipers, F. et al. 2004 Rev Endocrine Metab Disorders 5:319-326]

15 El FXR se expresa en el hígado, intestino, riñón y sistema adrenal. [Kuipers, F. et al. 2004 Rev Endocrine Metab Disorders 5:319-326] Los genes diana de FXR en los hepatocitos incluyen el SHP que codifica el compañero del heterodímero pequeño, un receptor nuclear atípico que reprime la transcripción de genes tales como CYP7A1 (que codifica la colesterol 7 α -hidroxilasa), la etapa primera y limitante de la velocidad en la conversión del colesterol a ácido biliar, CYP8B1 (que codifica la estero 12 α -hidroxilasa) que controla la hidrofobicidad de la reserva biliar y NTCP (que codifica el polipéptido de co-transporte de sodio/taurocolato) que importa ácidos biliares desde la circulación portal y sistémica al hepatocito. [Goodwin, B., et al. 2000 Mol. Cell. 6:517-526; del Castillo-Olivares, A., et al 2001 Nucleic Acids Res. 29:4035-4042; Denson, LA, et al. 2001 Gastroenterology 121(1):140-147] Otros genes diana de FXR que se inducen en el hígado incluyen el transporte canalicular BSEP (que codifica la bomba de exportación de sales biliares) que transporta ácidos biliares del hepatocito a la bilis, resistencia multi-fármaco (MDR3) (que codifica la fosfolípido flipasa canicular) que transporta fosfolípidos del hepatocito a la bilis y MRP2 (que codifica la proteína-2 relacionada con la resistencia multifármaco) que transporta bilirrubina conjugada, glutatión y conjugados de glutatión a la bilis. Ananthanarayanan, M., et al. 2001 J. Biol. Chem. 276:28857-28865; Huang, L et al., 2003 J. Biol. Chem. 278(51):51085-51090; Kast, H.R., et al. 2002 J. Biol. Chem. 277:2908-2915.

20 En el intestino, el FXR también induce la expresión de SHP que reprime la transcripción del gen ASBT que codifica el transportador de ácido biliar dependiente de sodio apical de alta afinidad que mueve los ácidos biliares del lumen intestinal al enterocito como parte del reciclado enterohepático de los ácidos biliares. [Li, H., et al. 2005 Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 288(1)G60-6] La expresión del gen IBABP está inducida también mediante agonistas de FXR en el enterocito. [Grober, J. et al., 1999 J. Biol. Chem 274(42):29749-54] La función de esta proteína que enlaza el ácido biliar ileal permanece bajo investigación.

25 La colestasis es una afección de flujo biliar reducido o retenido. La colestasis no resuelta lleva al daño hepático tal como se ve en la cirrosis biliar primaria (PBC) y la colangitis esclerosante primaria (PSC), dos enfermedades del hígado colestático. Se ha mostrado que los agonistas de FXR protegen el hígado en modelos de roedores de enfermedad de hígado colestático. [Liu, Y. et al. 2003 JCI 112(11):1678-1687; Fiorucci, S., et al JPET 313(2):604-612; Pelicciari, R., et al 2002 J.Med. Chem. 45(17):3569-3572]

30 El FXR se expresa también en células estrelladas hepáticas (HSC) que juegan un papel en la deposición de matriz extracelular en el proceso fibrótico. El tratamiento de HSCs cultivadas con el agonista de FXR, ácido 6-etil-quenodeoxicólico (6EtCDCA) da por resultado la disminución de expresión de marcadores fibróticos tal como α -actina del músculo liso y α 1(I)colágeno. También se ha presentado que 6EtCDCA previene el desarrollo y promueve la resolución de la fibrosis hepática en múltiples modelos de roedor de esta enfermedad. Fiorucci, S., et al 2004 Gastroenterology 127(5):1497-1512; Fiorucci, S., et al. 2005 JPET 314(2):584-595. Según Fiorucci et al., este efecto anti-fibrótico es debido a la inactivación de SHP de Jun y la posterior represión del inhibidor de tejido de metaloproteína 1 (TIMP1) por medio del sitio de enlace AP1 en el promotor de TIMP1.

35 El documento WO2007/092751 (Eli Lilly and Company) publicado el 16 de agosto de 2007 y es, por tanto, la técnica anterior R54(3) EPC. Esta publicación describe compuestos, la composición farmacéutica y métodos para modular FXR y son de utilidad en el tratamiento de dislipidemia y enfermedades relacionadas. El documento WO2003/015771 (Lion Bioscience AG) se refiere a compuestos que enlazan al receptor nuclear NR1H4 y actúan como agonistas, antagonistas o agonistas/antagonistas mezclados del receptor de NR1H4. Se describe además el tratamiento de enfermedades y/o afecciones a través del enlace del receptor nuclear mediante los compuestos.

40 El documento WO2004/048349 (SmithKline Beecham Corporation) describe compuestos útiles como agonistas para FXR. Se describen también composiciones farmacéuticas, métodos de uso y procedimientos para preparar los compuestos.

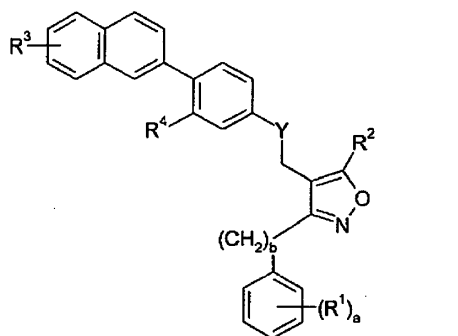
El documento US2004/0048316 (SmithKline Beecham Corporation) describe los ensayos del heterodímero receptor nuclear y péptido coactivador del receptor nuclear para la rápida determinación de un ligando para un receptor FXR, utilizando la proximidad de centelleo y la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) y método de uso de los ligandos identificados.

5 Recientemente, S. Kliewer presentó datos en la Digestive Diseases Week (DDW) Conference (2005) organizada por la Asociación Americana para el estudio de la Enfermedad Hepática (AASLD), mostrando que la activación de FXR mediante el agonista GW4064 daba por resultado la mejora de la barrera mucosa y la disminución del crecimiento excesivo bacteriano en un modelo de ratón ligado al canal biliar de colestasis y crecimiento excesivo bacteriano intestinal. El Dr. Kliewer mostró datos que indican la disminución de la translocación de bacterias a los nódulos linfáticos mesentéricos en ratones tratados con GW4064. Este efecto de GW4064 se perdió en ratones sin FXR.

El agonista de FXR GW4064, cuando se administró a ratones en una dieta litogénica, previno la formación de cristales de colesterol en la bilis. Este efecto del compuesto se perdió en ratones sin FXR. Moschetta, A., et al 2004 Nat Med. 10:1352-1358.

RESUMEN DE LA INVENCIÓN

15 Como un primer aspecto, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I):



en donde:

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

20 cada R¹ es igual o diferente y se selecciona independientemente del grupo que consiste en halo, alquilo, alqueno, -O-CF₃, -OR⁶, -S(O)_fR⁶, -NR⁶R⁷, -R⁵OR⁶, -R⁵S(O)_fR⁶, -R⁵NR⁶R⁷ y ciano;

b es 0, 1, 2 o 3;

25 R² se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alqueno, cicloalquilo C₃₋₆ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo, haloalquilo, alqueno, -OH, -O-alquilo, -NH₂, -NH(alquilo), -N(alquilo)₂, -CN, -NO₂ y -N₃, cicloalqueno C₃₋₆ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo, haloalquilo, alqueno, -OH, -O-alquilo, -NH₂, -NH(alquilo), -N(alquilo)₂, -CN, -NO₂ y -N₃, -R⁵OR⁶, -R⁵NR⁶R⁷ y ciano;

Y es -O-, -S- o -N(R⁸)-;

R³ es un -C(O)₂H, -C(O)NR^aR^b, -C(O)₂R^c o grupo equivalente al ácido;

R⁴ es H, halo, alquilo o haloalquilo;

30 cada R⁵ es igual o diferente y se selecciona independientemente del grupo que consiste en alqueno y alqueno;

35 cada R⁶ y R⁷ son iguales o diferentes y cada uno se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo, alqueno, cicloalquilo C₃₋₆ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo, haloalquilo, alqueno, -OH, -O-alquilo, -NH₂, -NH(alquilo), -N(alquilo)₂, -CN, -NO₂ y -N₃, cicloalqueno C₃₋₆ opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo, haloalquilo, alqueno, -OH, -O-alquilo, -NH₂, -NH(alquilo), -N(alquilo)₂, -CN, -NO₂ y -N₃; y

f es 0, 1 o 2;

cada R⁸ es igual o diferente y es independientemente H o alquilo;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un segundo aspecto, la presente invención proporciona una composición que comprende un compuesto de fórmula (I). La composición puede comprender además un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

En un tercer aspecto, la presente invención provee el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) en el tratamiento de una afección mediada por FXR en un sujeto que lo necesita.

5 En un cuarto aspecto, la presente invención provee el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) en el tratamiento de una enfermedad de hígado colestático en un sujeto que lo necesita.

En un quinto aspecto, la presente invención provee el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) en el tratamiento de fibrosis de un órgano en un sujeto que lo necesita.

10 En un sexto aspecto, la presente invención permite el uso de un método en el tratamiento de fibrosis hepática en un sujeto que lo necesita. El método comprende administrar al sujeto un (I).

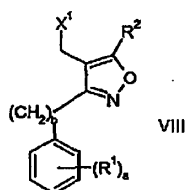
En un séptimo aspecto, la presente invención provee el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) en el tratamiento de diabetes mellitus en un sujeto que lo necesita.

En un octavo aspecto, la presente invención provee el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) en el tratamiento del síndrome metabólico en un sujeto que lo necesita.

15 En un noveno aspecto, la presente invención provee el uso de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) en el tratamiento de la obesidad en un sujeto que lo necesita.

En un décimo aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I). El procedimiento comprende las etapas de:

a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VIII)

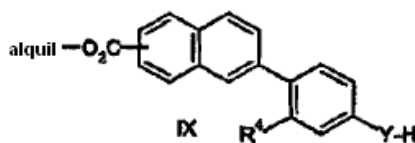


en donde:

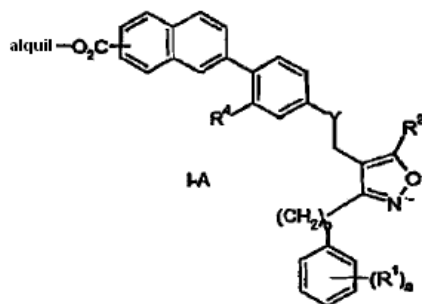
X¹ es cloro, yodo, bromo, triflato, tosilato, nosilato, besilato o mesilato, (preferiblemente cloro); y

todas las demás variables son como se definen arriba

con un compuesto de fórmula (IX)



para preparar un compuesto de fórmula (I-A);

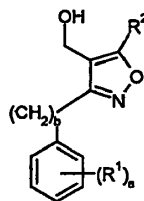


y

b) convertir opcionalmente el compuesto de fórmula (I-A) en un compuesto diferente de fórmula (I).

En otro aspecto, la presente invención proporciona otro procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I). Este procedimiento comprende las etapas de:

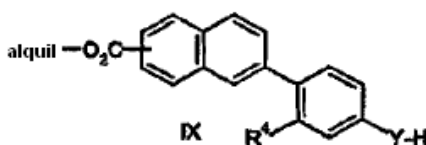
a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VIII-B)



VIII-B

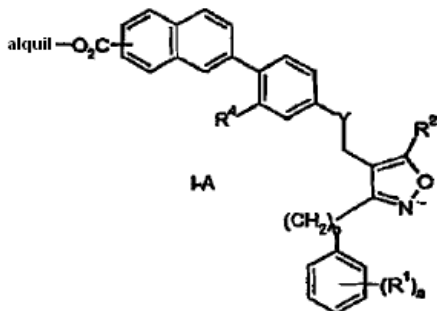
5

con un compuesto de fórmula (IX)



IX

para preparar un compuesto de fórmula (I-A);



I-A

10

y

b) convertir opcionalmente el compuesto de fórmula (I-A) en un compuesto diferente de fórmula (I).

En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) para su uso en terapia. La presente invención proporciona además un compuesto de fórmula (I) para el uso en el tratamiento de una afección mediada por FXR en un sujeto; un compuesto de fórmula (I) para el uso en el tratamiento de enfermedad del hígado colestático en un sujeto; un compuesto de fórmula (I) para el uso en el tratamiento de fibrosis de un órgano en un sujeto; un compuesto de fórmula (I) para el uso en el tratamiento de fibrosis hepática en un sujeto; un compuesto de fórmula (I) para el uso en el tratamiento de diabetes mellitus en un sujeto; un compuesto de fórmula (I) para el uso en el tratamiento del síndrome metabólico en un sujeto; y un compuesto de fórmula (I) para el uso en el tratamiento de la obesidad en un sujeto.

15

20

En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una afección mediada por FXR en un sujeto; el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad del hígado colestático en un sujeto; el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la fibrosis de un órgano en un sujeto; el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la fibrosis hepática en un sujeto; el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes mellitus en un sujeto; el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento del síndrome metabólico en un sujeto; y el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la obesidad.

25

30

En otro aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) para el uso en el tratamiento de una afección mediada por FXR.

Se describen aspectos adicionales de la presente invención en la descripción de realizaciones particulares, ejemplos y reivindicaciones que están a continuación.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LAS REALIZACIONES PREFERIDAS

5 Como se usa en este documento, "un compuesto de la invención" o "un compuesto de fórmula (I)" significan un compuesto de fórmula (I) o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo. De manera similar, con respecto a intermedios aislables tales como por ejemplo, compuestos de fórmula (V), (VI), (VIII), (VIII-B) y (IX), la frase "un compuesto de fórmula (*número*)" significa un compuesto que tiene esa fórmula o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 Como se usa en este documento, el término "alquilo" se refiere a cadenas hidrocarbonadas saturadas lineales o ramificadas que contienen 1-8 átomos de carbono. Ejemplos de grupos "alquilo", tal como se usa en este documento, incluye, aunque no está limitado a metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, t-butilo, pentilo, hexilo, octilo y similares. El término "haloalquilo" se refiere a alquilos sustituido con halo, que incluyen, trihaloalquilo, tales como trifluorometilo y trifluoroetilo entre otros.

15 El término "alquilenilo" se refiere a un puente alquilo lineal o ramificado, es decir, el grupo -alquilo-, en donde alquilo es como se define arriba.

Como se usa en este documento, el término "halo" se refiere a cualquier átomo de halógeno, es decir, flúor, cloro, bromo o yodo.

20 Como se usa en este documento, el término "alqueniilo" se refiere a una cadena hidrocarbonada insaturada lineal o ramificada, alifática, que contiene de 2 a 8 átomos de carbono y al menos uno y hasta tres, dobles enlaces carbono-carbono. Ejemplos de grupos "alqueniilo" como se usa en este documento incluyen, aunque no están limitados a etenilo y propenilo.

El término "alqueniilo" se refiere a un puente alqueniilo lineal o ramificado, es decir, el grupo -alqueniilo-, en donde alqueniilo es como se define arriba.

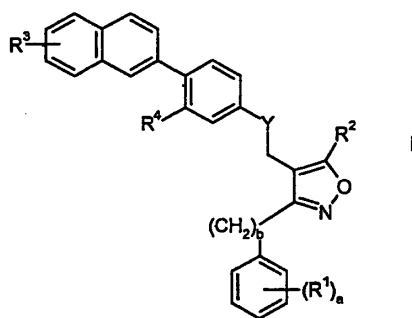
25 Como se usa en este documento, el término "cicloalquilo" se refiere a un anillo carbocíclico monocíclico no aromático que tiene de 3 a 8 átomos de carbono (a menos que se especifique un número diferente de átomos) y ningún doble enlace carbono-carbono. El término "cicloalquilo" incluye a modo de ejemplo ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo. El término "cicloalquilo" también incluye cicloalquilo sustituido. Por ejemplo, el cicloalquilo puede sustituirse opcionalmente en cualquier carbono disponible con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo, haloalquilo, alqueniilo, -OH, -O-alquilo, -NH₂, NH(alquilo), -N(alquilo)₂, -CN, NO₂ y -N₃. Como se apreciará por los expertos en la técnica, el número de posibles sustituyentes en el anillo de cicloalquilo dependerá del tamaño del anillo. Grupos cicloalquilo particulares incluyen cicloalquilo C₃₋₆ y cicloalquilo C₃₋₆ sustituido.

30 Como se usa en este documento, el término "cicloalqueniilo" se refiere a un anillo carbocíclico monocíclico no aromático que tiene de 3 a 8 átomos de carbono (a menos que se especifique un número diferente de átomos) y de 1 a 3 dobles enlaces carbono-carbono. El término "cicloalqueniilo" incluye por medio de ejemplos el ciclopropenilo, ciclobutenilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo y ciclooctenilo. El término "cicloalqueniilo" también incluye cicloalqueniilo sustituido. Por ejemplo, el cicloalqueniilo puede sustituirse opcionalmente en cualquier carbono disponible con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo, haloalquilo, alqueniilo, -OH, -O-alquilo, -NH₂, NH(alquilo), -N(alquilo)₂, -CN, NO₂ y -N₃. Como se apreciará por los expertos en la técnica, el número de posibles sustituyentes en el anillo de cicloalqueniilo dependerá del tamaño del anillo. Grupos cicloalqueniilo particulares incluyen cicloalqueniilo C₃₋₆ y cicloalqueniilo C₃₋₆ sustituido.

Como se usa en este documento, el término "opcionalmente" significa que el(los) evento(s) posteriormente descrito(s) puede(n) ocurrir o no, e incluye tanto eventos que ocurren como que no ocurren.

45 Como se usa en este documento, el término "tratamiento" incluye la prevención de la incidencia de síntomas de la afección o enfermedad en el sujeto, la prevención de la incidencia de síntomas de la afección o enfermedad en el sujeto, el retraso de la incidencia de síntomas de la afección o enfermedad en el sujeto, la disminución en la gravedad o frecuencia de síntomas externos de la afección o enfermedad en el sujeto, ralentización o eliminación de la progresión de la afección y la eliminación parcial o total de síntomas de la enfermedad o afección en el sujeto.

La presente invención se refiere a compuestos de fórmula (I):



en donde:

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

5 cada R^1 es igual o diferente y se selecciona independientemente del grupo que consiste en halo, alquilo, alqueno, -OR⁶, -S(O)_fR⁶, -NR⁶R⁷, -R⁵OR⁶, -R⁵S(O)_fR⁶, -R⁵NR⁶R⁷ y ciano;

b es 0, 1, 2 o 3;

R^2 se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alqueno, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalqueno C₃₋₆, -R⁵OR⁶, -R⁵NR⁶R⁷ y ciano;

Y es -O-, -S- o -N(R⁸)-;

10 R^3 es un ácido, amida, éster o grupo equivalente al ácido;

R^4 es H, halo, alquilo o haloalquilo;

cada R^5 es igual o diferente y se selecciona independientemente del grupo que consiste en alqueno y alqueno;

cada R^6 y R^7 son iguales o diferentes y cada uno se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo, alqueno, cicloalquilo C₃₋₆ y cicloalqueno C₃₋₆; y

15 f es 0, 1 o 2;

cada R^8 es igual o diferente y es independientemente H o alquilo;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 En los compuestos de fórmula (I) el(los) grupo(s) R^1 puede(n) unirse en las posiciones orto, meta o para. En una realización, el compuesto de fórmula (I) se define en donde a es 1, 2, 3, 4 o 5. En una realización particular, a es 1 o 2. En una realización particular, a es 2. En una realización particular, a es 2 y cada R^1 está en la posición orto.

25 En una realización, los compuestos de fórmula (I) se definen en donde cada R^1 es igual o diferente y se selecciona independientemente del grupo que consiste en halo, alquilo y -OR⁶ o cualquier subconjunto de los mismos. En una realización particular, cada R^1 es igual o diferente y se selecciona independientemente del grupo que consiste en halo, alquilo, -O-alquilo, -O-haloalquilo o cualquier subconjunto de los mismos. En una realización particular, cada R^1 es igual o diferente y se selecciona independientemente del grupo que consiste en halo o -OR⁶ o cualquier subconjunto del mismo. En una realización particular, cada R^1 es igual o diferente y es halo. Más específicamente, en una realización, cada R^1 es igual o diferente y se selecciona independientemente del grupo que consiste en Cl, F, metilo y -O-CF₃ o cualquier subconjunto del mismo. Más específicamente, en una realización cada R^1 es Cl. En otra realización, cada R^1 es metilo.

30 En una realización, se definen los compuestos de fórmula (I) en donde b es 0 o 2. En una realización particular, b es 0. En una realización particular, b es 2.

35 En una realización de la presente invención, R^2 se selecciona del grupo que consiste en alquilo y cicloalquilo C₃₋₆. En una realización particular, R^2 es alquilo. Más específicamente, los grupos particulares que definen R^2 se seleccionan del grupo que consiste en metilo, etilo, isopropilo, ciclopropilo y ciclobutilo, o cualquier subconjunto de los mismos. En una realización particular, R^2 es isopropilo.

En una realización, se definen los compuestos de fórmula (I) en donde Y es -O-. En otra realización particular, se definen los compuestos de fórmula (I) en donde Y es -N(R⁸)-. En una realización, Y es -N(R⁸)-, en donde R^8 se selecciona del grupo que consiste en H y metilo.

R³ es un ácido, amida, éster o grupo equivalente al ácido. El término "ácido" en la definición de R³ se refiere a un grupo -C(O)₂H. Como se apreciará por los expertos en la técnica, sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) en donde R³ es un ácido, se refiere a sales de dichos ácidos, por ejemplo, -C(O)₂⁻ Na⁺ o -C(O)₂⁻ K⁺. El término "amida" en la definición de R³ se refiere a un grupo -C(O)NR^aR^b, en donde R^a y R^b se seleccionan cada uno independientemente de H, alquilo, alqueno, cicloalquilo y cicloalqueno o R^a y R^b junto con el átomo de N al que están unidos forman un anillo heterocíclico de 3-8 miembros que contiene 1 N. El término "éster" en la definición de R³ se refiere a un grupo -C(O)₂R^c, en donde R^c se selecciona de alquilo, alqueno, cicloalquilo y cicloalqueno. Como se usa en este documento, el término "grupo equivalente al ácido" significa un grupo funcional con un protón ácido que puede tomar el lugar de un ácido carboxílico en un sistema biológico. Ejemplos de grupos equivalentes al ácido según la presente invención incluyen aunque no están limitados a, nitrilo, tetrazol, 1,2,4-oxadiazolidin-3,5-dionas, 3(2H)-isoxazolonas, 1,2,4-oxadiazol-5(2H)-onas, 3H-1,2,3,5-oxatiadiazol-2-óxidos.

