

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 394 618**

51 Int. Cl.:

C07C 255/46 (2006.01)

A61K 31/275 (2006.01)

A61P 19/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.11.2005 E 05808098 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la solicitud europea: **15.08.2007 EP 1817276**

54 Título: **Inhibidores de catepsina cisteína proteasa**

30 Prioridad:

23.11.2004 US 630405 P

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

04.02.2013

73 Titular/es:

**MERCK CANADA INC. (100.0%)
16711 Trans-Canada Highway
Kirkland, QC H9H 3L1, CA**

72 Inventor/es:

**GAUTHIER, JACQUES, YVES;
LI, CHUN, SING y
MELLON, CHRISTOPHE**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 394 618 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

Inhibidores de catepsina cisteína proteasa

Antecedentes de la invención

5 Una diversidad de trastornos en seres humanos y otros mamíferos implican o están asociados con reabsorción de hueso anómala. Tales trastornos incluyen, pero sin limitación, osteoporosis, osteoporosis inducida por glucocorticoides, enfermedad de Paget, renovación de hueso aumentada de forma anómala, enfermedad periodontal, pérdida de dientes, fracturas de hueso, artritis reumatoide, osteoartritis, osteólisis periprostética, osteogénesis imperfecta, hipercalcemia de tumor maligno o mieloma múltiple. Uno de los más habituales de estos trastornos es osteoporosis, que en su manifestación más frecuente se produce en mujeres postmenopáusicas. La

10 osteoporosis es una enfermedad esquelética sistémica caracterizada por una masa ósea baja y deterioro de microarquitectura del tejido óseo, con un aumento posterior de la fragilidad ósea y susceptibilidad a fractura. Las fracturas osteoporóticas son una causa importante de morbilidad y mortalidad en la población anciana. Hasta 50% de las mujeres y un tercio de los hombres experimentarán una fractura osteoporótica. Un gran segmento de la población mayor ya tiene densidad ósea baja y un alto riesgo de fracturas. Existe una necesidad significativa para

15 tanto prevenir como tratar osteoporosis y otras afecciones asociadas con la reabsorción de hueso. Debido a que la osteoporosis, así como otros trastornos asociados con pérdida de hueso, son generalmente afecciones crónicas, se cree que la terapia apropiada típicamente requerirá tratamiento crónico.

Las catepsinas pertenecen a la superfamilia de papaína de cisteína proteasas. Estas proteasas actúan en la degradación fisiológica normal así como la patológica de tejido conectivo. Las catepsinas desempeñan un papel

20 importante en la degradación de proteínas intracelulares y renovación y remodelación. Hasta la fecha, se han identificado y secuenciado varias catepsinas a partir de varias fuentes. Se ha descubierto que los derivados de N-cianometil amida son inhibidores de cisteína que son relevantes para patologías dependientes de catepsina (documento CA2439415, Prasit y col, 12 de septiembre de 2002 y documento US 2003 0232863, Bayly y col, 18 de diciembre de 2003). Las catepsinas se encuentran de forma natural en una amplia diversidad de tejidos. Por

25 ejemplo, se ha clonado catepsina B, C, F, H, L, K, O, S, V, W, y Z. La catepsina L está implicada en proteólisis de lisosomas normal así como varias patologías, incluyendo, pero sin limitación, metástasis de melanomas. La catepsina S está implicada en enfermedad de Alzheimer, aterosclerosis, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y ciertos trastornos autoinmunes, incluyendo, pero sin limitación, diabetes de aparición juvenil, esclerosis múltiple, pénfigo vulgar, enfermedad de Graves, miastenia grave, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y tiroiditis de Hashimoto; trastornos alérgicos, incluyendo, pero sin limitación, asma; y respuestas inmunes halógenas, incluyendo, pero sin limitación, rechazo de trasplantes de órganos o injertos tisulares. Se encuentran niveles de

30 Catepsina B aumentados y redistribución de la enzima en tumores, lo que sugiere un papel en invasión tumoral y metástasis. Además, la actividad de Catepsina B aberrante está implicada en tales patologías como artritis reumatoide, osteoartritis, *Pneumocystis carinii*, pancreatitis aguda, enfermedad antiinflamatoria de las vías respiratorias y trastornos de hueso y articulaciones.