En una realización de la presente invención, R³ es un ácido o grupo equivalente al ácido. En una realización particular, R³ es un ácido.

En una realización de la presente invención, R⁴ se selecciona del grupo que consiste en H o halo. En una realización particular, R⁴ es H.

La presente invención contempla e incluye todas las combinaciones y subconjuntos de los grupos particulares definidos arriba.

Ejemplos específicos de compuestos particulares de la presente invención se seleccionan del grupo que consiste en:

Sal sódica de ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftoico;

Ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;

Ácido 6-[2-cloro-4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;

Ácido 6-[4-({[5-ciclobutil-3-(2,6-diclorofenil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;

Ácido 6-[4-({[3-([2,6-diclorofenil]metil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;

Ácido 6-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;

Ácido 6-(4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-isopropilisoxazol-4-il]metoxi}fenil)-2-naftoico;

6-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxilato de metilo;

Ácido 7-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxílico;

Ácido 7-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxílico;

Ácido 7-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;

Ácido 7-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;

6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxamida;

6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarbonitrilo;

5-{6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalenil}-1H-tetrazol;

Sal de tris(hidroximetil)aminometano de ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftoico;

y sales o solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Ciertos compuestos de fórmula (I) pueden existir en formas estereoisoméricas (por ejemplo, pueden contener uno o más átomos de carbono asimétricos). Los estereoisómeros individuales (enantiómeros y diastereómeros) y sus mezclas están incluidos dentro del alcance de la presente invención. La presente invención también cubre los isómeros individuales de los compuestos representados por la fórmula (I) como mezclas con sus isómeros, en los que uno o más centros quirales están invertidos.

Sales farmacéuticamente aceptables adecuadas según la presente invención se determinarán fácilmente por un experto en la técnica e incluirán, por ejemplo, sales preparadas a partir de bases inorgánicas tales como hidróxido de litio, hidróxido sódico, hidróxido de potasio, hidruro de litio, hidruro sódico, hidruro de potasio, carbonato de litio, carbonato de hidrógeno y litio, carbonato sódico, carbonato de hidrógeno y sodio, carbonato de potasio, carbonato de hidrógeno y potasio, además de terc-butóxido de potasio y bases orgánicas tales como dietilamina, lisina, argini-

na, colina, tris(hidroximetil)aminometano (trometamina), trietanolamina, dietanolamina y etanolamina. En una realización, los compuestos de fórmula (I) están en la forma de sal sódica.

5 Cuando se usan en medicina, las sales de un compuesto de fórmula (I) serían farmacéuticamente aceptables, aunque pueden usarse convenientemente sales farmacéuticamente no aceptables para preparar la correspondiente base libre o sales farmacéuticamente aceptables de la misma.

10 Como se usa en este documento, el término "solvato" se refiere a la forma cristalina que contiene el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y o una cantidad estequiométrica o no estequiométrica de un disolvente. Los disolventes, a modo de ejemplo, incluyen agua, metanol, etanol o ácido acético. En adelante, la referencia a un compuesto de fórmula (I) es a cualquier forma física de este compuesto, a menos que una forma particular, sal o solvato del mismo se especifique.

Los procedimientos para preparar sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I) son convencionales en la técnica. Véase, por ejemplo, *Burger's Medicinal Chemistry And Drug Discovery*, 5ª Edición, Vol 1: Principles And Practice.

15 Como será evidente a los expertos en la técnica, en los procedimientos descritos debajo para la preparación de compuestos de fórmula (I), ciertos intermedios, pueden estar en forma de sales y/o solvatos farmacéuticamente aceptables del compuesto. Los términos como se aplican a cualquier intermedio empleado en el procedimiento de preparación de compuestos de fórmula (I), tienen los mismos significados que se han presentado anteriormente con respecto a los compuestos de fórmula (I).

20 Los procedimientos para preparar sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de dichos intermedios son conocidos en la técnica, y son análogos al procedimiento para preparar sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I).

25 En una realización, los compuestos de fórmula (I) son agonistas de FXR. Como se usa en este documento, el término "agonista de FXR" se refiere a compuestos que muestran un pEC₅₀ mayor que 4 en el Ensayo de Selección del Cofactor FXR descrito debajo. Más particularmente, los agonistas de FXR son compuestos que muestran un pEC₅₀ mayor que 5 en el Ensayo de Selección del Cofactor FXR descrito debajo.

30 Los compuestos de fórmula (I) son útiles en la terapia de sujetos tales como mamíferos, particularmente seres humanos. En particular, los compuestos de fórmula (I) son útiles en el tratamiento de una afección mediada por FXR en un sujeto tal como un mamífero, particularmente un ser humano. Las afecciones mediadas por FXR incluyen, aunque no están limitadas a, enfermedades cardiovasculares; estados de enfermedad y complicaciones relacionadas con dislipidemia (C. Sinal, *Cell* **102**: 731-744 (2000)); trastornos del hígado tal como enfermedad del hígado colestático (Liu, Y. et al., *J. Clin. Invest.* **112**:1678-1687 (2003)) y enfermedad de cálculos biliares de colesterol (Moschetta, A., et al., *Nat. Med.* **10**:1352-1358 (2004)); fibrosis de un órgano (Fiorucci, S, et al. *Gastroenterology* **127**:1497-1512 (2004) y Fiorucci, et al., *JPET* **314**(2):584-595 (2005)) que incluye fibrosis hepática (Fiorucci, S, et al. *Gastroenterology* **127**:1497-1512 (2004)); diabetes mellitus (Duran-Sandoval, D. et al, *Diabetes* **53**:890-898 (2004); Bilz, S. et al., *Am.J.Physiol.Endocrinol.Metab.*, (Epub ahead of print, 2005); Nozawa, H, *Biochem.Biophys. Res.Comm.*, **336**:754-761 (2005); Duran-Sandoval, D., et al., *Biochimie*, **87**:93-98 (2005); Claudel, T., et al., *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.*, **25**:2020-2030 (2005); Duran-Sandoval, D., et al., *J.Biol.Chem.*, **280**:29971-29979 (2005); Savkur, R.S., et al., *Biochem.Biophys.Res.Comm.*, **329**:391-396 (2005)); síndrome metabólico; obesidad y depresión.

40 Los compuestos de fórmula (I) son útiles en el tratamiento de enfermedad cardiovascular en un sujeto tal como un mamífero, particularmente un ser humano. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) son útiles en el tratamiento de aterosclerosis, hipercolesterolemia o hiperlipidemia en un sujeto que lo necesita.

45 Los compuestos de fórmula (I) también son útiles para el tratamiento de estados de enfermedad y complicaciones relacionadas con la dislipidemia. Los compuestos de la presente invención aumentan el flujo de ácido biliar. El flujo aumentado de ácidos biliares mejora el flujo de ácidos biliares del hígado al intestino. Los ratones sin FXR demuestran que el FXR juega un papel en la homeostasis del ácido biliar, y por lo tanto, juega un papel en la homeostasis de lípidos por medio de la regulación de enzimas y transportadores que están implicados en el catabolismo y secreción de lípidos. Por lo tanto, el FXR es una diana para el tratamiento de un número de enfermedades del hígado colestático y esteatohepatitis no alcohólica.

50 Los compuestos de fórmula (I) son útiles para el tratamiento de la enfermedad del hígado colestático. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) son útiles en el tratamiento de cirrosis biliar primaria o colangitis esclerosante primaria. Los compuestos de fórmula (I) también son útiles para el tratamiento de cálculos biliares. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) son útiles en el tratamiento de enfermedad de cálculos biliares de colesterol. Los compuestos de fórmula (I) son también útiles para disminuir la acumulación de lípidos en el hígado.

55 Los compuestos de fórmula (I) también son útiles para el tratamiento de fibrosis de un órgano. Los trastornos fibróticos pueden caracterizarse como agudos o crónicos, aunque comparten la característica común de excesiva acumulación de colágeno y una pérdida asociada de función de manera que tejidos normales se sustituyen o se desplazan

por tejidos fibróticos. Las formas agudas de fibrosis incluyen respuesta al trauma, infecciones, cirugía, quemaduras, radiación y quimioterapia. Las formas crónicas de fibrosis pueden deberse a infección vírica, diabetes mellitus, obesidad, hígado graso, hipertensión, escleroderma y otras afecciones crónicas que inducen la fibrosis.

5 Los órganos que se afectan de forma más común por la fibrosis incluyen hígado y riñón. La fibrosis de un órgano puede provocar la pérdida progresiva de la función del órgano. La fibrosis retroperitoneal (que incluye la fibrosis retroperitoneal idiopática) puede no originarse a partir de cualquier órgano principal, aunque puede implicar y afectar de forma adversa la función de órganos tales como los riñones.

10 Por consiguiente, como se usa en este documento, el término fibrosis se refiere a todos los trastornos fibróticos reconocidos, que incluyen fibrosis debidas a afecciones o enfermedades patológicas, fibrosis debidas a traumas físicos ('fibrosis traumática'), fibrosis debida a daño por radiación, y fibrosis debida a exposición a compuestos quimioterapéuticos. Como se usa en este documento, el término "fibrosis de un órgano" incluye, aunque no está limitado a, fibrosis hepática, fibrosis de los riñones y fibrosis del intestino.

"Fibrosis traumática" incluye, aunque no está limitada a, fibrosis secundaria a la cirugía (cicatrizado quirúrgica), trauma físico accidental, quemaduras y cicatrizado hipertrófica.

15 En una realización particular, los compuestos de fórmula (I) son útiles para el tratamiento de fibrosis hepática en un sujeto, particularmente un mamífero tal como un ser humano, que necesita un tratamiento del mismo. Como se usa en este documento, "fibrosis hepática" incluye fibrosis hepática debida a cualquier causa, que incluye, aunque no está limitada a, fibrosis hepática inducida víricamente tal como la debida al virus de la hepatitis B o C; exposición al alcohol (enfermedad del hígado alcohólico), compuestos farmacéuticos, estrés oxidativo, terapia por radiación para el cáncer o compuestos químicos industriales; y enfermedades tales como cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, hígado graso, obesidad, esteatohepatitis no alcohólica, fibrosis quística, hemocromatosis, hepatitis auto-inmune y esteatohepatitis. La terapia normal en la fibrosis hepática se dirige en primer lugar a eliminar el agente causal, por ejemplo, eliminando el hierro en exceso (por ejemplo, en el caso de hemocromatosis), disminuyendo la carga vírica (por ejemplo, en el caso de hepatitis vírica crónica), o eliminando o disminuyendo la exposición a toxinas (por ejemplo, en el caso de enfermedad de hígado alcohólico). Los fármacos anti-inflamatorios tales como corticosteroides y colchicina también se conocen para el uso en el tratamiento de la inflamación que puede llevar a la fibrosis hepática. Otras estrategias para tratar la fibrosis hepática están en desarrollo (véase, por ejemplo, Murphy et al., Expert Opin. Investig. Drugs 11:1575 (2002); Bataller y Brenner, Semin. Liver Dis. 21:437 (2001)). Así, en otra realización, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de fibrosis hepática en un sujeto que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) en combinación con otro agente terapéutico útil para el tratamiento de síntomas asociados con la fibrosis hepática. Ejemplos de agentes terapéuticos útiles para el tratamiento de síntomas asociados con la fibrosis hepática incluye corticosteroides y colchicina.

35 La respuesta del hígado al daño hepatocelular, similar al curado de heridas en otros tejidos, incluye inflamación y remodelado de tejidos, con cambios asociados en la cantidad y calidad de la matriz extracelular. La acumulación progresiva de proteínas de matriz extracelular, que incluye colágeno tipos I y III, distorsiona finalmente la arquitectura del hígado formando cicatrices fibrosas, dando por resultado la interrupción del flujo sanguíneo y el deterioro final en la función hepática. Las células estrelladas hepáticas (HSC) se han identificado como mediadores importantes en el proceso fibrótico en el hígado, y se cree que son responsables en primera instancia de la síntesis del exceso de matriz extracelular vista en la enfermedad del hígado. El daño hepático puede dar por resultado que HSCs inactivas se conviertan en células parecidas a miofibroblastos activos que proliferan, migran, seleccionan células inflamatorias y sintetizan colágenos y otras proteínas de matriz extracelular. Se presentan varias citoquinas para activar HSCs, que incluyen la transformación del factor de crecimiento β (TGF β). Después del daño hepático, las HSCs sintetizan α -actina del músculo liso (α -SMA) como parte de la respuesta de migración, por consiguiente puede verse una marcada acumulación de α -SMA en áreas de fibrogénesis hepática activa. La enajenación de la normal interacción epitelial/mesenquimal, caracterizada por el daño/proliferación de colangiocitos, también puede llevar a fibrogénesis progresiva y productora de matriz extracelular. Pinzani M. et al., Dig.Liver Dis., 36:231-242 (2004).

50 Como se sabe en la técnica, la fibrosis hepática puede clasificarse clínicamente en cinco etapas (S0 a S4) de gravedad, normalmente en base al examen histológico de un espécimen biopsiado. S0 indica que no hay fibrosis, mientras que S4 indica cirrosis. Mientras que existen diversos criterios para indicar la etapa de gravedad de la fibrosis hepática, en general las etapas tempranas de fibrosis se identifican por áreas discretas, localizadas, de cicatrizado en un portal (zona) del hígado, mientras que las últimas etapas de fibrosis se identifican por fibrosis en puente (cicatrizado que cruza zonas del hígado).

55 Los compuestos de fórmula (I) son también útiles para el tratamiento de enfermedad de hígado graso no alcohólico y esteatohepatitis no alcohólica en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano.

Los compuestos de fórmula (I) son útiles para disminuir los triglicéridos en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano. Como se usa en este documento, "disminución de triglicéridos" significa la disminución de triglicéridos en un sujeto que lo necesita por debajo del nivel inicial de triglicéridos en ese sujeto antes de la administración de un compuesto de fórmula (I). Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) pueden disminuir los triglicéridos

disminuyendo la absorción de grasas, disminuyendo la producción de triglicéridos hepáticos o disminuyendo la secreción de triglicéridos hepáticos. Los compuestos de fórmula (I) también disminuyen los triglicéridos hepáticos y en suero.

5 Los compuestos de fórmula (I) también son útiles para el tratamiento de la depresión. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) pueden ser útiles para el tratamiento de trastornos depresivos graves, incluyendo la depresión bipolar, depresión unipolar, episodios depresivos graves aislados o recurrentes con o sin manifestaciones psicóticas, manifestaciones catatónicas, manifestaciones melancólicas, manifestaciones atípicas o al comienzo del posparto, el tratamiento de la ansiedad y el tratamiento de los trastornos de pánico. Otros trastornos del estado de ánimo incluidos en el término trastornos depresivos graves incluyen trastorno distímico con aparición temprana o tardía y con o sin manifestaciones atípicas, depresión neurótica, trastornos de estrés postraumático y fobia social; demencia de tipo Alzheimer, de aparición temprana o tardía, con estado de ánimo deprimido; demencia vascular con estado de ánimo deprimido; trastornos del estado de ánimo inducidos por el alcohol, anfetaminas, cocaína, alucinógenos, inhalantes, opioides, fenilciclidina, sedantes, hipnóticos, ansiolíticos y otras sustancias; trastorno esquizoafectivo del tipo depresivo y trastorno de ajuste con humor deprimido. Los trastornos depresivos graves también pueden ser el resultado de una afección médica general que incluye, pero no se limita a infarto de miocardio, diabetes mellitus, aborto natural o provocado.

20 Los compuestos de fórmula (I) también son útiles en el tratamiento de diabetes mellitus en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano. Por ejemplo, los compuestos de fórmula (I) son útiles para el tratamiento de diabetes tipo 2. Los efectos de un agonista de FXR, GW4064, en el peso corporal, tolerancia a la glucosa, contenidos de glucosa en suero, insulina en suero, triglicéridos en suero y triglicéridos hepáticos por medio de administración oral se han observado en un modelo de ratón resistente a la insulina, intolerante a la glucosa y obeso, inducido por una dieta rica en grasas. Se alojaron ratones macho C57BL de 20 a 25 g (Charles River, Indianapolis, IN) a 72°F y humedad relativa del 50% con un ciclo de luz y oscuridad de 12 h y se alimentaron con pienso de ratones estándar (Purina 5001, Harlan Teklad, Indianapolis, IN) o una dieta rica en grasas (TD93075, Harlan Teklad, Indianapolis, IN) durante siete semanas. Después de dos semanas, los ratones con la dieta rica en grasas se aleatorizaron en grupos vehículo o de tratamiento. No había una diferencia significativa en peso corporal, masa de grasa corporal, glucosa e insulina en suero, y el área bajo la curva (AUC) para la glucosa en el ensayo de tolerancia a la glucosa (GTT) entre el grupo vehículo y el grupo de tratamiento. Empezando a partir de la cuarta semana, se les dio a los ratones o vehículo o GW4064 (100 mg/kg) dos veces al día de forma oral. A los ratones con el pienso de roedores estándar se les dio también vehículo como control. Al final de la tercera semana de tratamiento de compuesto, se realizó un GTT y se midió la composición corporal usando el método de resonancia magnética cuantitativa (QMR). Al final del estudio (cuarta semana de tratamiento de compuesto), se tomaron muestras de sangre de la vena cava inferior y se recogieron muestras de tejido para análisis adicional. La glucosa en sangre durante GTT se midió usando el Glucómetro Elite® XL de Bayer. Los niveles químicos en suero se midieron usando el analizador químico clínico Ilab600TM de Instrumentation Laboratory (Instrumentation Laboratory, Boston, MA). Los contenidos de triglicéridos hepáticos se midieron usando el método de saponificación metanólico-KOH y un equipo de ensayo de triglicéridos (GPO-TRINDER, Sigma Diagnostics, St Louis, MO). Los resultados indicaron que el GW4064 redujo la ganancia de peso corporal inducida por la dieta rica en grasas. Se cree que el resultado puede haberse debido a una disminución en la masa de grasas. También pareció que el GW4064 mejora la tolerancia a la glucosa, disminuyó la glucosa, insulina y triglicéridos en suero y redujo el contenido de triglicéridos hepáticos. Estos datos sugieren que los agonistas de FXR, que incluyen los compuestos de la fórmula (I), pueden usarse para el tratamiento de obesidad, resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, diabetes mellitus, enfermedad de hígado graso y síndrome metabólico.

45 Los compuestos de fórmula (I) también son útiles para el tratamiento del síndrome metabólico en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano. El síndrome metabólico se caracteriza por un grupo de factores de riesgo metabólico en una persona. Incluyen obesidad abdominal (excesivo tejido graso en y alrededor del abdomen), dislipidemia aterogénica (triglicéridos altos, bajo colesterol de lipoproteína de alta densidad (HDL) y alto colesterol de lipoproteína de baja densidad (LDL)), elevada presión sanguínea, resistencia a la insulina o intolerancia a la glucosa, estado protrombótico y estado pro-inflamatorio. La gente con síndrome metabólico tiene un mayor riesgo de enfermedad cardíaca coronaria y enfermedades relacionadas con la aterosclerosis (por ejemplo, ictus y enfermedad vascular periférica) y diabetes mellitus tipo 2. Se estima que más de 50 millones de personas tienen síndrome metabólico en los Estados Unidos. [<http://www.americanheart.org/>]. La presente invención proporciona un método para el tratamiento del síndrome metabólico caracterizado por obesidad abdominal, dislipidemia aterogénica y resistencia a la insulina, y puede beneficiar otros componentes del síndrome metabólico en un sujeto.

55 La presente invención proporciona un método para el tratamiento de una afección mediada por FXR en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesita. En particular, la presente invención proporciona métodos para el tratamiento de enfermedad cardiovascular que incluye arterosclerosis e hipercolesterolemia. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una afección mediada por FXR, que incluye enfermedad cardiovascular.

60 La presente invención proporciona un método para el tratamiento de enfermedad de hígado colestático en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesita. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de hígado colestático en un sujeto.

La presente invención permite un método para el tratamiento de fibrosis de un órgano en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesita. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la fibrosis de un órgano en un sujeto.

5 La presente invención permite un método para el tratamiento de fibrosis hepática en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesita. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la fibrosis hepática en un sujeto.

10 La presente invención permite un método para el tratamiento de la diabetes mellitus en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesita. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la diabetes mellitus en un sujeto.

15 La presente invención permite un método para el tratamiento de síndrome metabólico en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesita. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento del síndrome metabólico en un sujeto.

La presente invención permite un método para el tratamiento de la obesidad en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesita. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la obesidad en un sujeto.

20 La presente invención permite también un método para disminuir los triglicéridos en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesita. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para disminuir los triglicéridos en un sujeto.

La presente invención permite un método para el tratamiento de la depresión en un sujeto, tal como un mamífero, particularmente un ser humano, que lo necesita. La presente invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la depresión en un sujeto.

25 Todos los métodos dichos comprenden la etapa de administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo. Como se usa en este documento, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad del compuesto de fórmula (I) que es suficiente para alcanzar el efecto planteado en el sujeto al que se administra. Por consiguiente, una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) usada en el método para el tratamiento de una afección mediada por FXR en un ser humano será una cantidad suficiente para el tratamiento de la afección mediada por FXR en un ser humano. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) para el uso en el método para el tratamiento de la enfermedad del hígado colestático en un ser humano será una cantidad suficiente para el tratamiento de la enfermedad del hígado colestático en un ser humano. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) para el uso en el método para el tratamiento de fibrosis de un órgano (por ejemplo, hígado) en un ser humano será una cantidad suficiente para el tratamiento de fibrosis de un órgano en un ser humano. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) para el uso en el método para el tratamiento de la diabetes mellitus en un ser humano será una cantidad suficiente para el tratamiento de la diabetes mellitus en un ser humano. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) para el uso en el método para el tratamiento de la depresión en un ser humano será una cantidad suficiente para el tratamiento de la depresión en un ser humano.

40 La cantidad de un compuesto de fórmula (I) que se requiere para alcanzar el efecto terapéutico o biológico deseado dependerá de un número de factores tales como el uso pretendido, los medios de administración, el receptor y el tipo y gravedad de la afección o enfermedad a tratar, y por último estará en el criterio del médico o veterinario asistente. En general, se puede esperar que una dosis diaria típica para el tratamiento de una enfermedad o afección mediadas por FXR en un ser humano, por ejemplo, esté en el intervalo de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg para un ser humano de 70 kg. Esta dosis se puede administrar en forma de una única dosis unitaria o en forma de varias dosis unitarias separadas o en forma de infusión continua. Dosis similares se podrían aplicar para el tratamiento de otras enfermedades, afecciones y terapias que incluyen diabetes mellitus y obesidad en seres humanos.