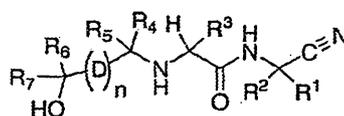
35

Las catepsinas de mamíferos están relacionadas con las cisteína proteasas de tipo papaína expresadas por parásitos causantes de enfermedad incluyendo los de las familias de protozoos, platelmintos, nematodos y artrópodos. Estas cisteína proteasas desempeñan un papel esencial en el ciclo vital de estos organismos.

El colágeno humano de tipo I, el principal colágeno en hueso es un buen sustrato para catepsina K. Véase Kafienah, W., y col. 1998, Biochem J 331: 127-732. Experimentos *in vitro* usando oligonucleótidos antisentido para catepsina K, han mostrado reabsorción de hueso disminuida *in vitro*, que probablemente se debe a una reducción de la traducción de ARNm de catepsina K. Véase Inui, T., y col., 1997, J Biol Chem 272: 8109-8112. La estructura cristalina de catepsina K se ha resuelto. Véase McGrath, M. E., y col., 1997, Nat Struct Biol 4: 105-109; Zhao, B., y col., 1997, Nat Struct Biol 4: 109-11. Además, se han desarrollado inhibidores de catepsina K basados en péptidos selectivos. Véase Bromme, D., y col., 1936, Biochem J 315: 85-89; Thompson, S. K., y col., 1997, Proc Natl Acad Sci. U S A 94: 14249-14254. En consecuencia, los inhibidores de catepsina K pueden reducir reabsorción de hueso. Tales inhibidores serían útiles en el tratamiento de trastornos que implican reabsorción de hueso tales como osteoporosis.

Sumario de la invención

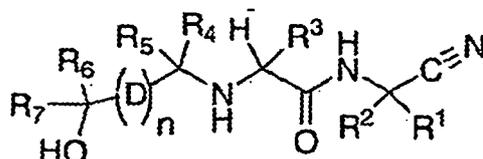
50 La presente invención se refiere a compuestos que son capaces de tratar y prevenir afecciones o patologías dependientes de catepsina en un mamífero que lo necesite. Se ilustra una realización de la presente invención por un compuesto de Fórmula I, y las sales, estereoisómeros y derivados de N-óxido farmacéuticamente aceptables del mismo:



I.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a compuestos de la siguiente fórmula química:



- 5 en la que R¹ y R² se toman junto con el átomo de carbono al que están unidos para formar ciclopropilo que está opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₃;
 R³ es alquilo C₁₋₆ que está sustituido con uno a cuatro flúor o uno a cuatro cloro;
 R⁴ es alquilo C₁₋₆ que está sustituido con uno a cinco halógenos;
 R⁵ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆ que está opcionalmente sustituido con uno a cinco halógenos;
 cada D es fenilo;
 10 R⁶ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆ que está opcionalmente sustituido con uno a dos hidroxilo o dos a seis halógenos;
 R⁷ es alquilo C₁₋₆ que está opcionalmente sustituido con dos a cinco halógenos;
 n es dos;
 o sales, estereoisómeros o derivados N-óxido farmacéuticamente aceptables de los mismos.

15 En una realización de la invención, R¹ y R² se toman junto con el átomo de carbono al que están unidos para formar ciclopropilo.

En una realización de la invención, D es fenilo.

En una realización de la invención, R⁴ es CF₃.

En una realización de la invención, R⁵ es hidrógeno.

En una realización de la invención, R⁷ es alquilo C₁₋₃ sustituido con dos o tres flúor.

- 20 La referencia a las realizaciones preferidas que se han descrito anteriormente pretende incluir todas las combinaciones de grupos particulares y preferidos, a menos que se indique otra cosa.