50 Aunque es posible que, para uso en terapia, pueda administrarse una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula (I) como materia prima, se presenta típicamente como el ingrediente activo de una composición o formulación farmacéutica. Por consiguiente, la invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la fórmula (I). La composición farmacéutica puede comprender además uno o más vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables. El(los) vehículo(s) y/o el diluyente(s) debe(n) ser aceptable(s) en el sentido de ser compatible(s) con los demás ingredientes de la formulación, y no ser perjudiciales para el receptor de los mismos. De acuerdo con otro aspecto de la invención, también se proporciona un procedimiento para la preparación de una formulación farmacéutica que incluye mezclar un compuesto de la fórmula (I) con uno o más vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

55

Las formulaciones farmacéuticas pueden presentarse en forma de dosis unitaria que contienen una cantidad prede-
terminada de ingrediente activo por dosis unitaria. Dicha unidad puede contener una dosis terapéuticamente eficaz
del compuesto de fórmula (I) o una fracción de una dosis terapéuticamente eficaz de manera que podrían adminis-
trarse múltiples formas de dosificación unitaria a un tiempo dado para alcanzar la dosis terapéuticamente eficaz
5 deseada. Las formulaciones de dosis unitarias preferidas son las que contienen una dosis o subdosis diaria, como
se ha citado anteriormente en este documento, o una fracción apropiada de ella, de un ingrediente activo. Además,
tales formulaciones farmacéuticas pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la
técnica farmacéutica.

Las formulaciones farmacéuticas pueden estar adaptadas para la administración por cualquier vía apropiada, por
ejemplo, vía oral (incluyendo bucal o sublingual), rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal, sublingual o transdérmica),
vaginal o parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular, intravenosa o intradérmica). Tales formulaciones se
10 pueden preparar por cualquier método conocido en la técnica farmacéutica, por ejemplo, combinando el ingrediente
activo con el(los) vehículo(s) o excipiente(s).

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para la administración por vía oral se pueden presentar como unidades
discretas tales como cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; disoluciones o suspensiones en líquidos acuosos o
15 no acuosos; espumas o batidos comestibles; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua
en aceite.

Por ejemplo, para la administración oral en forma de un comprimido o cápsula, el componente del fármaco activo se
puede combinar con un vehículo oral, inerte, no tóxico, farmacéuticamente aceptable, tal como etanol, glicerol, agua
y similar. Los polvos se preparan triturando el compuesto hasta un tamaño fino adecuado y mezclándolo con un
20 vehículo farmacéutico triturado de manera similar tal como un carbohidrato comestible, como por ejemplo, almidón o
manitol. También pueden estar presentes agentes aromatizantes, conservantes, dispersantes y colorantes.

Las cápsulas se fabrican preparando una mezcla en polvo como se describe arriba, y llenando cápsulas vacías de
gelatina. A la mezcla de polvo se le pueden añadir deslizantes y lubricantes tales como sílice coloidal, talco, estearato
de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol sólido antes de la operación de llenado. También se puede
25 añadir un agente disgregante o solubilizante tal como agar-agar, carbonato de calcio o carbonato sódico para mejo-
rar la disponibilidad del medicamento cuando se ingiere la cápsula.

Además, cuando se desee o sea necesario, también se pueden incorporar en la mezcla aglutinantes, lubricantes,
agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azú-
cares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como
30 goma arábiga, tragacanto o alginato sódico, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras y similares. Los lubricantes
usados en estas formas de dosificación incluyen oleato sódico, estearato sódico, estearato de magnesio, benzoato
sódico, acetato sódico, cloruro sódico, y similares. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metilcelulosa,
agar, bentonita, goma de xantano y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla de
35 polvo, granulando o aplastando la mezcla, añadiendo un lubricante y disgregante y prensando para obtener compri-
midos. Una mezcla de polvo se prepara mezclando el compuesto, convenientemente triturado, con un diluyente o
base como se describe arriba, y opcionalmente, con un aglutinante tal como carboximetilcelulosa, un alginato, gela-
tina o polivinilpirrolidona, un agente retardante de la disolución tal como parafina, un acelerador de la resorción tal
como una sal cuaternaria y/o un agente de absorción tal como bentonita, caolín o fosfato dicálcico. La mezcla de
40 polvo se puede granular mediante humectación con un aglutinante tal como jarabe, pasta de almidón, mucílago de
goma arábiga o disoluciones de materiales celulósicos o poliméricos y haciéndola pasar a través de un tamiz. Como
alternativa a la granulación, la mezcla de polvo se puede procesar a través de la máquina de comprimir siendo el
resultado bloques formados de manera imperfecta que se rompen formando gránulos. Los gránulos se pueden lubri-
car para prevenir la adherencia a las matrices que forman los comprimidos por medio de la adición de ácido esteárico,
45 una sal de estearato, talco o aceite mineral. La mezcla lubricada se comprime luego en comprimidos. Los com-
puestos de la presente invención también se pueden combinar con un vehículo inerte fluido y se pueden comprimir
en comprimidos directamente sin pasar a través de las etapas de granulación o trituración. Puede proporcionarse un
recubrimiento protector transparente u opaco que consiste en un recubrimiento sellante de goma laca, un recubri-
miento de azúcar o material polimérico y un recubrimiento pulido de cera. A estos recubrimientos se les pueden
50 añadir colorantes para distinguir diferentes unidades de dosificación.

Los fluidos orales tales como disoluciones, jarabes y elixires se pueden preparar en forma de dosificación unitaria de
manera que una cantidad dada contenga una cantidad predeterminada del ingrediente activo. Los jarabes se pueden
preparar disolviendo el compuesto en una solución acuosa convenientemente aromatizada, mientras que los elixires
se preparan por medio del uso de un vehículo alcohólico no tóxico. Las suspensiones se pueden formular disper-
55 sando el compuesto en un vehículo no tóxico. También se pueden añadir solubilizantes y emulsionantes tales como
alcoholes isoestearílicos etoxilados y polioxietilen-éteres de sorbitol, conservantes, aditivos aromáticos tales como
aceite de menta o bien edulcorantes naturales o sacarina u otros edulcorantes artificiales, y similares.

Cuando sea apropiado, se pueden microencapsular las formulaciones de dosificación unitaria para administración
por vía oral. La formulación también se puede preparar para prolongar o sostener la liberación, como por ejemplo,
60 recubriendo o incrustando el material en forma de partículas en polímeros, ceras o similares.

Un compuesto de fórmula (I) también puede administrarse en forma de sistemas de liberación de liposomas, tales como vesículas monolaminares pequeñas, vesículas monolaminares grandes y vesículas multilaminares. Los liposomas se pueden formar a partir de una diversidad de fosfolípidos tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

5 Un compuesto de fórmula (I) también pueden liberarse mediante el uso de anticuerpos monoclonales como vehículos individuales a los que se acoplan las moléculas de compuesto. Los compuestos se pueden acoplar también con polímeros solubles como vehículos de fármacos seleccionados. Tales polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamida-fenol, polihidroxietilaspirtamida-fenol o poli(óxido de etileno)-polilisina sustituido con residuos palmitoílo. Además, los compuestos se pueden acoplar a una clase de polímeros biodegradables útiles para conseguir la liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, poliépsilon-caprolactona, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloque reticulados o anfipáticos de hidrogeles.

15 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración transdérmica se pueden presentar como parches discretos destinados a permanecer en contacto íntimo con la epidermis del receptor durante un período de tiempo prolongado. Por ejemplo, el ingrediente activo puede liberarse desde el parche por iontoforesis, como se describe, en general, en *Pharmaceutical Research*, 3(6):318 (1986).

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica pueden formularse como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, disoluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites.

20 Para tratamientos del ojo u otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, las composiciones se aplican preferiblemente como una pomada o crema tópica. Cuando se formula como una pomada, el ingrediente activo puede emplearse con una base para pomadas parafínica o miscible con agua. De manera alternativa, se puede formular el ingrediente activo en una crema con una base para cremas de aceite en agua o con una base de agua en aceite.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para las administraciones tópicas en el ojo incluyen colirios en donde el ingrediente activo se disuelve o se suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso.

25 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración tópica en la boca incluyen pastillas, píldoras y colutorios.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración rectal pueden presentarse como supositorios o como enemas.

30 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración nasal en donde el vehículo es un sólido incluyen un polvo grueso que tiene un tamaño de partículas, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 20 micras a aproximadamente 500 micras, que se administra de la manera en la que se toma el rapé, es decir, por inhalación rápida a través del conducto nasal desde un recipiente con el polvo que se mantiene muy cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas en donde el vehículo es un líquido, para administración como pulverizaciones nasales o gotas nasales, incluyen soluciones acuosas u oleosas del ingrediente activo.

35 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración por inhalación incluyen polvos o nieblas en finas partículas, que se pueden generar por medio de diferentes tipos de aerosoles, nebulizadores o insufladores presurizados con medidor de dosis.

Las composiciones farmacéuticas adaptadas para administración vaginal pueden presentarse como supositorios vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización.

40 Las composiciones farmacéuticas adaptadas para la administración por vía parenteral incluyen disoluciones para inyección estéril, acuosas y no acuosas, que pueden contener antioxidantes, tampones, agentes bacteriostáticos y solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor pretendido; y suspensiones estériles, acuosas y no acuosas, que pueden incluir agentes de suspensión y agentes espesantes. Las composiciones se pueden presentar en envases de dosis unitaria o en envases multidosis, por ejemplo, ampollas y viales sellados, y se pueden almacenar en estado seco por congelación (liofilizado), necesitando sólo la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Pueden prepararse disoluciones y suspensiones para inyección extemporáneas, a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.

45 Debe entenderse que además de los ingredientes mencionados arriba de forma particular, las composiciones pueden incluir otros agentes convencionales en la técnica que guarden relación con el tipo de formulación en cuestión, por ejemplo, los adecuados para la administración oral pueden incluir agentes aromatizantes.

50 En los métodos descritos arriba de tratamiento y usos, un compuesto de fórmula (I) puede emplearse solo, en combinación con uno o más compuestos distintos de fórmula (I) o en combinación con otros agentes terapéuticos. Así, la presente invención también abarca las composiciones farmacéuticas que comprenden además uno o más agentes terapéuticos. En una realización, las composiciones farmacéuticas comprenden además uno o más agentes que alteran los lípidos. Ejemplos de agentes que alteran los lípidos incluyen, aunque no están limitados a, agonistas del

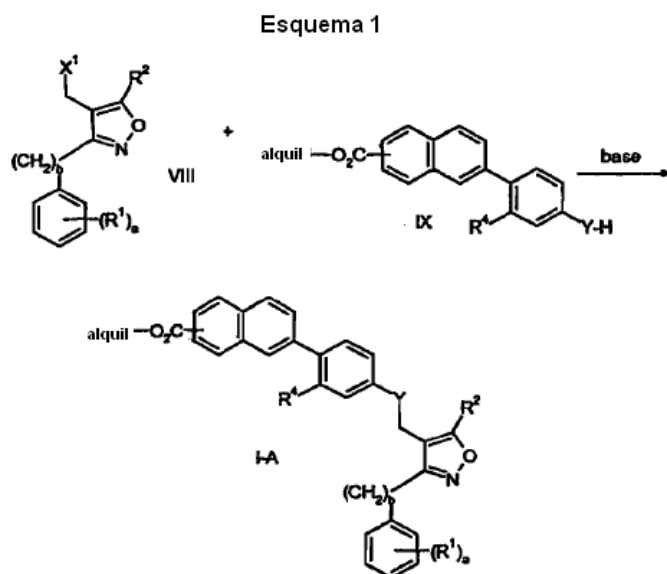
55

receptor X del hígado (LXR) descritos en la Publicación PCT núm. WO02/24632 de GlaxoSmithKline). Ejemplos de otros agentes terapéuticos incluyen, aunque no están limitados a, inhibidores de 3-Hidroxi-3-Metil-Glutaril-CoA reductasa tales como estatinas (atorvastatina, fluvastatina, pravastatina, lovastatina, cerivastatina y nisvastatina); inhibidores de escualeno epoxidasa, inhibidores de escualeno sintetasa, inhibidores del transporte de ácido biliar (BA-Ti), agonistas gamma del receptor activado por el proliferador de peroxisoma humano (PPAR) tales como rosiglitazona, troglitazona y pioglitazona y tiazolidindionas; agonistas de α PPAR tales como clofibrato, fenofibrato y gemfibrozilo; agonistas α/γ duales de PPAR; inhibidores de ciclooxigenasa-2 (COX-2) tales como rofecoxib y celecoxib; inhibidores de trombina; acil-coenzima A; inhibidores de colesterol aciltransferasa (ACAT) que incluyen inhibidores selectivos de ACAT; inhibidores de proteína de transferencia de triglicéridos microsomales (MTP); probucol, niacina; inhibidores de absorción de colesterol; secuestrantes de ácido biliar; inductores del receptor de LDL; inhibidores de agregación de plaquetas tales como antagonistas del receptor de fibrinógeno de glicoproteína IIb/IIIa y aspirina; vitamina B6 y sales farmacéuticamente aceptables de la misma; vitamina B12; ácido fólico o una sal o éster farmacéuticamente aceptable del mismo; vitaminas antioxidantes tales como C y E y beta caroteno; bloqueantes beta; antagonistas de angiotensina II tales como losartan; inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina tales como enalapril y captopril; bloqueantes del canal de calcio tal como nifedipina y diltiazam; antagonistas endotelianos; agentes distintos de ligandos de LXR que mejoran la expresión del gen A1-Transportador del Conjunto de Unión-ATP; y compuestos de bisfosfonato tales como alendronato sódico.

Los métodos y usos que emplean estas combinaciones pueden comprender la administración del compuesto de fórmula (I) y otro agente terapéutico o bien secuencialmente en cualquier orden o simultáneamente en composiciones farmacéuticas separadas o combinadas. Cuando se combinan en la misma composición, se apreciará que los compuestos deben ser estables y compatibles con cada uno de los demás y con los otros componentes de la composición, y pueden formularse para su administración. Cuando se formulan por separado, se pueden proporcionar en cualquier formulación conveniente, de una manera que sea conocida en la técnica para tales compuestos.

Cuando un compuesto de fórmula (I) se usa en combinación con otro agente terapéutico, la dosis de cada compuesto puede diferir de cuando el compuesto se usa solo. Los expertos en la técnica apreciarán fácilmente las dosis apropiadas. La dosis apropiada del(de los) compuesto(s) de fórmula (I) y el(los) otro(s) agente(s) terapéuticamente activo(s) y los tiempos relativos de administración se seleccionarán para alcanzar el efecto terapéutico combinado deseado, y están bajo la experiencia y criterio del médico que atiende.

Los compuestos de la invención pueden hacerse según cualquier método adecuado de la química orgánica. Según un método, un compuesto de fórmula (I) puede prepararse usando el procedimiento descrito en el Esquema 1, debajo.



en donde:

X¹ es cloro, yodo, bromo, triflato, tosilato, nosilato, besilato o mesilato, (preferiblemente cloro); y

todas las demás variables son tal como se definen arriba.

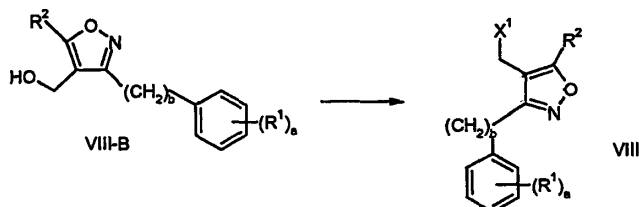
En general, el procedimiento del Esquema 1 comprende las etapas de:

a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VIII) con un compuesto de fórmula (IX) para preparar un compuesto de fórmula (I-A);

b) convertir opcionalmente el compuesto de fórmula (I-A) en un compuesto diferente de fórmula (I).

Más particularmente, el compuesto de fórmula (I-A) puede prepararse haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (XI) con un compuesto de fórmula (VIII) en presencia de una base adecuada tal como carbonato de cesio o carbonato de potasio, en un disolvente aprótico polar tal como N,N-dimetilformamida a temperatura ambiente o elevada.

- 5 El compuesto de fórmula (VIII) puede prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (VIII-B) con el reactivo apropiado para producir un compuesto con el grupo saliente deseado (X^1).

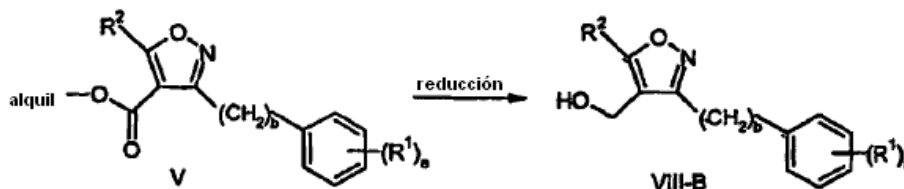


en donde todas las variables son tal como se definen arriba.

- 10 Cuando X^1 es halo, la reacción se lleva a cabo halogenando el compuesto de fórmula (VIII-B). Cualquier reactivo halogenante adecuado convencional en la técnica puede emplearse en la reacción. Ejemplos de reactivos halogenantes adecuados incluyen, aunque no están limitados a, cloruro de tionilo o dicloruro de trifenilfosfina. La reacción se lleva a cabo típicamente en un disolvente no polar tal como diclorometano o 1,2-dicloroetano a temperatura ambiente.

- 15 En donde X^1 es triflato, tosilato o mesilato, el procedimiento de reacción puede llevarse a cabo según los métodos descritos por Vedejs, E. et al.; *J. Org. Chem.* **42**: 3109-3113 (1977), Handy, S. T.; et al.; *J. Org. Chem.* **69**, 2362-2366 (2004), o Copp, T.; et al. *Journal of the Chemistry Society* 2021-2025 (1955), respectivamente.

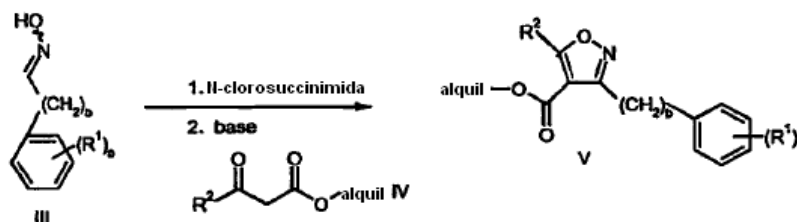
El compuesto de la fórmula (VIII-B) puede prepararse reduciendo un compuesto de la fórmula (V).



en donde todas las variables son como se definen arriba.

- 20 Un compuesto de fórmula (V) puede tratarse con un agente reductor tal como hidruro de diisobutilaluminio, en un disolvente adecuado tal como tetrahidrofurano.

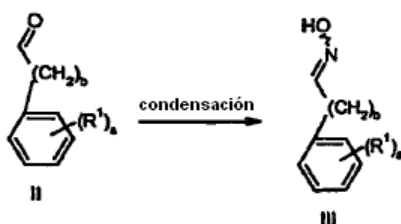
El compuesto de fórmula (V) puede prepararse clorando un compuesto de fórmula (III) seguido de reacción con un éster de fórmula (IV) y ciclando para preparar el compuesto de fórmula (V).



- 25 en donde todas las variables son como se definen arriba.

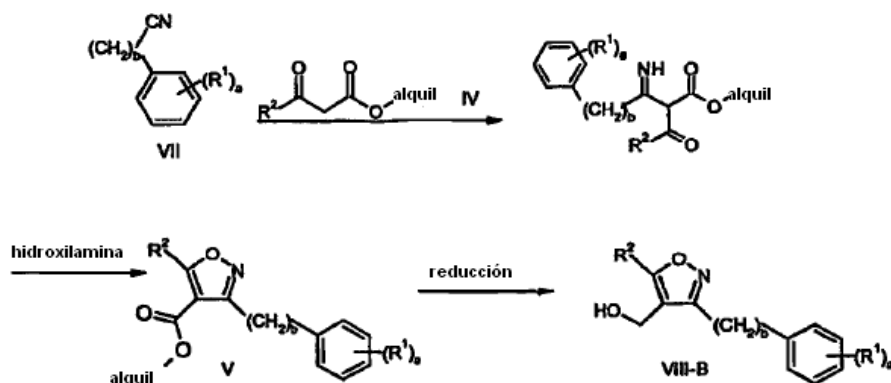
El procedimiento se lleva a cabo convenientemente según el método descrito por Doyle, H.P., et al., *Journal of the Chemical Society* Parte V:5838 (1963). Los ésteres de fórmula (IV) están disponibles comercialmente o pueden prepararse usando técnicas convencionales.

El compuesto de fórmula (III) puede prepararse condensando un compuesto de fórmula (II) con hidroxilamina.



en donde todas las variables son como se definen arriba.

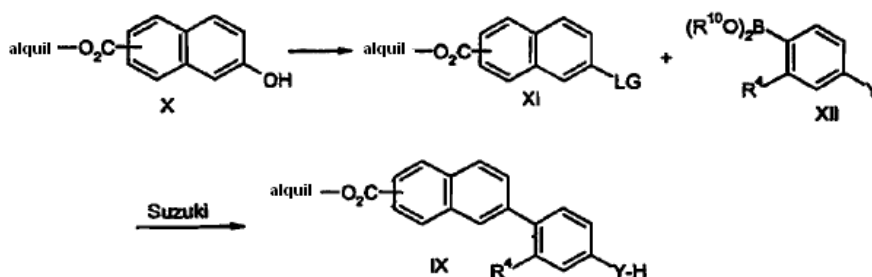
- 5 De forma alternativa, un compuesto de fórmula (V) puede prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (VII) con cloruro de estaño en presencia de un compuesto de fórmula (IV) seguido por tratamiento con hidroxilamina para dar un compuesto de fórmula (V) (Singh, B.; Leshner, G.Y.; *Synthesis*, 829-830 (1978)). El compuesto de fórmula (VII) puede obtenerse comercialmente o mediante procedimientos en la literatura (Guo, H.; Zhang, Y.; *Synth. Commun.*, 30, 1879-1886 (2000)). El compuesto de fórmula (V) puede reducirse entonces con hidruro de diisobutilaluminio para preparar un compuesto de fórmula (VIII-B) de la manera descrita arriba.