Las realizaciones específicas de la presente invención incluyen, pero sin limitación:

- 25 N¹(1-cianociclopropil)-N²(1-{4'-[2,2-difluoro-1-hidroxi]etil}bifenil-4-il)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;
 N¹(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N¹{2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi)etil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;
 N¹(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²(2,2,2-trifluoro-1-{4'-[3,3,3-trifluoro-1-hidroxi-1-metilpropil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;
 N¹(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²(2,2,2-trifluoro-1-{4'-[2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-1-(trifluorometil)etil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;
 30 N¹(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²{2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-1-metiletil)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida;
 N¹(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²(2,2,2-trifluoro-1-{4'-[1-hidroxi-1-(trifluorometil)propil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;
 N¹(1-cianociclopropil)-N²(1-{4'-[2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;
 35 N¹(1-cianociclopropil)-N²(1-{4'-[2,2-difluoro-1-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]bifenil-4-il)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;
 N²[1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetil]-N¹(1-cianociclopropil)-4-fluoro-L-leucinamida;
 N¹(1-cianociclopropil)-N²((1S)-1-{4'-[(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxi]etil}bifenil-4-il)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;
 40 N¹(1-cianociclopropil)-N²((1S)-1-{4'-[(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxi]etil}bifenil-4-il)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;
 N¹(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi)etil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;
 N¹(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²((1S)-2,2,2-trifluoro-1-{4'-[(1S)-3,3,3-trifluoro-1-hidroxi-1-metilpropil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;
 45 N¹(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²((1S)-2,2,2-trifluoro-1-{4'-[(1R)-3,3,3-trifluoro-1-hidroxi-1-metilpropil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;
 N¹(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(R)-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi)etil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;
 50 N¹(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²((1S)-2,2,2-trifluoro-1-{4'-[2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-1-(trifluorometil)etil]bifenil-4-

il)etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-1-metiletil)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida;

5 N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-{4'-[1-hidroxi-1-(trifluorometil)propil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-{4'-[(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

10 N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-{4'-[(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-{4'-[(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-{4'-[(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

y las sales, estereoisómeros y derivados N-óxido farmacéuticamente aceptables de los mismos.

15 También se incluyen dentro del alcance de la presente invención una composición farmacéutica que está comprendida por un compuesto de Fórmula I como se ha descrito anteriormente y un vehículo farmacéuticamente aceptable. También se contempla que la invención abarca una composición farmacéutica que está comprendida por un vehículo farmacéuticamente aceptable y cualquiera de los compuestos específicamente desvelados en la presente solicitud.

20 Otra realización de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica oral que comprende un compuesto de Fórmula I, o una sal, estereoisómero o derivado de N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo, adaptado para inhibir la reabsorción de hueso de acuerdo con un programa continuo que tiene un intervalo de dosificación una vez por semana, una vez cada dos semanas, dos veces al mes o una vez al mes.

25 Estos y otros aspectos de la invención resultarán evidentes a partir de las enseñanzas contenidas en el presente documento.

Utilidades

30 Los compuestos de la presente invención son inhibidores de catepsinas y son por lo tanto útiles para tratar o prevenir enfermedades o afecciones dependientes de catepsina en mamíferos, preferentemente seres humanos. Específicamente, los compuestos de la presente invención son inhibidores de catepsina K y son por lo tanto útiles para tratar o prevenir enfermedades o afecciones dependientes de catepsina K en mamíferos, preferentemente seres humanos.

35 Los compuestos de la presente invención tienen ventajas frente a compuestos estructuralmente similares conocidos en la técnica porque tienen un perfil farmacocinético notablemente mejorado. Específicamente, los compuestos de la presente invención tienen excelente biodisponibilidad, como se ejemplifica, pero sin limitación, por una dosis de 10 miligramos por kilogramo en ratas Sprague Dawley macho en metocel 0,5-1%. Adicionalmente, los compuestos de la presente invención proporcionan mayor exposición sistémica al fármaco que compuestos estructuralmente similares conocidos en la técnica.