- 10 en donde todas las variables son como se definen arriba.

Un compuesto de fórmula (IX) puede prepararse mediante un procedimiento de dos etapas que comprende

- 15 a) hacer reaccionar el fenol de fórmula (X) con un reactivo adecuado para la instalación del grupo saliente para preparar un compuesto de fórmula (XI) y
 b) acoplar el compuesto de fórmula (XI) con un compuesto de fórmula (XII) para preparar un compuesto de fórmula (IX).



en donde LG es cloro, bromo, yodo o triflato;

R¹⁰ es H o alquilo; y

todas las demás variables son como se definen arriba.

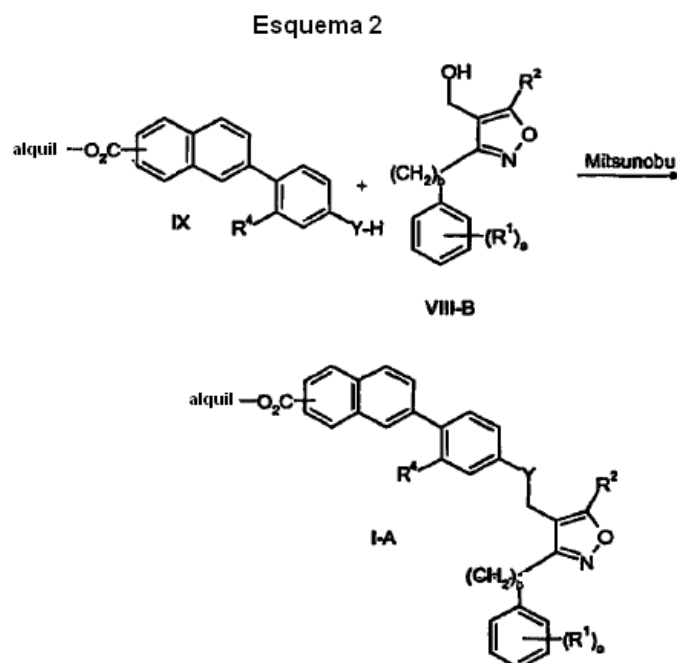
- 20 Los compuestos de fórmula (X) están disponibles comercialmente o pueden prepararse a partir del ácido correspondiente usando técnicas bien conocidas en la técnica.

Los compuestos de fórmula (XI) están disponibles comercialmente o pueden prepararse haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (X) con anhídrido triflico usando técnicas convencionales en la técnica. Por ejemplo, un compuesto de fórmula (XI) puede prepararse haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (X) con anhídrido triflico en

una disolución de diclorometano con una base apropiada tal como piridina. De forma alternativa, un compuesto de fórmula (XI) puede prepararse haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (X) en una suspensión de tolueno con una disolución acuosa de fosfato de potasio tribásico y después haciéndolo reaccionar con anhídrido trifílico.

5 Los compuestos de fórmula (XI) se hacen reaccionar con el ácido borónico o éster de fórmula (XII) para preparar el compuesto de fórmula (IX). Esta reacción puede llevarse a cabo usando las técnicas de acoplamiento de Suzuki convencionales. Por ejemplo, el compuesto de fórmula (IX) puede prepararse acoplando un compuesto de fórmula (XII) con un compuesto de fórmula (XI) en presencia de un complejo de paladio adecuado tal como tetra-kis(trifenilfosfina)paladio (0) y una base tal como carbonato sódico en una mezcla de agua y disolvente etéreo como 1,2-dimetoxietano a una temperatura elevada.

10 En otra realización, los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse según el Esquema 2.



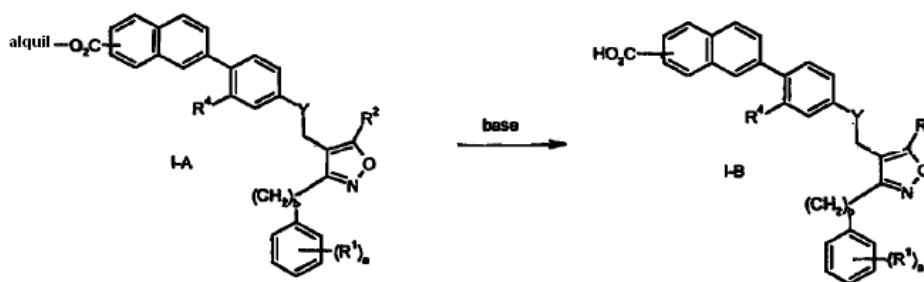
en donde todas las variables son como se definen arriba.

En general, el procedimiento del Esquema 2 comprende las etapas de:

- 15 a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VIII-B) con un compuesto de fórmula (IX) para preparar un compuesto de fórmula (I-A);
- b) convertir opcionalmente el compuesto de fórmula (I-A) en un compuesto diferente de fórmula (I).

20 Más específicamente, el compuesto de fórmula (I-A) se prepara haciendo reaccionar el compuesto de fórmula (IX) con un compuesto de fórmula (VIII-B). Típicamente, la reacción del compuesto de fórmula (IX) con el compuesto de fórmula (VIII-B) se lleva a cabo bajo condiciones de Mitsunobu. Por ejemplo, un compuesto de fórmula (I-A) puede prepararse mediante la reacción de un compuesto de fórmula (IX) con un alcohol de fórmula (VIII-B) en una disolución de diclorometano o tolueno con trifenilfosfina y azodicarboxilato de diisopropilo. Para preparar compuestos de fórmula (IX) en donde Y es NR⁸ sería deseable formar primero el derivado de trifluoroacetamida del compuesto de fórmula (IX) antes de llevar a cabo la reacción de Mitsunobu. El producto de la reacción de Mitsunobu puede convertirse entonces por un experto en la técnica para producir la sustitución deseada (R⁸) en la amina. El compuesto de fórmula (VIII-B) puede prepararse por métodos similares a los descritos arriba.

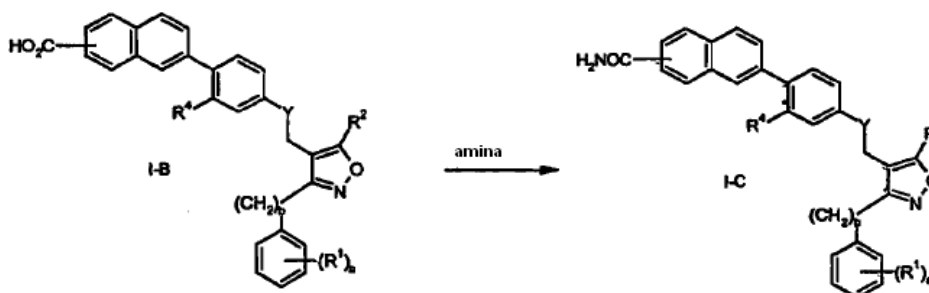
30 Como será evidente para los expertos en la técnica, un compuesto de fórmula (I) se puede convertir en un compuesto diferente de fórmula (I) usando técnicas bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, el compuesto de fórmula (I-A) puede convertirse al ácido correspondiente (es decir, un compuesto de fórmula (I-B)) mediante saponificación con una base adecuada tal como hidróxido sódico en una disolución de agua y tetrahidrofurano y opcionalmente un codisolvente alcohólico que corresponde al éster a saponificar.



En una realización, el procedimiento de la presente invención incluye la etapa adicional de convertir el compuesto de fórmula (I-B) en una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

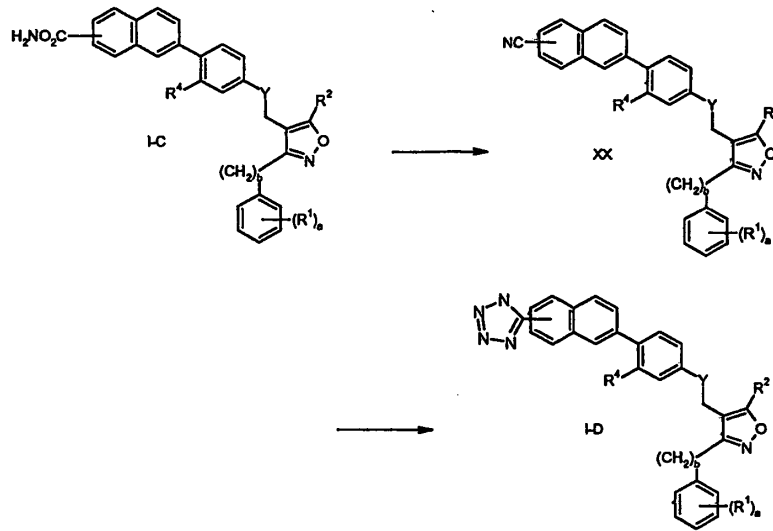
5 En otra realización, el procedimiento comprende la etapa adicional de convertir opcionalmente el compuesto de fórmula (I-B) o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo en un compuesto diferente de fórmula (I) o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 Por ejemplo, un compuesto de fórmula (I-B) puede hacerse reaccionar con una amina para preparar la amida correspondiente (es decir, un compuesto de fórmula (I-C)). Esta reacción puede llevarse a cabo usando técnicas convencionales. Por ejemplo, un compuesto de fórmula (I-B) puede hacerse reaccionar con dicarbonato de di-terc-butilo en acetonitrilo con una base tal como piridina, después carbonato de hidrógeno y amonio, para producir un compuesto de fórmula (I-C). (C. D. Haffner, et al., US2004/0171848).



15 Como otro ejemplo para convertir un compuesto de fórmula (I) a otro compuesto de fórmula (I). Un compuesto de fórmula (I-C) puede deshidratarse para preparar un nitrilo correspondiente (es decir, un compuesto de fórmula (XX)). Esta reacción puede llevarse a cabo usando técnicas de deshidratación de amida convencionales. Por ejemplo, un compuesto de fórmula (I-C) puede deshidratarse con oxiclورو de fósforo en una disolución de cloruro de metileno y una base adecuada tal como trietilamina, para preparar un compuesto de fórmula (XX). (P.G.H. Uiterweerd, et al., *Tetrahedron: Asymmetry*, **14**: 3479-3486 (2003)). Un compuesto de fórmula (XX) puede condensarse con azida sódica para preparar un tetrazol correspondiente (es decir, un compuesto de fórmula (I-D)). Esta reacción puede llevarse a cabo usando técnicas convencionales. Por ejemplo, un compuesto de fórmula (I-D) puede prepararse haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (XX) con azida sódica en presencia de cloruro de amonio en un disolvente aprótico polar tal como N,N-dimetilformamida a una temperatura elevada. (E. Meyer, et al., *Synthesis* **29**: 899-905 (2003)).

20



En base a estos ejemplos y la descripción contenida en este documento, un experto en la técnica puede convertir fácilmente compuestos de fórmula (I) en otros compuestos de fórmula (I), o sales, solvatos o derivados fisiológicamente funcionales de los mismos. Por ejemplo, un compuesto de fórmula (XX) puede convertirse en un compuesto en que se sustituye el CN con un grupo equivalente al ácido según los métodos descritos en J. W. Ellingboe, et al., *J. Med. Chem.*; 36 2485-2493 (1993) y H. N. Weller, et al., *Heterocycles* 36 1027-1038 (1993).

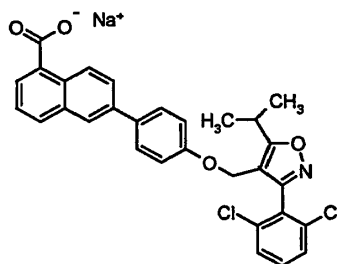
Los siguientes ejemplos se pretenden solo para ilustración y no pretenden limitar el alcance de la invención de ninguna forma, definiéndose la presente invención mediante las reivindicaciones.

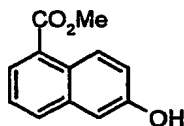
En los ejemplos, los siguientes términos tienen el significado designado:

- g = gramo;
- mg = miligramo;
- mol = mol;
- mmol = milimol;
- M = molar;
- mM = milimolar;
- μM = micromolar;
- N = normal;
- L = litro;
- mL = mililitro;
- μL = microlitro;
- cm = centímetro;
- h = hora;
- min = minuto;
- ta = temperatura ambiente;
- ac. = acuoso;
- Me = metilo;
- Et = etilo;
- EtOAc = acetato de etilo;

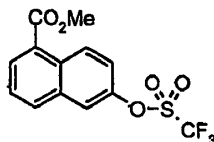
- hex = hexano;
 THF = tetrahidrofurano;
 N₂ = nitrógeno;
 CH₂Cl₂ = diclorometano;
 5 H₂O = agua;
 SiO₂ = dióxido de silicio;
 P₂O₅ = pentóxido de fósforo;
 NaF = fluoruro sódico;
 NaOH = hidróxido sódico;
 10 MgSO₄ = sulfato de magnesio;
 Na₂SO₄ = sulfato sódico;
 DMF = N,N-dimetilformamida;
 DMSO = dimetilsulfóxido;
 P₂O₅ = pentóxido de fósforo;
 15 K₂CO₃ = carbonato de potasio;
 PO₄ = fosfato;
 Na₂CO₃ = carbonato sódico;
 NaHCO₃ = carbonato de hidrógeno y sodio;
 HCl = cloruro de hidrógeno;
 20 Δ = una mezcla de isómeros geométricos;
 RMN = resonancia magnética nuclear;
 H = Hidrógeno;
 Hz = hertzios; OD = densidad óptica;
 HRMS = Espectrometría de Masas de Alta Resolución;
 25 APCI -LCMS = Ionización Química a Presión Atmosférica - Espectrometría de Masas por Cromatografía Líquida;
 ESI-LCMS = Ionización por Electropulverizado - Espectrometría de Masas por Cromatografía Líquida.

Ejemplo 1: Sal sódica de ácido 6-[4-([3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil)oxi]fenil]-1-naftoico

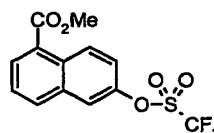


1a) 6-hidroxi-1-naftoato de metilo

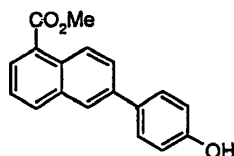
Se añadió ácido metanosulfónico (18 mL, 0,28 moles) a una disolución agitada de ácido 6-hidroxi-1-naftoico (262 g, 1,39 moles) en metanol (1L) bajo N₂ y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 18 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró para dar un sólido púrpura. El sólido se disolvió en acetato de etilo (1 L), se lavó con agua (3 x 300 mL), disolución saturada de bicarbonato sódico (2 x 300 mL), agua (500 mL), salmuera (300 mL) y después se secó sobre sulfato sódico anhidro. La disolución resultante se filtró y se concentró para dar 271 g del producto como un sólido rosa. ¹H RMN (400 MHz, d₆.DMSO): δ 9,94 (s, 1H), 8,58 (m, 1H), 7,93 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,86 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 7,44 (t, J = 8 Hz, 1H), 7,22 - 7,19 (m, 2H), 3,88 (s, 3H). ESI-LCMS *m/z* 203 (M+H)⁺.

1b) 6-[[trifluorometil]sulfonil]oxi]-1-naftoato de metilo

Una suspensión agitada mecánicamente en hielo frío de 6-hidroxi-1-naftoato de metilo (138 g, 0,68 moles) en tolueno (1,3 L) se trató con una disolución de fosfato de potasio tribásico (414 g, 2 moles) en agua (1,6 L). La mezcla resultante se trató en gotas con anhídrido triflico (142 mL, 0,84 moles) a una velocidad para mantener la temperatura de reacción a 25°C. Después de 1 hora se añadió anhídrido triflico (56 mL, 0,33 moles) y se continuó la agitación. Después de 45 minutos se hizo otra adición de anhídrido triflico (30 mL, 0,18 moles). Después de 20 min, la fase de tolueno se separó y se lavó con agua. La fase de tolueno se agitó con una disolución fresca de fosfato de potasio tribásico (106 g, 0,5 moles) en agua (325 mL). Se añadió en gotas anhídrido triflico (40 mL, 0,24 moles). Después de aproximadamente 20 minutos, las fases se separaron. La fase de tolueno se lavó con agua (2 x 400 mL) y se concentró para dar 232 g de un sólido rojo ladrillo (se supone rendimiento teórico). ¹H RMN (DMSO-d₆): δ 8,92 (d, J = 10 Hz, 1H), 8,33 (d, J = 8 Hz, 1H), 8,27 (m, 1H), 8,24 (d, J = 7 Hz, 1H), 7,77 - 7,72 (m, 2H), 3,93 (s, 3H). ESI-LCMS *m/z* 335 (M+H)⁺.

1b) alternativo 6-[[trifluorometil]sulfonil]oxi]-1-naftoato de metilo

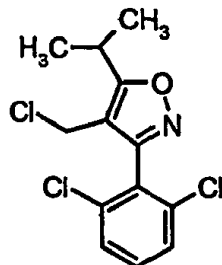
Una suspensión agitada mecánicamente en hielo frío de 6-hidroxi-1-naftoato de metilo en tolueno se trata con una disolución de fosfato de potasio tribásico en agua. La mezcla resultante se trató en gotas con anhídrido triflico a una velocidad para mantener la temperatura de reacción a 25°C. Después de 30 min, se separa la fase de tolueno, se lava con agua y se concentra dándose el producto.

1c) 6-(4-hidroxifenil)-1-naftoato de metilo

Una disolución de 6-[[trifluorometil]sulfonil]oxi]-1-naftoato de metilo (271 g, 0,81 moles) (de múltiples cargas), tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (37,4 g, 0,032 moles), disolución de carbonato sódico 2 M (1,3 L) y ácido 4-hidroxifenilborónico (134 g, 0,97 moles) en etilenglicol-dimetil-éter (1,5 L) se calentó a 80°C durante 1,5 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con acetato de etilo (2 L) y agua (2 L). La fase de acetato de etilo se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró a un residuo semisólido oscuro. El material en bruto se purificó por cristalización a partir de diclorometano-heptano para dar 199 g del producto como un sólido

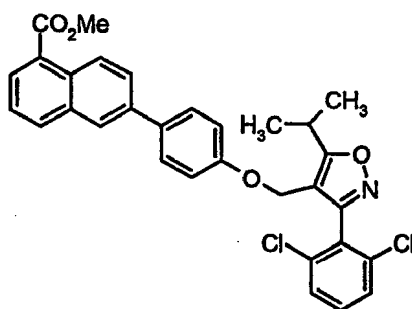
tostado. ^1H RMN (DMSO- d_6): δ 9,64 (s, 1H), 8,76 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,21 (m, 2H), 8,07 (d, J = 7 Hz, 1H), 7,93 (m, 1H), 7,66 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,58 (t, J = 8 Hz, 1H), 6,89 (d, J = 9 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H).

1d) 4-(Clorometil)-3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)isoxazol



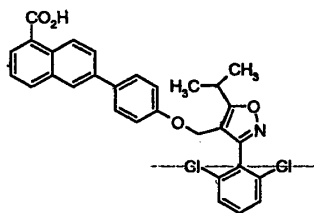
5 Se añadió cloruro de tionilo (87 mL, 1,20 moles) en gotas a una disolución agitada de benzotriazol (143 g, 1,20 moles) en diclorometano (400 mL) a temperatura ambiente. La disolución resultante se añadió en gotas durante 30 min a una disolución agitada de [3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metanol (263 g, 0,92 moles) en diclorometano (700 mL). Se dio una reacción exotérmica muy suave con precipitación de hidrocloreto de benzotriazol. La mezcla se filtró para eliminar el hidrocloreto de benzotriazol. El filtrado se lavó con agua (2 x 800 mL), hidróxido sódico 1N (800 mL) y después se secó sobre sulfato sódico anhidro. La disolución resultante se filtró y se concentró para dar 288 g del producto como un aceite amarillo claro. ^1H RMN (DMSO- d_6): δ 7,66 (m, 2H), 7,61-7,57 (m, 1H), 4,47 (s, 2H), 3,45 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 1,31 (d, J = 7 Hz, 6H). ESI-LCMS m/z 279 (M+H) $^+$.

1e) 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxilato de metilo



15 Se añadió carbonato de cesio (352 g, 1,08 moles) a una disolución agitada mecánicamente de 6-(4-hidroxifenil)-1-naftoato de metilo (199 g, 0,72 moles) en dimetilformamida (1 L) bajo N_2 . La suspensión resultante se calentó a 65°C durante 30 min seguido por adición de 4-(clorometil)-3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)isoxazol (280 g, 0,92 moles) en dimetilformamida (500 mL). La mezcla se calentó a 65°C durante 18 h, se enfrió a temperatura ambiente y se repartió entre acetato de etilo (1 L) y agua (1 L). La fase de acetato de etilo se lavó con agua (2 x 1 L) y se concentró a un jarabe negro espeso. Este jarabe se trituró con hexano (500 mL) y acetato de etilo (300 mL) durante 2 h. La filtración dio 190 g del producto como cristales beis. ^1H RMN (DMSO- d_6): δ 8,77 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,23 - 8,20 (m, 2H), 8,09 (d, J = 7 Hz, 1H), 7,92 (dd, J = 2, 9 Hz, 1H), 7,69 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,63 - 7,51 (m, 4H), 6,91 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,86 (s, 2H), 3,92 (s, 3H), 3,45 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 1,33 (d, J = 7 Hz, 6H). ESI-LCMS m/z 546 (M+H) $^+$.

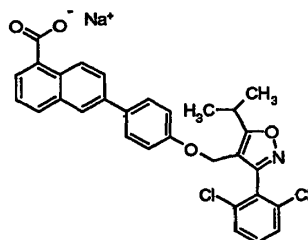
1f) Ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico



25 Se añadieron metanol (380 mL) y disolución de hidróxido sódico 5 N (190 mL) a una disolución agitada de 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxilato de metilo (190 g, 0,35 moles) en tetrahidrofurano (1 L). La disolución resultante se calentó a reflujo durante 1,5 h. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se concentró para eliminar el metanol y el tetrahidrofurano. El residuo se diluyó con agua (500 mL), se aciduló con HCl 6 N y el sobrenadante se decantó del sólido parecido a caramelo. El sólido se cristalizó a partir de

acetato de etilo (1 L) para dar 170 g del producto como cristales color hueso. ^1H RMN (DMSO- d_6): δ 9,02 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,80 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 7 Hz, 1H), 7,68 - 7,61 (m, 5H), 7,53 (dd, J = 7, 9 Hz, 1H), 7,38 (t, J = 8, 15 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,85 (s, 2H), 3,46 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 1,32 (d, J = 7 Hz, 6H). ESI-LCMS m/z 532 (M+H) $^+$.