40 "Enfermedades o afecciones dependientes de catepsina" se refiere a afecciones patológicas que dependen de la actividad de una o más catepsinas. "Enfermedades o afecciones dependientes de catepsina K" se refiere a afecciones patológicas que dependen de la actividad de catepsina K. Las enfermedades asociadas con actividades de catepsina K incluyen osteoporosis, osteoporosis inducida por glucocorticoides, enfermedad de Paget, enfermedad de anomalía, pérdida de dientes, fracturas de hueso, artritis reumatoide, osteoartritis, osteólisis periprotésica, osteogénesis imperfecta, aterosclerosis, obesidad, glaucoma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y cáncer incluyendo enfermedad ósea metastásica, hipercalcemia de tumor maligno, y mieloma múltiple. En el tratamiento de tales afecciones con los compuestos indicados en el presente documento, la cantidad terapéutica requerida variará de acuerdo con la enfermedad específica y puede determinarse fácilmente por los expertos en la materia. Aunque se contemplan tanto tratamiento como prevención por el alcance de la invención, el tratamiento de estas afecciones es el uso preferido.

50 Se desvela un procedimiento para inhibir la actividad de catepsina en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente.

Una clase de la realización es el procedimiento en el que la actividad de catepsina es actividad de catepsina K.

55 Se desvela un procedimiento para tratar o prevenir afecciones dependientes de catepsina en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente.

Se desvela el procedimiento en el que la actividad de catepsina es actividad de catepsina K.

Se desvela un procedimiento para inhibir pérdida de hueso en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Se desvela un procedimiento para reducir pérdida de hueso en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Se desvela además un procedimiento para tratar renovación de hueso aumentada de forma anómala y fracturas de hueso, en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. La utilidad de inhibidores de catepsina K en la inhibición de la reabsorción de hueso se conoce en la bibliografía, véase Stroup, G.B., Lark, M.W., Veber, D.F., Bhattacharyya, A., Blake, S., Dare, L.C., Erhard, K.F., Hoffman, S.J., James, I.E., Marquis, R.w., Ru, Y., Vasko-Moser, J.A., Smith, B.R., Tomaszek, T. y Gowen, M. Potent and selective inhibition of human cathepsin K leads to inhibition of bone resorption in vivo in a nonhuman primate. *J. Bone Miner. Res.*, 16: 1739-1746; 2001; y Votta, B.J., Levy, M.A., Badger, A., Dodds, R.A., James, I.E., Thompson, S., Bossard, M.J., Carr, T., Connor, J.R., Tomaszek, T.A., Szewczuk, L., Drake, F.H., Veber, D., y Gowen, M. Peptide aldehyde inhibitors of cathepsin K inhibit bone resorption both in vivo and in vitro. *J. Bone Miner. Res.* 12: 1396-1406; 1997.

Se desvela un procedimiento para tratar o prevenir osteoporosis en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. La utilidad de los inhibidores de catepsina K en el tratamiento o prevención de osteoporosis, incluyendo osteoporosis inducida por glucocorticoides, se conoce en la bibliografía, véase Saffig, P., Hunziker, E., Wehmeyer, O., Jones, S., Boyde, A., Rommerskirch, W., Moritz, J.D., Schu, P., y Vonfigura, K. Impaired osteoclast bone resorption leads to osteopetrosis in cathepsin K-deficient mice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95: 13453-13458; 1998.

Se desvela un procedimiento para tratar o prevenir enfermedad periodontal o pérdida de dientes en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. La utilidad de los inhibidores de catepsina K en tratamiento o prevención de enfermedad periodontal o pérdida de dientes se ha analizado en la bibliografía, véase Sasaki, T., "Differentiation and functions of osteoclasts and osteoclasts in mineralized tissue resorption," *Microsc Res Tech.* 15 Ago 2003; 61(6): 483-95.