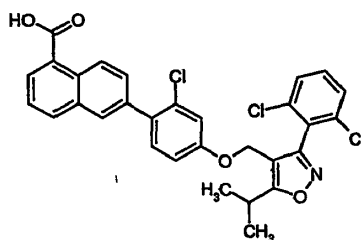
5 **1g) Sal sódica de ácido 6-[4-((3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil)metil)oxi)fenil]-1-naftoico**



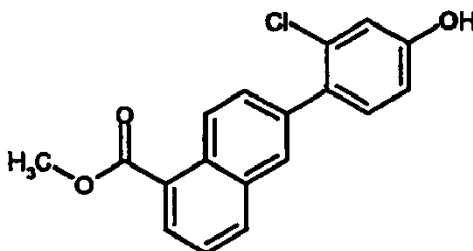
10 Una suspensión agitada mecánicamente de ácido 6-[4-((3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil)metil)oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico (166 g, 0,31 moles) en metanol (500 mL) se trató con hidróxido sódico 1N (327 mL). La disolución resultante se agitó a temperatura ambiente. La mezcla se agitó 1h y el sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con acetona, hexano, y después se secó para dar 151 g del producto como un sólido blanco. ^1H RMN (DMSO- d_6): δ 9,04 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,00 (s, 1H), 7,78 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,72 (d, J = 7 Hz, 1H), 7,66 - 7,61 (m, 5H), 7,53 (dd, J = 7, 9 Hz, 1H), 7,37 (t, J = 8 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,85 (s, 2H), 3,46 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 1,32 (d, J = 7 Hz, 6H). ESI-LCMS m/z 532 (M+H) $^+$.

15 Análisis elemental calculado para $\text{C}_{30}\text{H}_{22}\text{Cl}_2\text{NNaO}_4 \cdot 0,75 \text{H}_2\text{O}$: C, 63,45; H, 4,17; N, 2,47; Cl, 12,49. Encontrado: C, 63,46; H, 4,02; N, 2,50; Cl, 12,32.

Ejemplo 2: Ácido 6-[2-cloro-4-((3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil)metil)oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico



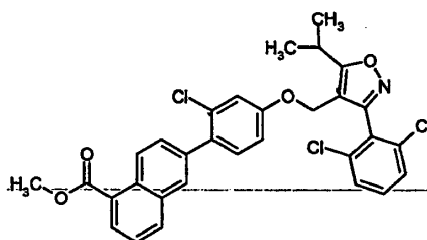
2a) 6-(2-cloro-4-hidroxifenil)-1-naftalencarboxilato de metilo



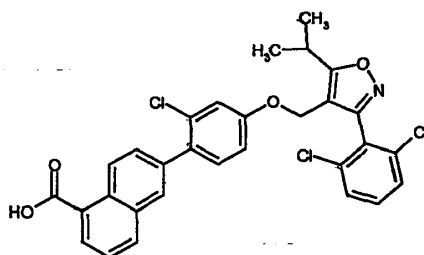
20 Una disolución de 6-((trifluorometil)sulfonil)oxi)-1-naftoato de metilo (0,97 g, 2,91 mmoles), tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (0,13 g, 0,116 mmoles), Na_2CO_3 2 M (13,6 mL) y ácido 2-cloro-4-(((1,1-dimetiletil)dimetilsilil)oxi)fenilborónico (1 g, 3,49 mmoles) en etilenglicol-dimetil-éter (15,5 mL) se calentó a 80°C durante 40 minutos. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua y EtOAc, y se transfirió a un embudo de separación. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró, y el filtrado se concentró para dar el producto en bruto como un aceite. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna rápida sobre SiO_2 con un gradiente de Hex:EtOAc (0 a 20% de EtOAc) para dar 0,74 g (82%) del compuesto del título como un sólido blanco. ^1H RMN (400 MHz, DMSO- d_6): δ 10,06 (s, 1H), 8,75 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 8 Hz, 1H), 8,13 (d, J = 7 Hz, 1H), 8,01 (s, 1H), 7,68 (m, 1H), 7,61 (t, J = 8 Hz, 1H), 7,34 (d, J = 9 Hz, 1H), 6,96 (m, 1H), 6,86 (m, 1H), 3,93 (s, 3H).

25

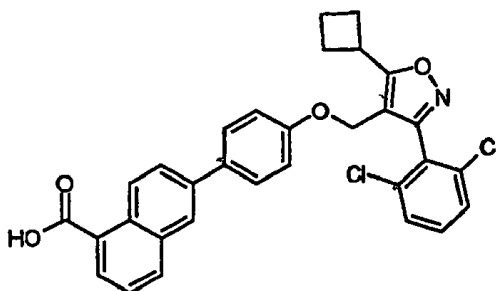
30

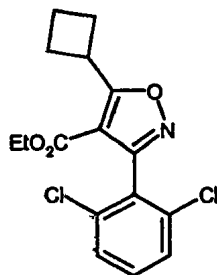
2b) 6-[2-Cloro-4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxilato de metilo

Una mezcla de 6-(2-cloro-4-hidroxifenil)-1-naftalencarboxilato de metilo (0,25 g, 0,799 mmoles), trifenilfosfina unido a polímero (0,27 g, 0,799 mmoles), [3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metanol (0,23 g, 0,799 mmoles) y 10 mL of diclorometano se enfrió a 0°C. Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (0,16 mL, 0,799 mmoles) lentamente a la mezcla de reacción. La mezcla de reacción se agitó durante 10 minutos a la temperatura de arriba y después se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró para dar aceite. El material en bruto se purificó parcialmente por cromatografía en columna rápida sobre gel de sílice usando EtOAc al 20% en hexano para dar 0,36 g del compuesto del título. ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8,75 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,22 (d, J = 8 Hz, 1H), 8,14 (d, J = 7 Hz, 1H), 8,0 (s, 1H), 7,53-7,67 (m, 5H), 7,36 (d, J = 8,6 Hz, 1H), 7,03-7,04 (m, 1H), 6,84-6,87 (m, 1H), 4,92 (s, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,46 (m, 1H), 1,34 (m, 6H).

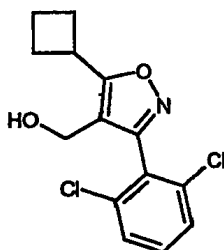
2c) Ácido 6-[2-cloro-4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico

Una disolución de 6-[2-cloro-4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxilato de metilo (0,36 g, 0,62 mmoles), 6,5 mL de THF, 3,5 mL de metanol y 1,3 mL de NaOH 1 N, se agitaron durante 18 h a ta. La mezcla de reacción se calentó a 65°C durante 2 horas. La disolución se dejó enfriar a temperatura ambiente y el pH se ajustó con HCl 1N. La disolución se concentró y el residuo se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó con MgSO₄, se filtró, y el filtrado se concentró para dar el producto en bruto como aceite. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna rápida (gel de sílice, gradiente de hexano a hexanos/acetato de etilo, 1:1) para dar el compuesto del título como una espuma blanca (0,15 g, 67%). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 13,13 (s, 1H), 8,87 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,19-8,14 (m, 2H), 7,97 (m, 1H), 7,64-7,53 (m, 5H), 7,36 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,04, (m, 1H), 6,86-6,84 (m, 1H), 4,92 (s, 2H), 3,48 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 1,33 (d, J = 7 Hz, 6H). HRMS C₃₀H₂₂Cl₃NO₄ *m/z* 566,0693 (M+H)⁺_{Cal}; 566,0687 (M+H)⁺_{Obs}.

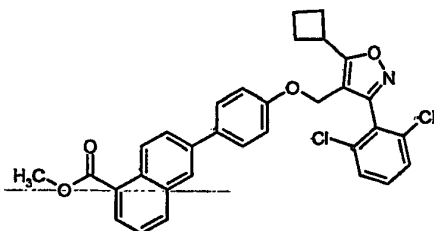
Ejemplo 3: Ácido 6-[4-({[5-ciclobutil-3-(2,6-diclorofenil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico

3a) 5-ciclobutil-3-(2,6-diclorofenil)-4-isoxazolcarboxilato de etilo

A una disolución de 2,6-diclorobenzaldehído oxima (2,2 g, 11,6 mmoles) en N,N-dimetilformamida (7 mL) enfiada en baño de agua, se añadió N-clorosuccinimida sólida (1,5 g, 11,6 mmoles). La disolución se agitó con el matraz en el baño de agua durante aproximadamente 20 minutos y después con el matraz fuera del baño durante aproximadamente 1 hora. La disolución se vertió en agua y después se extrajo dos veces con éter. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron. A una disolución separada de 3-ciclobutil-3-oxopropanoato de etilo (2,4 g, 13,9 mmoles) en tetrahidrofurano (3 mL) a 0°C, se añadió una disolución 3,16 M de etóxido sódico en etanol (4,4 mL, 13,9 mmoles) rápidamente. Se agitó la disolución durante unos minutos. A esa disolución se añadió el cloruro de imidoilo aislado en tetrahidrofurano (5 mL) en gotas. La disolución se agitó a 0°C durante aproximadamente 1h y después se dejó en agitación a temperatura ambiente toda la noche. La disolución se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se concentraron y se purificaron por cromatografía (gel de sílice, elución en gradiente de 0-5% de acetato de etilo en hexanos) para dar un sólido blanco (1,5 g, 38%). ¹H-RMN (DMSO-*d*₆) δ 7,63-7,53 (m, 3H), 4,25 (quinteto, J = 9 Hz, 1H), 4,02 (q, J = 7 Hz, 2H), 2,43 - 2,36 (m, 4H), 2,15-1,89 (m, 2H), 0,94 (t, J = 7 Hz, 3H).

3b) [5-ciclobutil-3-(2,6-diclorofenil)-4-isoxazolil]metanol

A una disolución de 5-ciclobutil-3-(2,6-diclorofenil)-4-isoxazolcarboxilato de etilo (1,5 g, 4,47 mmoles) en tetrahidrofurano (20 mL) a 0°C se añadió una disolución 1,5 M de hidruro de diisobutilaluminio en tolueno (6,3 mL, 9,39 mmoles) lentamente. La disolución se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y después de 4 horas la disolución se enfrió de nuevo a 0°C y se añadió hidruro de diisobutilaluminio 1,5 M en tolueno adicional (6 mL, 9 mmoles). La disolución se dejó en agitación con el matraz en el baño de hielo durante 1,5 h. Algo de sal de Rochelle acuosa se añadió en gotas seguido de acetato de etilo. La mezcla se agitó toda la noche y las fases se separaron. La fase acuosa se extrajo una vez más con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron con sal de Rochelle, después salmuera, se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron al vacío para dar un sólido blanco. (1,3 g, 98%). ¹H-RMN (DMSO-*d*₆) δ 7,61- 7,51 (m, 3H), 4,87 (t, J = 5 Hz, 1H), 4,10 (d, J = 5 Hz, 2H), 3,87 (quinteto, J = 9 Hz, 1H), 2,37 - 2,30 (m, 4H), 2,29 -1,87 (m, 2H).

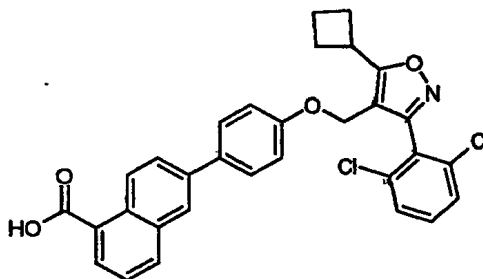
3c) 6-[4-([5-Ciclobutil-3-(2,6-diclorofenil)-4-isoxazolil]metil)oxi]fenil]-1-naftalencarboxilato de metilo

A una disolución de [5-ciclobutil-3-(2,6-diclorofenil)-4-isoxazolil]metanol (150 mg, 0,503 mmoles), 6-(4-hidroxifenil)-1-naftalencarboxilato de metilo (140 mg, 0,503 mmoles), trifetilfosfina (145 mg, 0,553 mmoles) en diclorometano (1,5 mL), se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (0,099 mL, 0,553 mmoles) en gotas. La disolución se calentó en un

reactor de microondas a 100°C durante 10 minutos. El producto se purificó por cromatografía (gel de sílice, elución en gradiente del 0-15% de acetato de etilo en hexanos) para dar un sólido blanco (0,069 g, 25%). ¹H-RMN (DMSO-*d*₆), δ 8,77 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,23 - 8,20 (m, 2H), 8,09 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,93 (d, J = 11 Hz, 1H), 7,70 - 7,51 (m, 6H), 6,90 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,83 (s, 2H), 4,00 (quinteto, J = 9 Hz, 1H), 3,92 (s, 3H), 2,43 - 2,31 (m, 4H), 2,10 - 1,92 (m, 2H). APCI- LCMS *m/z* 558 (M+H)⁺.

5

3d) Ácido 6-[4-({[5-ciclobutil-3-(2,6-diclorofenil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico

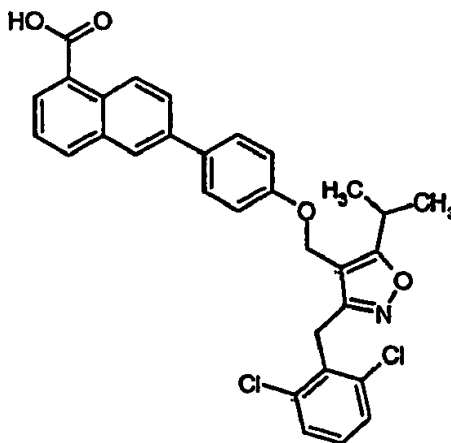


A una disolución de 6-[4-({[5-ciclobutil-3-(2,6-diclorofenil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxilato de metilo (65 mg, 0,116 mmoles) en una mezcla 2:1 de tetrahidrofurano y metanol (1,5 mL), se añadió hidróxido sódico 1N (0,175 mL, 0,175 mmoles). La disolución se calentó en un reactor de microondas a 120°C durante 500 segundos. La disolución se concentró y se añadió agua seguido por 0,175 mL de HCl 1N. La disolución se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron una vez con salmuera y se concentraron. Se añadió éter y la disolución se concentró de nuevo hasta sequedad para dar el compuesto del título como un sólido blanco (56 mg, 89%). ¹H-RMN (DMSO-*d*₆), δ 13,14 (s, 1H), 8,88 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,20 - 8,16 (m, 2H), 8,09 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,90 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,69 - 7,49 (m, 6H), 6,90 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,83 (s, 2H), 4,00 (quinteto, J = 9 Hz, 1H), 2,43 - 2,34 (m, 4H), 2,10 - 1,92 (m, 2H). HRMS C₃₁H₂₃Cl₂NO₄ *m/z* 544,10769 (M+H)⁺_{Cal}; 544,10747 (M+H)⁺_{Obs}.

10

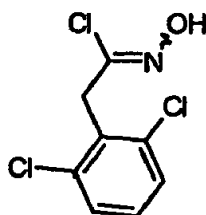
15

Ejemplo 4: Ácido 6-[4-({[3-[(2,6-diclorofenil)metil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico



20

4a) Cloruro de 2-(2,6-diclorofenil)-N-hidroxietanimidoilo

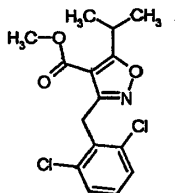


Una disolución de hidróxido sódico (0,672 g, 16,8 mmoles) e hidrocloreto de hidroxilamina (1,17 g, 16,8 mmoles) en agua (11 mL), se añadieron a una disolución de (2,6-diclorofenil)acetaldehído (2,78 g, 14,7 mmoles) en etanol (21 mL). La disolución resultante se calentó en un baño de aceite a 83°C toda la noche. La muestra se concentró y se filtró. El sólido resultante se secó con P₂O₅ en un horno de vacío a 45°C bajo presión reducida para proporcionar la oxima como una mezcla de isómeros (2,21 g de rendimiento, 74%). Una disolución de (2,6-diclorofenil)acetaldehído

25

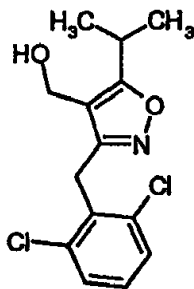
oxima (1,05 g, 4,82 mmoles) en dimetilformamida (3,8 mL) se agitó mientras se añadía N-clorosuccinimida (0,64 g, 4,82 mmoles) y la disolución resultante se dejó en agitación durante una hora. La disolución se vertió en agua y se extrajo con éter. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para dar el compuesto del título (2,60 g, 77%). ¹HRMN (DMSO-*d*₆): δ 11,78 (s, 1H), 7,47 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,33 (t, J = 8 Hz, 1H), 4,08 (s, 2H).

4b) 3-[(2,6-Diclorofenil)metil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolcarboxilato de metilo



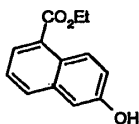
Una disolución de isobutilacetato de metilo (1,93 g, 13,4 mmoles) en tetrahidrofurano (2,7 mL) se agitó a 0°C mientras se añadía metóxido sódico 0,5 N en disolución de metanol (27 mL, 13,5 mmoles). Se añadió una disolución de cloruro de 2-(2,6-diclorofenil)-*N*-hidroxietanimidoilo (2,60 g, 11,18 mmoles) en tetrahidrofurano (8,7 mL) y la disolución se dejó calentar a temperatura ambiente y en agitación toda la noche. La mezcla se concentró, después se repartió entre agua y acetato de etilo. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía (gel de sílice, acetato de etilo del 0%-30% en hexano) para producir el compuesto del título (1,10 g, 30%). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7,48 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,34 (t, J = 8 Hz, 1H), 4,42 (s, 2H), 3,84 (s, 3H), 3,68 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 1,24 (d, J = 7 Hz, 6H).

4c) [3-[(2,6-Diclorofenil)metil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metanol

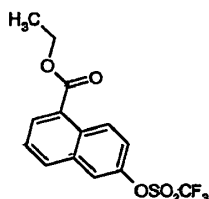


Una disolución de 3-[(2,6-diclorofenil)metil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolcarboxilato de metilo (1,18 g, 3,6 mmoles) (de múltiples cargas) en tetrahidrofurano (10 mL) se agitó a 0°C mientras se añadía una disolución 1,5 M de hidruro de diisobutilaluminio en tolueno (3,7 mL, 5,6 mmoles). La disolución se dejó calentar a temperatura ambiente y se dejó en agitación toda la noche. Se añadió metanol (0,27 mL) seguido por agua (2,7 mL), después hidróxido sódico 2 N (4 mL). La disolución se filtró a través de celite. El filtrado se repartió entre acetato de etilo y agua. Se añadió una disolución acuosa de sal de Rochelle. La fase orgánica se separó, se secó con sulfato de magnesio, se concentró y se purificó por cromatografía (gel de sílice, acetato de etilo al 30% en hexano) para dar el compuesto del título (1,07 g, 99%). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7,46 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,32 (t, J = 8 Hz, 1H), 5,01 (t, J = 5 Hz, 1H), 4,36 (d, J = 5 Hz, 2H), 4,22 (s, 2H), 3,21 (septeto, J = 7 Hz, 1H) 1,20 (d, J = 7 Hz, 6H). ESI-LCMS *m/z* 300 (M+H)⁺.

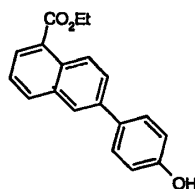
4d) 6-Hidroxi-1-naftalencarboxilato de etilo



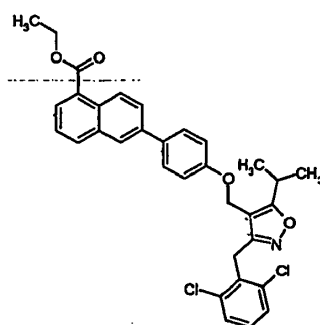
Se añadió lentamente cloruro de tionilo (2,3 mL, 31,9 mmoles) a una disolución de ácido 6-hidroxi-1-naftoico (3 g, 15,9 mmoles) en etanol (140 mL) y se agitó bajo N₂. Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a reflujo en nitrógeno durante 6 días. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró para dar el producto en bruto como un aceite. El aceite se repartió cuidadosamente entre NaHCO₃ al 5% y EtOAc. La fase orgánica se separó y se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y el filtrado se concentró para dar 3 g (87%) del producto como un sólido amorfo rojo. ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 9,92 (s, 1H), 8,57 (m, 1H), 7,92 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,85 (d, J = 7 Hz, 1H), 7,45 (t, J = 8, 1H), 7,20-7,18 (m, 2H), 4,38-4,33 (m, 2H), 1,34 (t, J = 7 Hz, 3H).

4e) 6-[[Trifluorometil]sulfonil]oxi]-1-naftalencarboxilato de etilo

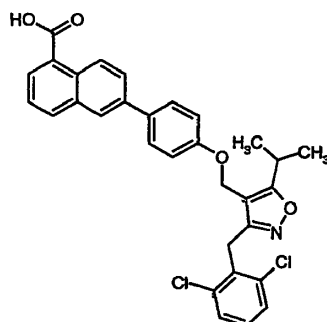
Se disolvió 6-hidroxi-1-naftalencarboxilato de etilo (3 g, 13,9 mmoles) en CH_2Cl_2 (24 mL) y la disolución se enfrió a -5°C con un baño de acetona-hielo. A la disolución fría se añadió piridina (7 mL, 83,2 mmoles) con agitación bajo N_2 . La mezcla de reacción se agitó a -5°C durante varios minutos y se añadió lentamente anhídrido trifílico (2,8 mL, 16,6 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a 0°C durante 1 hr. La mezcla de reacción se apagó con agua y se extrajo con éter. La fase orgánica se separó y se lavó con HCl 1N, seguido por salmuera, se secó con MgSO_4 , se filtró, y el filtrado se concentró. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna rápida sobre SiO_2 con un gradiente de Hex:EtOAc (0 a 50% de EtOAc) para dar 3,9 g (81%) del compuesto del título como cristales blancos. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 8,92 (d, $J = 10$ Hz, 1H), 8,33 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 8,28 (m, 1H), 8,23 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 7,77-7,72 (m, 2H), 4,43-4,38 (m, 2H), 1,36 (t, $J = 7$ Hz, 3H).

4f) 6-(4-Hidroxifenil)-1-naftalencarboxilato de etilo

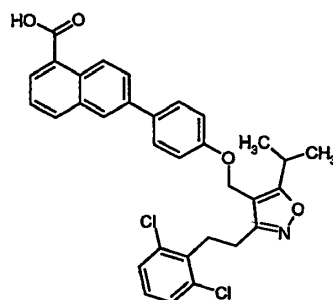
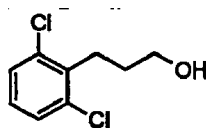
Una disolución de 6-[[trifluorometil]sulfonil]oxi]-1-naftalencarboxilato de etilo (0,3 g, 0,861 mmoles), tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) (0,04 g, 0,0345 mmoles), Na_2CO_3 2 M (4 mL) y ácido 4-hidroxifenilborónico (0,143 g, 1,03 mmoles) en etilenglicol-dimetiléter (5 mL), se calentó a 80°C durante 1,5 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con agua y EtOAc. La fase de EtOAc se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO_4 , se filtró, y el filtrado se concentró para dar el producto en bruto como un aceite. El material en bruto se purificó por cromatografía en columna rápida sobre SiO_2 con un gradiente de Hex:EtOAc (0 a 50% de EtOAc) para dar 0,23 g (92%) del compuesto del título como un aceite. ^1H RMN (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 9,63 (s, 1H), 8,76 (d, $J = 9,0$ Hz, 1H), 8,20 (m, 2H), 8,07 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 7,93 (m, 1H), 7,66 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7,58 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 6,88 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 4,42-4,37 (m, 2H), 1,37 (t, $J = 7$ Hz, 3H).

4g) 6-[4-[[3-[(2,6-Diclorofenil)metil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil]oxi]fenil]-1-naftalencarboxilato de etilo

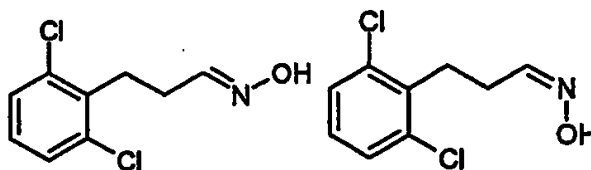
Una disolución de [3-[(2,6-diclorofenil)metil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metanol (0,105 g, 0,35 mmoles), 6-(4-hidroxifenil)-1-naftalencarboxilato de etilo (0,102 g, 0,35 mmoles), trifenilfosfina (0,092 g, 0,35 mmoles) y azodicarboxilato de diisopropilo (0,063 mL, 0,35 mmoles) en tolueno (3,5 mL), se colocó en un tubo de reacción de microondas y se calentó a 80°C durante 500 segundos. La disolución se concentró y se purificó por cromatografía (gel de sílice, hexano a 1:4 acetato de etilo: hexanos) para dar el compuesto del título (0,126 g, 60,9% como 0,2 EtOAc). ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$): δ 8,79 (d, $J = 9$ Hz, 1H), 8,28 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 8,23 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 8,09 (d, $J = 7$ Hz, 1H), 7,98 (dd, $J = 2, 9$ Hz, 1H), 7,81 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 7,61 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 7,46 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,32 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 7,16 (d, $J = 9$ Hz, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,40 (q, $J = 7$ Hz, 2H), 4,29 (s, 2H), 3,34 (septeto, $J = 7$ Hz, sobrelapando H_2O 1H), 1,37 (t, $J = 7$ Hz, 3H), 1,22 (d, $J = 7$ Hz, 6H). ESI-LCMS m/z 574 ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.

4h) Ácido 6-[4-({[3-[(2,6-diclorofenil)metil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico

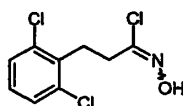
Una disolución de 6-[4-({[3-[(2,6-diclorofenil)metil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxilato de etilo (0,116 g, 0,20 mmoles) en tetrahidrofurano (2 mL) se colocó en un tubo de reacción de microondas. Se añadió etanol (1 mL) seguido por hidróxido sódico 1 N (0,312 mL, 0,31 mmoles). El tubo se selló y se calentó en un reactor de microondas a 100°C durante 500 segundos. Se añadió disolución de hidróxido sódico adicional (0,2 mL, 0,2 mmoles) y la disolución se calentó en un reactor de microondas a 100°C durante otros 500 segundos. La disolución se neutralizó con ácido clorhídrico 1 N y se concentró. El residuo se suspendió en hexanos. El sólido se suspendió en agua y la mezcla se decantó y el sólido se secó para dar el compuesto del título como un sólido blanco (0,112 g, 100% como 0,15 EtOAc). ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 13,14 (s, 1H), 8,91 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,26 (s, 1H), 8,20 (d, J = 8 Hz, 1H), 8,10 (d, J = 7 Hz, 1H), 7,96 (dd, J = 2, 9 Hz, 1H), 7,80 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,58 (m, 1H), 7,46 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,31 (t, J = 8 Hz, 1H), 7,16 (d, J = 9 Hz, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,29 (s, 2H), 3,36 (septeto, J = 7 Hz, sobrelapando H₂O 1H), 1,22 (d, J = 7 Hz, 6H). HRMS C₃₁H₂₅NO₄Cl₂ m/z 546,1239 (M+H)⁺_{Cal}; 546,1226 (M+H)⁺_{Obs}.

Ejemplo 5: Ácido 6-[4-({[3-[(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico**5a) 3-(2,6-Diclorofenil)-1-propanol**

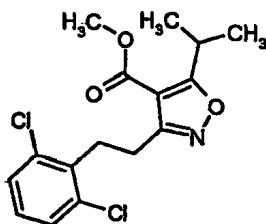
Una disolución de ácido 3-(2,6-diclorofenil)propanoico (5,00 g, 22,8 mmoles) en THF (114 mL) se agitó a temperatura ambiente mientras se añadía trietilamina (3,2 mL, 22,8 mmoles). La disolución se enfrió entonces en un baño de hielo/agua antes de la adición de una disolución 1 M de isopropilcloroformiato en tolueno (22,8 mL, 22,8 mmoles). Después de 30 minutos, la mezcla se filtró en una mezcla de borohidruro sódico (1,13 g, 30 mmoles) en agua (8 mL). La mezcla resultante se agitó en un baño de hielo/agua y se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente. La mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente toda la noche, después se filtró. El filtrado se repartió entre salmuera y acetato de etilo. La fase orgánica se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía (gel de sílice, 3:7 acetato de etilo:hexanos) para proporcionar el compuesto del título (3,85 g, 77% como 0,17 EtOAc). ¹H RMN (d₆-DMSO): δ 7,41 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,22 (t, J = 8 Hz, 1H), 4,57 (t, J = 5 Hz, 1H), 3,48 - 3,43 (m, 2H), 2,88 - 2,84 (m, 2H), 1,65-1,58 (m, 2H).

5b) (1E)-3-(2,6-diclorofenil)propanal oxima, (1Z)-3-(2,6-diclorofenil)propanal oxima

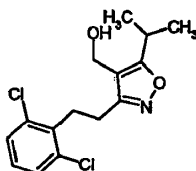
Una disolución de sulfotrióxido de piridina (7,57 g, 47,6 mmoles) en DMSO (48 mL) se añadió a una disolución de trietilamina (6,63 mL, 47,6 mmoles) y 3-(2,6-diclorofenil)-1-propanol (3,25 g, 15,8 mmoles) en diclorometano (48 mL) en un baño de hielo/agua. La disolución se dejó calentar a temperatura ambiente y en agitación durante 3,5 horas antes de repartirse entre salmuera y éter. La fase orgánica se lavó con ácido cítrico acuoso al 10%, y después salmuera, antes de secarse con MgSO_4 , filtrarse y concentrarse para proporcionar el aldehído (2,85 g, 89%). Una disolución de hidróxido sódico (0,728 g, 18,2 mmoles) e hidrocloreuro de hidroxilamina (1,26 g, 18,2 mmoles) en agua (12 mL) se añadió a una disolución de 3-(2,6-diclorofenil)propanal no purificado (2,85 g, 14 mmoles) en etanol (23 mL). La disolución resultante se calentó a 90°C toda la noche. La muestra se concentró y el residuo se repartió entre acetato de etilo y salmuera. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía (gel de sílice, hexano hasta 1:4 acetato de etilo:hexanos) para proporcionar el compuesto del título (1,06 g de rendimiento combinado, 37%). ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$): isómero geométrico de mayor R_f δ 11,47 (s, 1H), 7,43 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,36 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 7,25 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 3,03-2,99 (m, 2H), 2,37-2,32 (m, 2H). Isómero geométrico de menor R_f 10,86 (s, 1H), 7,43 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,25 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 6,74 (t, $J = 5$ Hz, 1H), 3,02-2,98 (m, 2H), 2,51-2,46 (m, sobrelapando DMSO, 2H).

5c) Cloruro de 3-(2,6-diclorofenil)-N-hidroxiopropanimidoilo

Una disolución de 3-(2,6-diclorofenil)propanal oxima (1,05 g, 4,82 mmoles) en dimetilformamida (3,8 mL) se agitó mientras se añadía N-clorosuccinimida (0,64 g, 4,82 mmoles). La disolución resultante se dejó en agitación durante una hora. La disolución se vertió en agua y se extrajo con éter. La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró para dar el compuesto del título (1,05 g, 86%). ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$): δ 11,67 (s, 1H), 7,45 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,28 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 3,17-3,13 (m, 2H), 2,68-2,64 (m, 2H).

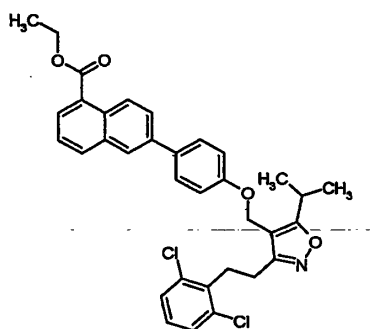
5d) 3-[2-(2,6-Diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolcarboxilato de metilo

Una disolución de isobutirilacetato de metilo (0,662 g, 5,8 mmoles) en tetrahidrofurano (1,16 mL) se agitó a 0°C mientras se añadía metóxido sódico 0,5 N en disolución de metanol (11,6 mL, 5,8 mmoles). Se añadió una disolución de cloruro de 3-(2,6-diclorofenil)-N-hidroxiopropanimidoilo (1,04 g, 4,82 mmoles) en tetrahidrofurano (3,8 mL) y la disolución se dejó calentar a temperatura ambiente y en agitación toda la noche. La mezcla se concentró y el residuo se trituró con agua y se filtró para dar un sólido blanco que se secó en un horno a 45°C con P_2O_5 a presión reducida para dar el compuesto del título (0,926 g, 56%). ^1H RMN ($\text{DMSO}-d_6$): δ 7,43 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 7,25 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 3,73 (s, 3H), 3,67 (septeto, $J = 7$ Hz, 1H), 3,24-3,20 (m, 2H), 3,07-3,03 (m, 2H), 1,23 (d, $J = 7$ Hz, 6H).

5e) [3-[2-(2,6-Diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metanol

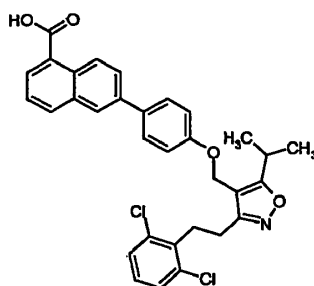
Una disolución de 3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolcarboxilato de metilo (0,900 g, 2,63 mmoles) en THF (7,3 mL) se agitó a 0°C mientras se añadía una disolución 1,5 M de hidruro de diisobutilaluminio en tolueno (3,7 mL, 5,6 mmoles). La disolución se dejó calentar a temperatura ambiente y se dejó en agitación toda la noche. Se añadió hidruro de diisobutilaluminio en tolueno (1,8 mL, 2,7 mmoles) adicional y la disolución se dejó en agitación durante otras 3 horas. Se añadió metanol seguido por una disolución acuosa saturada de sal de Rochelle. La disolución se agitó durante dos horas, después se repartió entre acetato de etilo y salmuera. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio, se concentró y se purificó por cromatografía (gel de sílice, acetato de etilo al 0-60% en hexano) para proporcionar el compuesto del título (0,80 g, 51,6% como 0,25 EtOAc). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 7,45 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,28 (t, J = 8 Hz, 1H), 4,89 (t, J = 5 Hz, 1H), 4,26 (d, J = 5 Hz, 2H), 3,31-3,18 (m, 3H), 2,83-2,79 (m, 2H), 1,21 (d, J = 7 Hz, 6H).

5f) 6-[4-([3-[2-(2,6-Diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil)oxi]fenil]-1-naftalencarboxilato de etilo

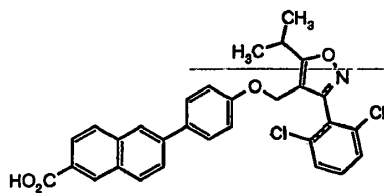
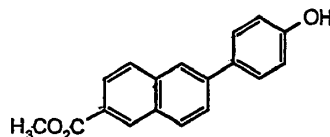


Una disolución de [3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metanol (0,110 g, 0,35 mmoles) (de múltiples cargas), 6-(4-hidroxifenil)-1-naftalencarboxilato de etilo (0,102 g, 0,35 mmoles), trifetilfosfina (0,092 g, 0,35 mmoles) y azodicarboxilato de diisopropilo (0,063 mL, 0,35 mmoles) en tolueno (3,5 mL) se colocó en un tubo de reacción de microondas y se calentó a 80°C durante 1000 segundos. La disolución se concentró y se purificó por cromatografía (gel de sílice, hexano a 1:4 acetato de etilo: hexanos) para proporcionar el compuesto del título (0,115 g, 51,6% como 0,7 EtOAc). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8,79 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,22 (d, J = 8 Hz, 1H), 8,09 (d, J = 7 Hz, 1H), 7,98 (dd, J = 2, 9 Hz, 1H), 7,80 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,60 (m, 1H), 7,42 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,25 (t, J = 8 Hz, 1H), 7,14 (d, J = 8 Hz, 2H), 4,98 (s, 2H), 4,40 (q, J = 7 Hz, 2H), 3,35 (septeto, J = 7 Hz, sobrelapando H₂O, 1H), 3,24-3,20 (m, 2H), 2,89-2,85 (m, 2H), 1,37 (t, J = 7 Hz, 3H), 1,25 (d, J = 7 Hz, 6H). ESI-LCMS *m/z* 588 (M+H)⁺.

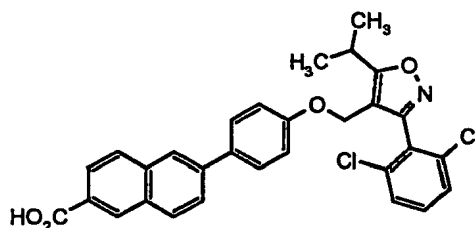
5g) Ácido 6-[4-([3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil)oxi]fenil]-1-naftalencarboxílico



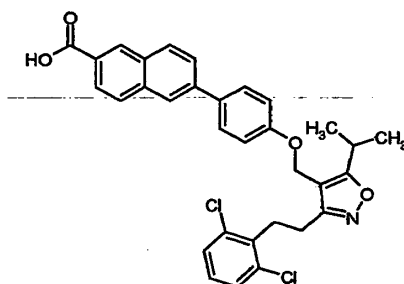
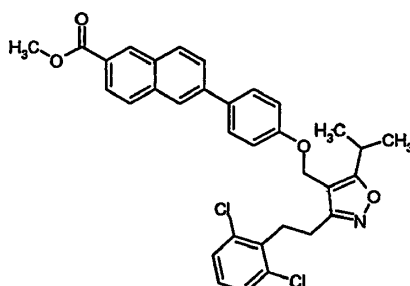
Una disolución de 6-[4-([3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil)oxi]fenil]-1-naftalencarboxilato de etilo (0,110 g, 0,187 mmoles) en tetrahidrofurano (2 mL) se colocó en un tubo de reacción de microondas. Se añadió etanol (1 mL) seguido por hidróxido sodico 1 N (0,36 mL, 0,36 mmoles). El tubo se selló y se calentó en un reactor de microondas a 100°C durante 500 segundos. Se añadió disolución de hidróxido sodico adicional (0,2 mL, 0,2 mmoles) y la disolución se calentó en un reactor de microondas a 100°C durante otros 500 segundos. La disolución se neutralizó y se concentró. El residuo se repartió entre agua y acetato de etilo. La fase orgánica se concentró para dar el compuesto del título como un sólido blanco (0,088 g, 83,8%). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 13,14 (s, 1H), 8,91 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,27 (d, J = 1 Hz, 1H), 8,20 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,96 (dd, J = 2, 9 Hz, 2H), 7,80 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,58 (m, 1H), 7,43 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,26 (m, 1H), 7,15 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,98 (s, 2H), 3,35 (septeto, J = 7 Hz, sobrelapando H₂O, 1H), 3,25-3,20 (m, 2H), 2,89 - 2,85 (m, 2H), 1,25 (d, J = 7 Hz, 6H). HRMS C₃₂H₂₇NO₄Cl₂ *m/z* 560,1395 (M+H)⁺_{cal}; 560,1409 (M+H)⁺_{obs}.

Ejemplo 6: Ácido 6-(4-([3-(2,6-diclorofenil)-5-isopropilisoxazol-4-il]metoxi)fenil)-2-naftoico**6a) 6-(4-Hidroxifenil)-2-naftoato de metilo**

5 A una disolución de 6-bromo-2-naftoato de metilo (150 mg, 0,57 mmoles), 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenol (150 mg, 0,68 mmoles) y Na₂CO₃ 2,0 M (1,10 mL, ac) en dimetoxietano (5 mL), se añadió [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (14 mg, 0,02 mmoles) y la mezcla se agitó a 70°C durante 20 min. La mezcla se diluyó con 25 mL de EtOAc, después se filtró a través de un tapón de celite y gel de sílice. El filtrado se lavó con H₂O, después con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, después se concentró y se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (40 g de gel de sílice eluyendo con EtOAc al 0-50% en hexanos durante 45 minutos) para dar 6-(4-hidroxifenil)-2-naftoato de metilo como un sólido beis (55 mg, 35%).¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 9,67 (s, 1H), 8,60 (s, 1H), 8,17 - 8,13 (m, 2H), 8,02 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,87 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,67 (d, J = 8 Hz, 2H), 6,89 (d, J = 8 Hz, 2H), 3,89 (s, 3H). ESI-LCMS *m/z* 279 (M+H)⁺.

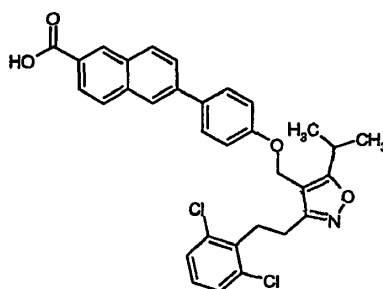
6b) Ácido 6-(4-([3-(2,6-diclorofenil)-5-isopropilisoxazol-4-il]metoxi)fenil)-2-naftoico

15 A una disolución de 6-(4-hidroxifenil)-2-naftoato de metilo (55 mg, 0,20 mmoles) en DMF (1,0 mL) se añadió K₂CO₃ (68 mg, 0,49 mmoles) y 4-(clorometil)-3-(2,6-diclorofenil)-5-isopropilisoxazol (91 mg, 0,30 mmoles), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 12 hr. Se añadió 4-(clorometil)-3-(2,6-diclorofenil)-5-isopropilisoxazol adicional (50 mg, 0,16 mmoles) y K₂CO₃ (68 mg, 0,49 mmoles) en DMF (0,5 mL) y la mezcla se agitó a 70°C durante 3 hr. La disolución se diluyó con 50 mL de EtOAc, después se lavó con tres partes de 25 mL de H₂O seguido por 25 mL de salmuera, después se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, se concentró y se purificó por cromatografía en gel de sílice (12 g de gel de sílice eluyendo con EtOAc al 0-40% en hexanos durante 45 minutos.) Las fracciones de producto se combinaron y se concentraron. A este residuo se añadió EtOH (2,5 mL), THF (1,0 mL), H₂O (0,5 mL) y NaOH (35 mg, 0,84 mmoles) y la disolución se agitó a 60°C durante 12 hr. La disolución se concentró a \square 1/3 de volumen, después se añadió en gotas a HCl 1,0 N (6 mL, ac). Los sólidos resultantes se recogieron por filtración por succión, se lavaron con H₂O y se secaron para dar el compuesto del título como un sólido color hueso (42 mg, 94%).¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 13,0 (s ancho, 1H), 8,57 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,12 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,01 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,85 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,69 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,62 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,59 - 7,51 (m, 1H), 6,91 (d, J = 8 Hz, 2H), 4,87 (s, 2 H), 3,45 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 1,33 (d, J = 7 Hz, 6H). ESI-LCMS *m/z* 532 (M+H)⁺.

Ejemplo 7: 6-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxilato de metilo**7a) 6-[4-({[3-[2-(2,6-Diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxilato de metilo**

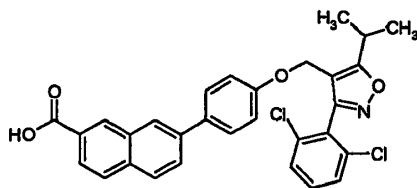
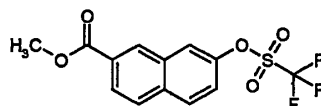
5 Una disolución de [3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metanol (0,085 g, 0,27 mmoles), 6-(4-hidroxifenil)-2-naftalencarboxilato de metilo (0,075 g, 0,27 mmoles), trifetilfosfina (0,071 g, 0,27 mmoles) y azodicarboxilato de diisopropilo (0,049 mL, 0,27 mmoles) en tolueno (2,7 mL) se colocó en un tubo de reacción de microondas y se calentó a 80°C durante 1000 segundos. La disolución se concentró y el residuo se disolvió en una disolución de acetato de etilo y metanol, se filtró y se concentró. El filtrado se purificó por cromatografía (gel de sílice, hexano a 3:7 acetato de etilo:hexanos) para proporcionar el compuesto del título (0,038 g, 24,5%). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8,62 (s, 1H), 8,25 (s, 1H), 8,18 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,06 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,97 (dd, J = 1, 9 Hz, 1H), 7,92 (dd, J = 2, 9 Hz, 1H), 7,81 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,42 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,25 (t, J = 8 Hz, 1H), 7,14 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,99 (s, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,35 (septeto, J = 7 Hz, sobrelapando H₂O 1H), 3,24-3,20 (m, 2H), 2,89-2,85 (m, 2H), 1,25 (d, J = 7 Hz, 6H). ESI-LCMS *m/z* 574 (M+H)⁺.