Se desvela adicionalmente un procedimiento para tratar o prevenir artritis reumatoide o afección artrítica reumatoide en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Se conoce en la bibliografía que la destrucción progresiva del hueso periarticular es una causa principal de disfunción de las articulaciones y discapacidad en pacientes con artritis reumatoide (AR), véase Goldring SR, "Pathogenesis of bone erosions in rheumatoid arthritis". *Curr. Opin. Rheumatol.* 2002; 14: 406-10. El análisis de tejidos de articulaciones de pacientes con AR ha proporcionado pruebas de que los osteoclastos positivos para catepsina K son los tipos celulares que median en la restauración de hueso focal asociada con lesión sinovial reumatoide, véase Hou, W-S, Li, W, Keyszer, G, Weber, E, Levy, R, Klein, MJ, Gravallesse, EM, Goldring, SR, Bromme, D, "Comparison of Cathepsin K and S expression within the Rheumatoid and Osteoarthritic Synovium", *Arthritis Rheumatism* 2002; 46: 663-74. Además, la pérdida de hueso generalizada es una causa principal de morbilidad asociada con AR grave. La frecuencia de fracturas de cadera y columna aumenta sustancialmente en pacientes con AR crónica, véase Gould A, Sambrook, P. Devlin J y col, "Osteoclastic activation is the principal mechanism leading to secondary osteoporosis in rheumatoid arthritis". *J. Rheumatol.* 1998; 25: 1282-9. La utilidad de los inhibidores de catepsina K en el tratamiento o prevención de la absorción en hueso subarticular y de pérdida de hueso generalizada representan un enfoque racional para intervención farmacológica en la progresión de artritis reumatoide.

Se desvela además un procedimiento para tratar o prevenir la progresión de osteoartritis en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Se conoce en la bibliografía que la osteoartritis (OA) se acompaña de cambios bien definidos en las articulaciones, incluyendo erosión de la superficie de cartílago articular, osificación/osteofitosis endocondrial peri-articular y esclerosis ósea subcondrial y formación de quistes, véase Oettmeier R. Abendroth, K, "Osteoarthritis and bone: osteologic types of osteoarthritis of the hip". *Skeletal Radiol.* 1989; 18: 165-74. Recientemente, se ha sugerido la contribución potencial de esclerosis de hueso subcondrial al inicio y progresión de OA. El hueso subcondrial rígido como la articulación que responde a carga impulsiva repetitiva, es menos capaz de atenuar y distribuir fuerzas a través de la articulación, someténdola a mayor tensión mecánica a través de la superficie de cartílago articular. Esto a su vez acelera el desgaste del cartílago y fibrilación, véase Radin, EL y Rose RM, "Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage", *Clin. Orthop.* 1986; 213: 34-40. La inhibición de reabsorción de hueso subarticular excesiva por un agente anti-reabsorbente tal como un inhibidor de catepsina K, conducirá a la inhibición de renovación de hueso subcondrial, pudiendo tener de este modo un impacto favorable en la progresión de OA.

Además de la hipótesis anterior, se identificó recientemente la expresión de proteína catepsina K en fibroblastos de los sinovios, células de tipo macrófago y condrocitos del sinovio y muestras de ensayo de cartílagos articulares derivados de pacientes con OA, véase Hou, W-S, Li, W, Keyszer, G, Weber, E, Levy, R, Klein, MJ, Gravallesse, EM, Goldring, SR, Bromme, D, "Comparison of Cathepsin K and S expression within the Rheumatoid and Osteoarthritic