10

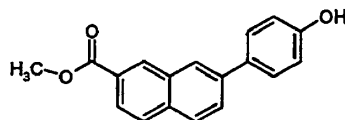
7b) Ácido 6-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxílico

15 Una disolución de 6-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxilato de metilo (0,035 g, 0,061 mmoles) en tetrahidrofurano (0,6 mL) se colocó en un tubo de reacción de microondas. Se añadió metanol (0,3 mL) seguido por hidróxido sódico 1N (0,092 mL, 0,092 mmoles). El tubo se selló y se calentó en un reactor de microondas a 100°C durante 600 segundos. La disolución se neutralizó y se concentró. Se añadió agua y la mezcla se filtró. El sólido resultante se secó en un horno de vacío a 45°C con P₂O₅ para dar el compuesto del título (0,027 g, 77,1%). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 13,03 (s, 1H), 8,58 (s, 1H), 8,24 (s, 1H), 8,15 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,03 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,96 (dd, J = 2, 9 Hz, 1H), 7,90 (dd, J = 2, 9 Hz, 1H), 7,81 (d, J = 9, 2H), 7,42 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,25 (m, 1H), 7,14 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,98 (s, 2H), 3,35 (septeto, J = 7 Hz, sobrelapando H₂O, 1H), 3,24-3,20 (m, 2H), 2,89-2,85 (m, 2H), 1,25 (d, J = 7 Hz, 6H). HRMS C₃₂H₂₇NO₄Cl₂ *m/z* 560,1395 (M+H)⁺_{cal}; 560,1409 (M+H)⁺_{obs}.

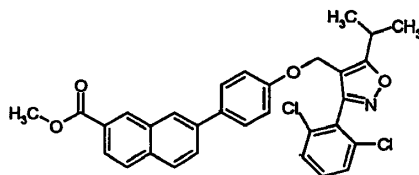
20

Ejemplo 8: Ácido 7-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxílico**8a) 7-[[Trifluorometil]sulfonil]oxi]-2-naftalencarboxilato de metilo**

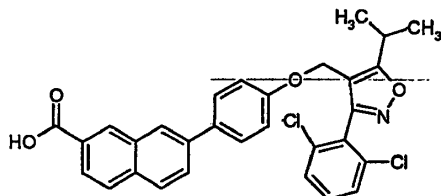
Una disolución de 7-hidroxi-2-naftalencarboxilato de metilo (0,53 g, 2,62 mmoles) en cloruro de metileno (6,6 mL) se agitó en un baño de hielo/acetona mientras se añadía piridina (1,25 mL) seguido por anhídrido trifluorometanosulfónico (0,53 mL, 3,12 mmoles). La disolución se dejó agitar durante 1,5 horas antes de repartirse entre agua y éter. La fase orgánica se lavó con HCl 1,0 N, después con salmuera, antes de secarse con sulfato de magnesio, filtrarse y concentrarse. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (hexano a 3:17 acetato de etilo:hexanos) para proporcionar el compuesto del título (0,40 g, 46%). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8,79 (s, 1H), 8,41 (d, J = 2 Hz, 1H), 8,23 (d, J = 7 Hz, 1H), 8,16 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,09-8,06 (m, 1H), 7,78-7,75 (m, 1H), 3,91 (s, 3H).

8b) 7-(4-Hidroxifenil)-2-naftalencarboxilato de metilo

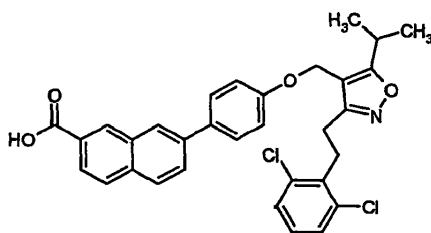
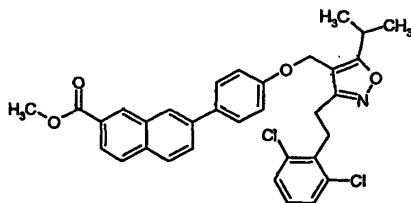
Una disolución de 7-[[trifluorometil]sulfonil]oxi]-2-naftalencarboxilato de metilo (100 mg, 0,3 mmoles), tetrakis(trifenil)fosfina paladio (14 mg, 0,012 mmoles) y 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenol (79 mg, 0,36 mmoles) en una mezcla de dimetoxietano (1,6 mL) y Na₂CO₃ acuoso 2 M (1,3 mL), se calentó en un baño de aceite a 70°C durante una hora. La disolución se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El material en bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice (hexano a 3:7 acetato de etilo:hexanos) para proporcionar el compuesto del título (0,085 g, 95,5% como 0,20 acetato de etilo). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 9,64 (s, 1H), 8,65 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,03-7,99 (m, 2H), 7,93-7,90 (m, 2H), 7,66 (d, J = 9 Hz, 2H), 6,88 (d, J = 9 Hz, 2H), 3,90 (s, 3H).

8c) 7-[4-({[3-(2,6-Diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxilato de metilo

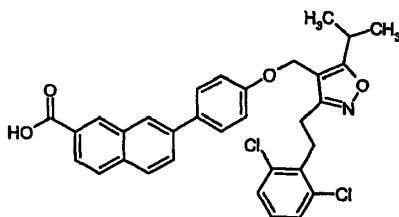
Una disolución de 4-(clorometil)-3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)isoxazol (0,12 g, 0,36 mmoles), 7-(4-hidroxifenil)-2-naftalencarboxilato de metilo (0,084 g, 0,30 mmoles) y carbonato de cesio (137 mg, 0,42 mmoles) en dimetilformamida (0,73 mL), se calentó a 65°C durante 3 horas. La disolución se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El filtrado se purificó por cromatografía (gel de sílice, hexano a 3:7 acetato de etilo: hexanos) para proporcionar el compuesto del título (0,130 g, 68,4% como 1,0 acetato de etilo). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8,66 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,04-8,00 (m, 2H), 7,94-7,90 (m, 2H), 7,69 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,62 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,55-7,51 (m, 1H), 6,91 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,87 (s, 2H), 3,90 (s, 3H), 3,46 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 1,33 (d, J = 7 Hz, 6H). ESI-LCMS *m/z* 546 (M+H)⁺.

8d) Ácido 7-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxílico

Una disolución de 7-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxilato de metilo (0,126 g, 0,2 mmoles) en tetrahidrofurano (2,0 mL) se colocó en un tubo de reacción de microondas. Se añadió metanol (1,0 mL) seguido por hidróxido sódico 1 N (0,3 mL, 0,3 mmoles). El tubo se selló y se calentó en un reactor de microondas a 100°C durante 600 segundos. La disolución se neutralizó y se concentró. Se añadió agua y la mezcla se filtró. El sólido resultante se secó en un horno de vacío a 45°C con P₂O₅ para dar el compuesto del título (0,082 g, 73,9% como 0,30 tetrahidrofurano) ¹H RMN (DMSO-d₆): δ 13,3-12,6 (s ancho, aproximadamente 1H), 8,61 (s, 1H), 8,29 (s, 1H), 8,02-7,87 (m, 4H), 7,68 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,62 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,54 (dd, J = 7, 9 Hz, 1H), 6,91 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,86 (s, 2H), 3,44 (septeto, J = 7 Hz, sobrelapando H₂O, 1H), 1,33 (d, J = 7 Hz, 6H). HRMS C₃₀H₂₃NO₄Cl₂ m/z 532,1082 (M+H)⁺ Cal: 532,1087 (M+H)⁺ Obs.

Ejemplo 9: Ácido 7-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxílico**9a) 7-[4-({[3-[2-(2,6-Diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxilato de metilo**

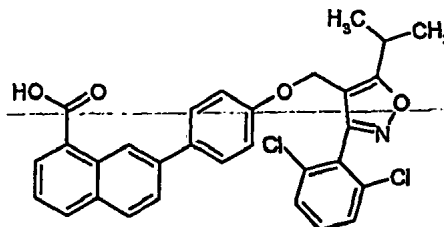
Una disolución de [3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metanol (0,050 g, 0,16 mmoles), 7-(4-hidroxifenil)-2-naftalencarboxilato de metilo (0,045 g, 0,16 mmoles), trifetilfosfina (0,042 g, 0,16 mmoles) y azodicarboxilato de diisopropilo (0,043 mL, 0,16 mmoles) en diclorometano (1,6 mL), se colocó en un tubo de reacción de microondas y se calentó a 80°C durante 20 minutos. La disolución se concentró y el residuo se purificó por cromatografía (gel de sílice, hexano a 3:7 acetato de etilo: hexanos) para proporcionar el compuesto del título (0,059 g, 64%). ¹H RMN (DMSO-d₆): δ 8,68 (s, 1H), 8,40 (s, 1H), 8,07-7,93 (m, 4H), 7,80 (d, J = 7 Hz, 2H), 7,42 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,28-7,24 (m, 1H), 7,14 (d, J = 7 Hz, 2H), 4,99 (s, 2H), 3,91 (s, 3H), 3,32-3,20 (2m, sobrelapando H₂O, total 3H), 2,89-2,85 (m, 2H), 1,25 (d, J = 7 Hz, 6H). ESI-LCMS m/z 574 (M+H)⁺.

9b) Ácido 7-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxílico

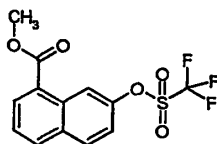
Una disolución de 7-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxilato de metilo (0,057 g, 0,1 mmoles) en tetrahidrofurano (1,0 mL) se colocó en un tubo de reacción de microondas. Se añadió metanol (0,5 mL) seguido por hidróxido sódico 1 N (0,15 mL, 0,15 mmoles). El tubo se selló y se calentó en un

reactor de microondas a 100°C durante 600 segundos. La disolución se neutralizó y se concentró. Se añadió agua y la mezcla se filtró. El sólido resultante se secó en un horno de vacío a 45°C con P₂O₅ para dar el compuesto del título (0,048 g, 76% como ·0,20 tetrahidrofurano) ¹H RMN (DMSO-d₆) δ 13,4-12,8 (s ancho, aproximadamente 1H), 8,59 (s, 1H), 8,31 (s, 1H), 8,01 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,94-7,90 (m, 3H), 7,79 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,43 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,28-7,24 (m, 1H), 7,14 (d, J = 8 Hz, 2H), 4,98 (s, 2H), 3,39-3,21 (2m, sobrelapando H₂O, total 3H), 2,89-2,85 (m, 2H), 1,25 (d, J = 7 Hz, 6H). HRMS C₃₂H₂₇NO₄Cl₂ *m/z* 560,1395 (M+H)⁺_{Cal}; 560,1409 (M+H)⁺_{Obs}.

Ejemplo 10: Ácido 7-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico

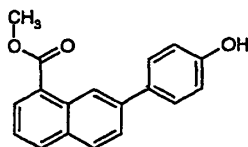


10a) 7-[(Trifluorometil)sulfonyl]oxi]-1-naftalencarboxilato de metilo



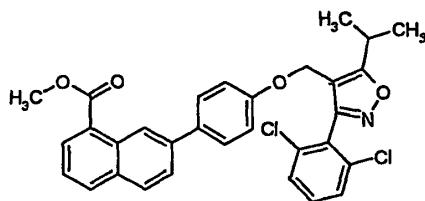
Una disolución de 7-hidroxi-1-naftalencarboxilato de metilo (1,68 g, 8,34 mmoles) en cloruro de metileno (21 mL) se agitó en un baño de hielo/acetona mientras se añadía piridina (4,1 mL) seguido por anhídrido trifluorometanosulfónico (1,7 mL, 10 mmoles). La disolución se dejó agitar durante 1,5 horas antes de repartirse entre agua y éter. La fase orgánica se lavó con HCl 1,0 N, después con salmuera, antes de secarse con sulfato de magnesio, filtrarse y concentrarse. El residuo se purificó por cromatografía en gel de sílice (hexano a 1:9 acetato de etilo:hexanos) para proporcionar el compuesto del título (2,60 g, 93,2%). ¹H RMN (DMSO-d₆): δ 8,92 (d, J = 2 Hz, 1H), 8,35-8,32 (m, 2H), 8,28 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,76-7,72 (m, 2H), 3,93 (s, 3H).

10b) 7-(4-Hidroxifenil)-1-naftalencarboxilato de metilo



Una disolución de 7-[(trifluorometil)sulfonyl]oxi]-1-naftalencarboxilato de metilo (1,00 mg, 3,0 mmoles), tetrakis(trifluorometil)fosfina paladio (142 mg, 0,12 mmoles) y 4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenol (799 mg, 3,6 mmoles) en una mezcla de 1,2-dimetoxietano (16 mL) y Na₂CO₃ acuoso 2M (13 mL) se calentó en un baño de aceite a 70°C durante 90 minutos. La disolución se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El material en bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice, hexano a 3:7 acetato de etilo:hexanos, para proporcionar el compuesto del título (0,648 g, 77,7%). ¹H RMN (DMSO-d₆): δ 9,65 (s, 1H), 8,94 (s, 1H), 8,18-8,13 (m, 2H), 8,05 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,85 (dd, J = 2, 9 Hz; 1H), 7,60 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,56-7,53 (m, 1H), 6,90 (d, J = 9 Hz, 2H), 3,93 (s, 3H).

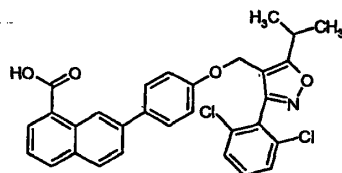
10c) 7-[4-({[3-(2,6-Diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxilato de metilo



Una disolución de 4-(clorometil)-3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)isoxazol (0,11 g, 0,36 mmoles), 7-(4-hidroxifenil)-1-naftalencarboxilato de metilo (0,083 g, 0,30 mmoles) y carbonato de cesio (137 mg, 0,42 mmoles) en dimetilforma-

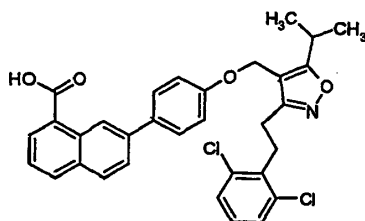
mida (0,73 mL) se calentó a 65°C durante 3 horas. La disolución se repartió entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El filtrado se purificó por cromatografía (gel de sílice, hexano a 1:4 acetato de etilo:hexanos) para proporcionar el compuesto del título (0,123 g, 75%). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8,93 (s, 1H), 8,19-8,14 (m, 2H), 8,07 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,84 (dd, J = 2, 9 Hz; 1H), 7,63 (d, J = 8 Hz, 4H), 7,59-7,52 (m, 2H), 6,93 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,87 (s, 2H), 3,93 (s, 3H), 3,46 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 1,33 (d, J = 7 Hz, 6H). ESI LCMS *m/z* 546 (M+H)⁺.

10d) Ácido 7-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico

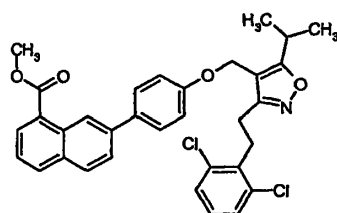


Una disolución de 7-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxilato de metilo (0,122 g, 0,22 mmoles) en THF (2,2 mL) se colocó en un tubo de reacción de microondas. Se añadió metanol (1,1 mL) seguido por hidróxido sódico 1N (0,33 mL, 0,33 mmoles). El tubo se selló y se calentó en un reactor de microondas a 100°C durante 600 segundos. La disolución se neutralizó y se concentró. Se añadió agua y la mezcla se filtró. El sólido resultante se secó en un horno de vacío a 45°C con P₂O₅ para dar el compuesto del título (0,095 g, 77% como 0,4 tetrahidrofurano) ¹HRMN (DMSO-*d*₆): δ 13,3-13,1 (s ancho, aproximadamente 1H), 9,05 (s, 1H), 8,14-8,12 (m, 2H), 8,04 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,82-7,79 (m, 1H), 7,63-7,52 (m, 6H), 6,92 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,87 (s, 2H), 3,46 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 1,33 (d, J = 7 Hz, 6H). HRMS C₃₀H₂₃NO₄Cl₂ *m/z* 532,1082 (M+H)⁺_{Cal}; 532,1074 (M+H)⁺_{Obs}.

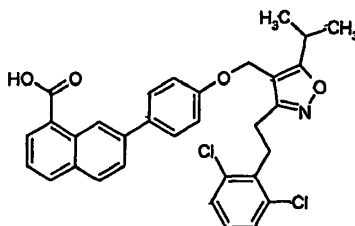
Ejemplo 11: Ácido 7-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico



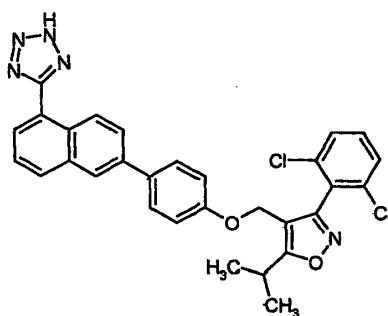
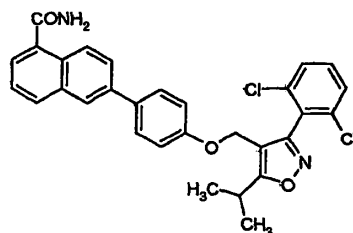
11a) 7-[4-({[3-[2-[2,6-Diclorofenil]etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxilato de metilo



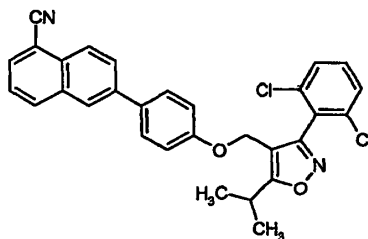
Una disolución de [3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metanol (0,050 g, 0,16 mmoles), 7-(4-hidroxifenil)-1-naftalencarboxilato de metilo (0,045 g, 0,16 mmoles), trifetilfosfina (0,042 g, 0,16 mmoles) y azodicarboxilato de diisopropilo (0,043 mL, 0,16 mmoles) en diclorometano (1,6 mL) se colocó en un tubo de reacción de microondas y se calentó a 80°C durante 20 minutos. La disolución se concentró y el residuo se purificó por cromatografía (gel de sílice, hexano a 3:7 acetato de etilo: hexanos) para proporcionar el compuesto del título (0,053 g, 58%). ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8,99 (s, 1H), 8,20 (d, J = 8 Hz, 1H), 8,16 (d, J = 7 Hz, 1H), 8,09 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,90 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,74 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,59-7,56 (m, 1H), 7,41 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,26-7,24 (m, 1H), 7,16 (d, J = 8 Hz, 2H), 4,99 (s, 2H), 3,94 (s, 3H), 3,39-3,20 (2m, sobrelapando H₂O, total 3H), 2,89-2,85 (m, 2H), 1,25 (d, J = 7 Hz, 6H). ESI-LCMS *m/z* 574 (M+H)⁺.

11b) Ácido 7-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico

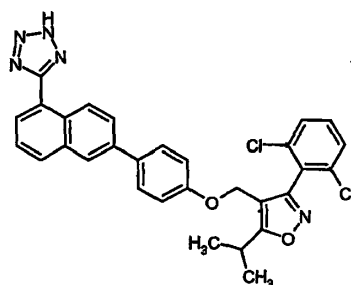
Una disolución de 7-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxilato de metilo (0,052 g, 0,09 mmoles) en tetrahidrofurano (0,9 mL), se colocó en un tubo de reacción de microondas. Se añadió metanol (0,45 mL) seguido por hidróxido sódico 1N (0,14 mL, 0,14 mmoles). El tubo se selló y se calentó en un reactor de microondas a 100°C durante 600 segundos. La disolución se neutralizó y se concentró. Se añadió agua y la mezcla se filtró. El sólido resultante se secó en un horno de vacío a 45°C con P₂O₅ para dar el compuesto del título (0,039 g, 74% como 0,40 tetrahidrofurano) ¹H RMN (DMSO-d₆): δ 13,13 (s, 1H), 9,10 (s, 1H), 8,17-8,15 (m, 1H), 8,07 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,87 (dd, J = 2, 9 Hz; 1H), 7,71 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,57-7,54 (m, 1H), 7,41 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,28-7,24 (m, J = 8 Hz, 2H), 7,16 (dd, J = 9, 2 Hz, 2H), 4,98 (s, 2H), 3,36 (septeto, sobrelapando H₂O, 1H), 3,23-3,20 (m, 2H), 2,89-2,85 (m, 2H), 1,25 (d, J = 7 Hz, 6H). HRMS C₃₂H₂₇NO₄Cl₂ m/z 560,1395 (M+H)⁺_{cal}; 560,1375 (M+H)⁺_{Obs}.

Ejemplo 12: 5-{6-[4-({[3-(2,6-Diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalenil}-1H-tetrazol**12a) 6-[4-({[3-(2,6-Diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxamida**

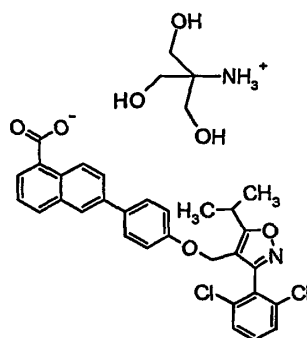
Se combinaron ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico (97 mg, 0,180 mmoles), dicarbonato de di-*tert*-butilo (60 mg, 0,273 mmoles) y piridina (0,021 mL, 0,273 mmoles) en acetonitrilo anhidro (5 mL). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante media hora. Después se añadió carbonato de hidrógeno y amonio (25 mg, 0,273 mmoles) a la mezcla y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. El disolvente se retiró entonces en un rotavapor y el residuo en bruto se disolvió en acetato de etilo. La disolución orgánica se lavó entonces con agua tres veces, seguido por bicarbonato sódico saturado, y después salmuera. El extracto orgánico en bruto se secó entonces sobre sulfato de magnesio, se filtró, y después se evaporó hasta sequedad. El residuo se lavó con hexanos varias veces para eliminar el dicarbonato de di-*tert*-butilo residual, y los sólidos se eliminaron por medio de filtración para dar el compuesto del título como un sólido blanco (94 mg, 98%) ¹H RMN (CDCl₃): δ 8,48 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,88-8,00 (m, 2H), 7,75 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,58 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,36-7,51 (m, 3H), 7,25 (d, J = 9 Hz, 1H), 6,88 (d, J = 9 Hz, 2H), 6,42 (s ancho, 1H), 6,13 (s ancho, 1H), 4,81 (s, 2H), 3,26-3,44 (m, 1H), 1,37-1,47 (m, 6H). ESI-LCMS m/z 531 (M+H)⁺.