- Synovium”, *Arthritis Rheumatism* 2002; 46: 663-74; y Dodd, RA, Connor, JR, Drake, FH, Gowen, M, “Expression of Cathepsin K messenger RNA in giant cells and their precursors in human osteoarthritic synovial tissues”. *Arthritis Rheumatism* 1993; 42: 1588-93; y Konttinen, YT, Mandelin, J, Li, T-F, Salo, J, Lassus, J y col. “Acidic cysteine endoproteinas cathepsin K in the degeneration of the superficial articular hyaline cartilage in osteoarthritis”, *Arthritis Rheumatism* 2002; 46: 953-60. Estos estudios recientes han implicado por lo tanto el papel de catepsina K en la destrucción de colágeno de tipo II en el cartílago articular asociado con la progresión de osteoartritis. La utilidad de inhibidores de catepsina K en el tratamiento o prevención de osteoartritis como se ha desvelado comprende de este modo dos mecanismos diferentes, uno es la inhibición de renovación de hueso subcondrial dirigida por osteoblastos, y la otra es la inhibición directa de degeneración de colágeno de tipo II en el sinovio y cartílago de pacientes con OA.
- 5
- 10 Se desvela un procedimiento para tratar osteólisis periprotésica, en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. El uso de inhibidores de catepsina K para el tratamiento de osteólisis periprotésica se analiza en la bibliografía, véase, Mandelin, J., y col., “Interface tissue fibroblasts from loose total hip replacement prosthesis produce receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand, osteoprotegerin and cathepsin K”, *J Rheumatol.* Abr 2005; 32(4): 713-20.
- 15
- 20 Se desvela adicionalmente un procedimiento para tratar enfermedad ósea, tal como enfermedad de Paget, osteogénesis imperfecta y lesiones óseas de mieloma múltiple, en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. El uso de inhibidores de catepsina K para el tratamiento de enfermedad de Paget, osteogénesis imperfecta y lesiones óseas de mieloma múltiple se analiza en la bibliografía, véase, Lipton, A., “New therapeutic agents for the treatment of bone diseases”, *Expert Opin Biol Ther.* Jun 2005; 5(6): 817-32.
- 25
- 30 Se desvela adicionalmente un procedimiento para tratar cáncer en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Se conoce en la bibliografía que la catepsina K se expresa en carcinoma de mama humano, cáncer de próstata y cordoma y tiene capacidades de degradación de la matriz, véase Littlewood-Evans AJ, Bilbe G, Bowler WB, Farley D, Wlodarski B, Kokubo T, Inaoka T. Sloane J, Evans DB, Gallagher JA, “The osteoclast-associated protease cathepsin K is expressed in human breast carcinoma”, *Cancer Res* 1 Dic 1997; 57(23): 5386-90. Brubaker KD, Vessella RL, True LD. Thomas R, Corey E, “Cathepsin K mRNA and protein expression in prostate cancer progression”, *J Bone Miner Res* 2003 18, 222-30. Haeckel C, Krueger S, Kuester D, Ostertag H, Samii M, Buehling F, Broemme D, Czerniak B, Roessner A, “Expression of cathepsin K in chordoma”, *Hum Pathol* Jul 2000; 31(7): 834-40.
- 35
- 40 Se desvela adicionalmente un procedimiento para tratar aterosclerosis en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Se conoce en la bibliografía que la catepsina K se expresa en ateroma humano y tiene actividad de elastasa significativa, véase Sukhova GK, Shi GP, Simon DI, Chapman HA, Libby P, “Expression of the elastolytic cathepsins S and K in human atheroma and regulation of their production in smooth muscle cells”, *J Clin Invest* Ago 1998 102, 576-83.
- 45
- 50 Se desvela adicionalmente un procedimiento para tratar obesidad en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Se conoce en la bibliografía que el ARNm de catepsina K aumenta en tejido adiposo en varios modelos de ratón de obesidad y también en tejido adiposo de hombres humanos obesos, véase Chiellini C, Costa M, Novelli SE, Amri EZ, Benzi L, Bertacca A, Cohen P, Del Prato S, Friedman JM, Maffei M, “Identification of cathepsin K as a novel marker of adiposity in white adipose tissue”, *J Cell Physiol* 2003, 195, 309-21.
- 55
- Se desvela adicionalmente un procedimiento para tratar glaucoma en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. La catepsina K se expresa en gran medida en el iris, cuerpo ciliar y epitelio de pigmento retinal, y como tal puede ser útil en el tratamiento de glaucoma, véase Ortega, J., y col., “Gene. Expression of Proteases and Protease Inhibitors in the Human Ciliary Epithelium and ODM-2 cells”, *Exp. Eye Res* (1997) 65, 289-299; Publicación Internacional WO 2004/058238 (Alcon, Inc.).
- Se desvela adicionalmente un procedimiento para tratar enfermedad pulmonar obstructiva crónica en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Se conoce en la bibliografía que la catepsina K desempeña un papel en fibrosis pulmonar, véase Buhling, F., y col., “Pivotal role of cathepsin K in lung fibrosis”, *Am J Pathol.* Jun 2004; 164(6): 2203-16.
- Se desvela adicionalmente un procedimiento para tratar infecciones parasitarias en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Se conoce en la bibliografía que las