12b) 6-[4-({[3-(2,6-Diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarbonitrilo

A una disolución de 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxamida (94 mg, 0,18 mmoles) y trietilamina (0,111 mL, 0,80 mmoles) en cloruro de metileno (2 mL) a temperatura ambiente bajo nitrógeno, se añadió oxicloruro de fósforo (0,068 mL, 0,71 mmoles). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante cuatro horas, en cuyo momento se añadió un equivalente adicional de oxicloruro de fósforo (0,027 mL). Después se añadió carbonato de hidrógeno y amonio (25 mg, 0,273 mmoles) a la mezcla y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 48 horas. El disolvente se retiró entonces en un rotavapor y el residuo en bruto se disolvió en acetato de etilo. La disolución orgánica se lavó entonces con agua tres veces, seguido por bicarbonato sódico saturado, y después salmuera. El extracto orgánico en bruto se secó entonces sobre sulfato de magnesio, se filtró, y después se evaporó hasta sequedad para dar el compuesto del título (89 mg, 98%). ¹H RMN (CDCl₃): δ 8,24 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,13 (d, J = 9 Hz, 1H), 8,02 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,82-7,90 (m, 2H), 7,61-7,50 (m, 3H), 7,31-7,52 (m, 3H), 6,88 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,78 (s, 2H), 3,28-3,42 (m, 1H), 1,34-1,53 (m, 6H). ESI-LCMS m/z 513 (M+H)⁺.

12c) 5-{6-[4-({[3-(2,6-Diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalenil}-1H-tetrazol

A una disolución de 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarbonitrilo (75 mg, 0,14 mmoles) en dimetilformamida (1 mL) se añadió cloruro de amonio (8,5 mg, 0,15 mmoles) y azida sódica (10 mg, 0,15 mmoles). La mezcla se calentó entonces a 100°C durante 18 horas. La reacción se diluyó con agua (5 mL) y se aciduló con HCl 2N (2 mL). Se formó un precipitado blanco en la acidulación que se eliminó por medio de filtración y se secó a alto vacío durante cuatro horas. El residuo en bruto se disolvió entonces en metanol (5 mL) y se purificó por medio de cromatografía líquida a alta presión preparativa (columna C18 Luna eluida con un gradiente de 10-100% de acetonitrilo en agua con modificador de ácido fórmico al 0,1%) para dar el compuesto del título como un sólido blanco (62 mg, 78%) ¹H RMN (CDCl₃): δ 8,54 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,91-8,02 (m, 2H), 7,75 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,73 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,54 (dd, J = 2, 8 Hz, 1H), 7,60-7,48 (m, 3H), 7,38 (d, J = 9 Hz, 2H), 7,34-7,27 (m, 1H), 6,88 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,78 (s, 2H), 3,42-3,28 (m, 1H), 1,53-1,34 (m, 6H). ESI-LCMS m/z 556 (M+H)⁺.

Ejemplo 13: Sal de tris(hidroximetil)aminometano de ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftoico

Una suspensión agitada de ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico (11,34 g, 0,021 moles) en una disolución de 95:5 acetonitrilo: agua (300 mL), se trató con tris(hidroximetil)aminometano (2,54 g, 0,021 moles). La disolución resultante se agitó toda la noche a 70°C. La mezcla se enfrió a 5°C y se mantuvo durante 30 minutos. El producto se recogió por filtración, se lavó con una disolución de 95:5 acetonitrilo:agua y se secó en un horno de vacío a 50°C con un flujo lento de nitrógeno para dar una sal cristalina de trometamina (13,11 g, 94,34%) del producto. ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 9,02 (d, J = 10 Hz, 1H), 8,10 (d, J = 2 Hz, 1H), 7,94 (d, J = 9 Hz, 1H), 7,88 (d, J = 7 Hz, 1H), 7,76 (dd, J = 2, 9 Hz, 1H), 7,70 - 7,64 (m, 4H), 7,56 (dd, J = 7, 9 Hz, 1H), 7,47 (t, J = 8 Hz, 1H), 6,92 (d, J = 9 Hz, 2H), 4,89 (s, 2H), 3,53 (s, 6H), 3,48 (septeto, J = 7 Hz, 1H), 1,35 (d, J = 7 Hz, 6H).

10 **Ejemplo biológico 14: Ensayo de Unión del Cofactor FXR**

Determinación de la interacción cofactor péptido mediada por un ligando para cuantificar la unión del ligando al receptor nuclear Receptor X Farnasoide (FXR). El método mide la capacidad de ligandos putativos para modular la interacción entre el dominio de unión ligando FXR humano expresado por bacterias purificado (LBD) y un péptido biotinilado sintético en los residuos 676-700 del coactivador-1 del receptor de esteroides (SRC-1) (dominio-2 que contiene LXXLL donde L es el aminoácido leucina y X indica cualquier otro aminoácido (LCD2), 676-700). La secuencia del péptido SRC-1 usada es como se publica en Iannone, M.A. et al, Cytometry 44:326-337 (2001), donde el N-terminal se biotiniló (B) y el C-terminal se amidató. La detección del complejo asociado se midió mediante fluorescencia resuelta con el tiempo (TRF). El LBD purificado de FXR se marcó con biotina, después se mezcló con cantidades estequiométricas de estreptavidina marcada con alofococianina (APC) (Molecular Probes). El péptido biotinilado se mezcló entonces con un ½ de cantidad estequiométrica de estreptavidina marcada con europio (Wallac Inc). Cada una se bloqueó entonces con un exceso de 5 veces de biotina y se dejó equilibrar durante 15 minutos. Se mezclaron cantidades equimolares de receptor y péptido y se dejaron equilibrar durante al menos 30 min antes de la adición de concentraciones o variables o constantes de la muestra para la que se va a determinar la afinidad. Tras alcanzar el equilibrio, se cuantificó la señal fluorescente resuelta en el tiempo usando un lector de placa fluorescente. La afinidad del compuesto de ensayo se estimó a partir de una representación de la fluorescencia frente a la concentración del compuesto de ensayo añadido.

Un nivel basal de FXR: se observa la formación de péptido en ausencia de ligando añadido. Los ligandos que promueven la formación del complejo inducen un aumento dependiente de la concentración en la señal fluorescente resuelta en el tiempo. Compuestos que enlazan igualmente bien tanto a FXR no/des-complejado como a FXR:se esperaría que el complejo de péptido no diera cambio en la señal, mientras que se esperaría que los ligandos que enlazan preferentemente al receptor no/des-complejado indujeran una *disminución* dependiente de la concentración en la señal observada.

MÉTODOS Y MATERIALES

Preparación de Avance: Dominio de Unión Ligando Receptor X Farnasoide Humano

El Dominio de Unión de Ligando FXR Humano (FXR LBD) se expresó en la cepa de E. coli BL21 (DE3) como una proteína de fusión marcada con polihistidina amino-terminal. La expresión estuvo bajo el control de un promotor T7 inducible por isopropil-β-D-tiogalactopiranosido (IPTG). El ADN que codifica esta proteína recombinante se subclonó en el vector de expresión pRSET-A (Invitrogen). La secuencia de codificación de FXR LBD humano se derivó del número de acceso de GenBank U 68233 (aminoácidos 237 a 472).

Se cultivaron cargas de fermentación de diez litros en medio Rico en PO₄ con 0,1 mg/mL de Ampicilina a 25°C durante 12 horas, se enfrió a 9°C y se mantuvo a esa temperatura durante 36 horas a una densidad de OD₆₀₀ = 14. A esta densidad celular, se añadió IPTG 0,25 mM, y la inducción continuó durante 24 horas a 9°C, hasta una DO₆₀₀ = 16 final. Las células se cosecharon por centrifugado (20 minutos, 3500 x gravedad, 4°C), y las suspensiones celulares concentradas se almacenaron en solución salina tamponada con fosfato (PBS) a -8°C.

Purificación de Dominio de Unión Ligando Receptor

De forma rutinaria, se suspendieron de nuevo 30-40 g de pasta celular (equivalente a 2-3 litros de la carga de fermentación) en 200-250 mL de solución salina tamponada con Tris (TBS), pH 7,2 (Tris-Hidroximetilaminometano (Tris) 25 mM, NaCl 150 mM). Las células se lisaron pasándolas 3 veces a través de un Prensa Francesa y los residuos celulares se retiraron por centrifugación (30 minutos, 20.000 x gravedad, 4°C). El sobrenadante clarificado se filtró a través de pre-filtros gruesos, y se añadió TBS, pH 7,2, imidazol 500 mM, para obtener una concentración final de imidazol de 50 mM. Este lisato se cargó en una columna (6 x 8 cm) rellena con resina para quelación de Sefarosa-[Ni⁺⁺ cargado] (Pharmacia) y se pre-equilibró con TBS, pH 7,2/imidazol 50 mM. Después de lavar para obtener un valor de referencia de absorbancia con tampón de equilibrado, la columna se lavó con un volumen de columna de TBS a pH 7,2 que contenía imidazol 90 mM. Se eluyó el FXR LBD directamente con imidazol 365 mM. Las fracciones de la columna se agruparon y se dializaron con TBS, pH 7,2, que contenía EDTA 0,5 mM y DTT 5 mM. La muestra de proteína dializada se concentró usando Centri-prep 10K (Amicon) y se sometió a exclusión por tamaño, usando una columna (3 x 90 cm) rellena con resina Sefarosa S-75 (Pharmacia) pre-equilibrada con TBS, pH 7,2, que contenía ácido etilendiaminotetraacético 0,5 mM (EDTA) y ditiotreitól 5 mM (DTT).

Biotinilación de FXR

Se desaló/intercambió con tampón el FXR LBD purificado usando columnas de filtración de gel PD-10 en PBS [Na₂PO₄ 100 mM, pH 7,2, NaCl 150 mM]. La concentración de FXR LBD fue aproximadamente 20-50 μM en PBS y se añade un exceso molar de cinco veces de NHS-LC-Biotina (Pierce) en un volumen mínimo de PBS. Esta disolución se incubó con una mezcla suave durante 30 minutos a temperatura ambiente. La reacción de modificación de biotinilación se detuvo mediante la adición de un exceso molar de 2000 veces de Tris-HCl, pH 8. El FXR LBD modificado se dializó con 4 cambios de tampón, cada uno de al menos 50 volúmenes, PBS que contenía DTT 5 mM, EDTA 2 mM y sacarosa al 2%. El FXR LBD biotinilado se sometió entonces a un análisis espectrométrico de masas para revelar el grado de modificación por el reactivo de biotinilación. En general, aproximadamente el 95% de la proteína tenía al menos una única posición de biotinilación; y la extensión total de la biotinilación siguió una distribución normal de posiciones múltiples, que variaron entre uno y nueve.

Preparación del Complejo Estreptavidina-(Quelato de Europio)-SRC1: Estreptavidina-(APC)-FXR

Se incubó el péptido SRC-1 (LDC2, 676-700) biotinilado y una cantidad correspondiente a ½ de la estequiométrica de quelato de europio conjugado con estreptavidina en tampón de ensayo que contenía DTT 10 mM durante al menos 30 minutos. Se incubó una segunda disolución de cantidades estequiométricas de FXR biotinilado y APC conjugado con estreptavidina en tampón de ensayo que contenía DTT 10 mM durante al menos 30 minutos. Cada disolución se bloqueó después con un exceso molar de 5 veces de biotina y se dejó equilibrarse durante al menos 30 min. El receptor marcado y el cofactor se mezclaron y de nuevo se dejó equilibrarse durante al menos 30 min, se añadió a la placa del compuesto, utilizando por ejemplo, un Titertek Multidrop 384.

Materiales:

Tampón de Ensayo: ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico (MOPS) 50 mM, pH 7,5, NaF 50 mM, 3-[(3-colamidopropil)-demetilamonio]-1-propanosulfonato (CHAPS) 50 μM, 0,1 mg/ml de la Fracción 5 de albúmina de suero bovino libre de ácidos grasos (BSA). El tampón de ensayo contenía también ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 1 mM para la marcha de muestras conforme al protocolo indicado por †. Se añade DTT sólido al tampón de ensayo a una concentración final de 10 mM justo antes de usar en el ensayo. BSA, libre de ácidos grasos

DTT

NaF

Estreptavidina marcada con europio: (Wallac CR28-1 00)

Placas de 384 pocillos

Métodos:**Detalles Experimentales**

Los compuestos de ensayo y los controles se diluyeron en serie en DMSO y se añadió 0,1 μL o 0,5 μL a la concentración deseada a la placa de 384 pocillos.

A cada pocillo a ensayar, se añadió una disolución preparada previamente de FXR-APC y SRC1 marcado con europio a 0,1 μL de compuesto de ensayo y controles para un volumen de ensayo final de 10 μL (indicado por †) o se añadió a 0,5 μL de compuesto de ensayo y controles para un volumen de ensayo final de 25 μL (indicado por ◇).

Las placas se incubaron durante al menos 1 hora a temperatura ambiente y la señal fluorescente se determinó en un Lector de Fluorescencia en un modo resuelto en el tiempo utilizando, por ejemplo, un generador de imágenes Wallac Viewlux o un contador Wallac Victor Multilabel.

Reducción de Datos:

Para cada concentración de compuesto de ensayo, los resultados de cada pocillo de ensayo se expresó como % de control, C, calculado según un eq. 1.

$$C = 100 * \frac{F_{\text{muestra}} - F_{\text{basal}}}{F_{\text{std}} - F_{\text{basal}}} \quad (1)$$

en donde F_{muestra} es la señal observada en un pocillo de muestra concreto, F_{total} es la señal observada en presencia de inhibidor de control y F_{basal} es la tasa de conteo observada en ausencia de ligando. Los valores usados para F_{std} y F_{basal} son promedios de los correspondientes pocillos de control incluidos en cada placa. Los resultados se presen-

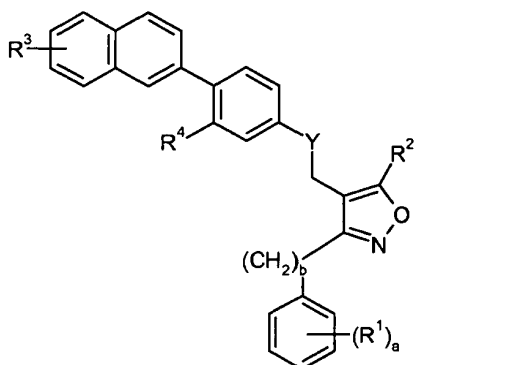
tan en la Tabla 1 de debajo. En la **Tabla 1**, + indica un pEC₅₀ de 5 - 5,99; ++ indica un pEC₅₀ 6 - 6,99 y +++ indica un pEC₅₀ mayor que 7.

Tabla 1

Ejemplo	Actividad (pEC ₅₀)	Ejemplo	Actividad (pEC ₅₀)
1†	+++	8†	++
1◇	+++	9†	++
2†	++	10†	+
3†	++	11†	+
4◇	++	12a◇	+
5†	++	12b◇	+
5◇	+++	12c◇	++
6†	++		
7†	++		

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



en donde:

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

cada R^1 es igual o diferente y se selecciona independientemente del grupo que consiste en halo, alquilo, alqueno, $-O-CF_3$, $-OR^6$, $-S(O)_fR^6$, $-NR^6R^7$, $-R^5OR^6$, $-R^5S(O)_fR^6$, $-R^5NR^6R^7$ y ciano;

b es 0, 1, 2 o 3;

10 R^2 se selecciona del grupo que consiste en alquilo, alqueno, cicloalquilo C_{3-6} opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo, haloalquilo, alqueno, $-OH$, $-O$ -alquilo, $-NH_2$, $-NH$ (alquilo), $-N$ (alquilo) $_2$, $-CN$, $-NO_2$ y $-N_3$, cicloalqueno C_{3-6} opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo, haloalquilo, alqueno, $-OH$, $-O$ -alquilo, $-NH_2$, $-NH$ (alquilo), $-N$ (alquilo) $_2$, $-CN$, $-NO_2$ y $-N_3$, $-R^5OR^6$, $-R^5NR^6R^7$ y ciano;

Y es $-O-$, $-S-$ o $-N(R^8)-$;

15 R^3 es $-C(O)_2H$, $-C(O)NR^aR^b$, $-C(O)_2R^c$ o nitrilo, tetrazol, 1,2,4-oxadiazolidin-3,5-dionas, 3(2*H*)-isoxazolonas, 1,2,4-oxadiazol-5(2*H*)-onas, 3*H*-1,2,3,5-oxatiadiazol 2-óxidos;

R^4 es H, halo, alquilo o haloalquilo;

cada R^5 es igual o diferente y se selecciona independientemente del grupo que consiste en alqueno y alqueno;

20 cada R^6 y R^7 son iguales o diferentes y cada uno se selecciona independientemente del grupo que consiste en H, alquilo, alqueno, cicloalquilo C_{3-6} opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo, haloalquilo, alqueno, $-OH$, $-O$ -alquilo, $-NH_2$, $-NH$ (alquilo), $-N$ (alquilo) $_2$, $-CN$, $-NO_2$ y $-N_3$, cicloalqueno C_{3-6} opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en halo, alquilo, haloalquilo, alqueno, $-OH$, $-O$ -alquilo, $-NH_2$, $-NH$ (alquilo), $-N$ (alquilo) $_2$, $-CN$, $-NO_2$ y $-N_3$; y

f es 0, 1 o 2;

25 cada R^8 es igual o diferente y es independientemente H o alquilo;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto según la reivindicación 1 en donde a es 1 o 2.

3. El compuesto según la reivindicación 1 en donde cada R^1 es igual o diferente y se selecciona independientemente del grupo que consiste en halo o $-OR^6$.

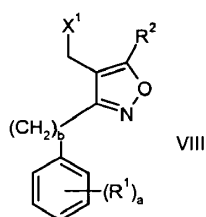
30 4. El compuesto según la reivindicación 1 en donde cada R^1 es igual o diferente y es independientemente halo.

5. El compuesto según la reivindicación 1 en donde b es 0 o 2.

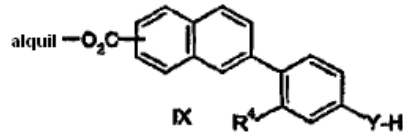
6. El compuesto según la reivindicación 1 en donde b es 0.

7. El compuesto según la reivindicación 1 donde R^2 se selecciona del grupo que consiste en alquilo o cicloalquilo C_{3-6} .

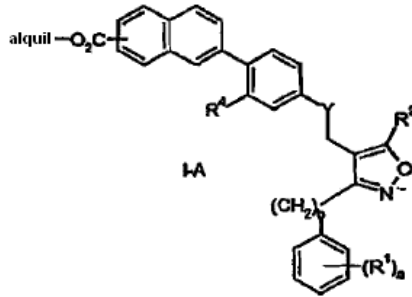
8. El compuesto según la reivindicación 1 donde Y es -O-.
9. El compuesto según la reivindicación 1 donde R³ es un ácido.
10. El compuesto según la reivindicación 1 donde R⁴ es H.
11. Un compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:
- 5 Sal sódica de ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftoico;
 Ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;
 Ácido 6-[2-cloro-4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;
 Ácido 6-[4-({[5-ciclobutil-3-(2,6-diclorofenil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;
 Ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)metil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;
- 10 Ácido 6-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;
 Ácido 6-(4-{{[3-(2,6-diclorofenil)-5-isopropilisoxazol-4-il]metoxi}fenil}-2-naftoico;
 6-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxilato de metilo;
 Ácido 7-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxílico;
 Ácido 7-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-2-naftalencarboxílico;
- 15 Ácido 7-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;
 Ácido 7-[4-({[3-[2-(2,6-diclorofenil)etil]-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico;
 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxamida;
 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarbonitrilo;
 5-{6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalenil}-1H-tetrazol; y
- 20 Sal de tris(hidroxi)metilaminometano de ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftoico.
12. Un compuesto según la reivindicación 1 en donde el compuesto es ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.
- 25 13. Un compuesto según la reivindicación 1 en donde el compuesto es sal de tris(hidroxi)metilaminometano de ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftoico.
14. Una composición que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13.
15. La composición según la reivindicación 14, que además comprende un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 30 16. Una composición según la reivindicación 14 que comprende el ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftalencarboxílico o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.
17. Una composición según la reivindicación 14 que comprende la sal de tris(hidroxi)metilaminometano de ácido 6-[4-({[3-(2,6-diclorofenil)-5-(1-metiletil)-4-isoxazolil]metil}oxi)fenil]-1-naftoico.
18. Un procedimiento para preparar un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13, que comprende las etapas de:
- 35 a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VIII)



con un compuesto de fórmula (IX)



para preparar un compuesto de fórmula (I-A);

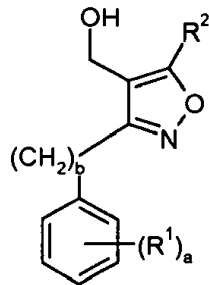


5 y

b) convertir opcionalmente el compuesto de fórmula (I-A) en un compuesto diferente de fórmula (I).

19. Un procedimiento para preparar un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13, que comprende las etapas de:

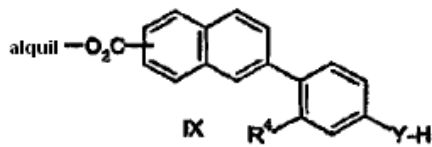
a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (VIII-B)



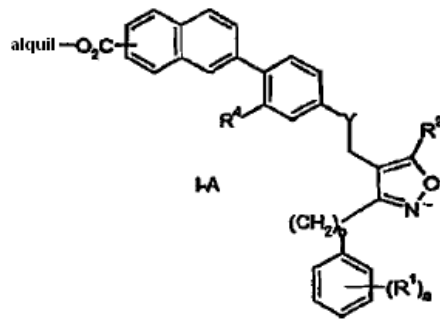
VIII-B

10

con un compuesto de fórmula (IX)



para preparar un compuesto de fórmula (I-A);



y

b) convertir opcionalmente el compuesto de fórmula (I-A) en un compuesto diferente de fórmula (I).

- 20.** Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para el uso en terapia.
- 5 **21.** Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para el uso en el tratamiento de una afección mediada por FXR en un sujeto que lo necesita.
- 22.** Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para el uso en el tratamiento de enfermedad del hígado colestático en un sujeto que lo necesita.
- 10 **23.** Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para el uso en el tratamiento de fibrosis de un órgano en un sujeto que lo necesita.
- 24.** Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para el uso en el tratamiento de fibrosis hepática en un sujeto que lo necesita.
- 25.** El uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de una afección mediada por FXR en un sujeto.
- 15 **26.** El uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad de hígado colestático en un sujeto.
- 27.** El uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de fibrosis de un órgano en un sujeto.
- 20 **28.** El uso de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-13 para la preparación de un medicamento para el tratamiento de fibrosis hepática en un sujeto.