catepsinas de mamíferos están relacionadas con las cisteínas proteasas de tipo papaína que desempeñan un papel importante en el ciclo de vida de estos parásitos. Tales parásitos están implicados en la enfermedades de malaria, tripanosomiasis americana, tripanosomiasis africana, leishmaniasis, giardiasis, tricomoniasis, amebiasis, esquistosomiasis, fascioliasis, paragonimiasis y nematodos intestinales, véase Lecaille F, Kaleta J, Bromme D.,
 5 Human and parasitic papain-like cysteine proteases: their role in physiology and pathology and recent developments in inhibitor design. Chem Rev 2002 102, 4459-88.

Se desvela adicionalmente un procedimiento para tratar síndrome respiratorio agudo grave (SARS) en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente.

10 Se desvela adicionalmente un procedimiento para tratar enfermedad de hueso metastásica en un mamífero que lo necesite, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente. Se conoce en la bibliografía que los osteoclastos son los responsables de la reabsorción del hueso y que la destrucción de hueso e hipercalcemia inducida por tumores metastásicos se lleva a cabo por osteoclastos. En consecuencia, la inhibición de
 15 osteoclastos puede evitar destrucción del hueso y metástasis del hueso, véase Miyamoto, T. y Suda, T., "Differentiation and function of osteoclasts", Keio J Med Mar 2003; 52(1): 1-7.

Se desvela adicionalmente administrar a un mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de cualquiera de los compuestos o cualquiera de las composiciones farmacéuticas descritas anteriormente para el tratamiento de enfermedades de mamífero asociadas con catepsina S incluyendo enfermedad de Alzheimer, aterosclerosis,
 20 enfermedad pulmonar obstructiva crónica, cáncer y ciertos trastornos autoinmunes, incluyendo, pero sin limitación, diabetes de aparición juvenil, esclerosis múltiple, pénfigo vulgar, enfermedad de Graves, miastenia grave, lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide y tiroiditis de Hashimoto; trastornos alérgicos, incluyendo, pero sin limitación, asma; y respuestas inmunes alogénicas, incluyendo, pero sin limitación, rechazo de trasplantes de órganos o injertos tisulares. Se conoce en la bibliografía que la actividad de catepsina S está asociada con las patologías anteriores, véase Munger JS, Haass C, Lemere CA, Shi GP, Wong WS, Teplow DB, Selkoe DJ, Chapman
 25 HA, "Lysosomal processing of amyloid precursor protein to A beta peptides: a distinct role for cathepsin S", Biochem J 1995 311, 299-305. Sukhova GK, Zhang Y, Pan JH, Wada Y, Yamamoto T, Naito M, Kodama T, Tsimikas S, Witztum JL, Lu ML, Sakara Y, Chin MT, Libby P, Shi GP, "Deficiency of cathepsin S reduces atherosclerosis in LDL receptor-deficient mice", J Clin Invest 2003 111, 897-906. Zheng T, Zhu Z, Wang Z, Homer RJ, Ma B, Riese RJ Jr, Chapman HA Jr, Shapiro SD, Elias JA, "Inducible targeting of IL-13 to the adult lung causes matrix metalloproteinase and cathepsin-independent emphysema", J Clin Invest 2000 106, 1081-93. Shi GP, Sukhova GK, Kuzuya M, Ye Q, Du J, Zhang Y, Pan JH, Lu ML, Cheng XW, Iguchi A, Perrey S, Lee AM, Chapman HA, Libby P, "Deficiency of the cysteine protease cathepsin S impairs microvessel growth", Circ Res 2003 92, 93-100. Nakagawa TY, Brissette WH, Lira PD, Griffiths RJ, Petrushova N, Stock J, McNeish JD, Eastman SE, Howard ED, Clarke SR, Rosloniec EF, Elliott
 30 EA, Rudensky AY, "Impaired invariant chain degradation and antigen presentation and diminished collagen-induced arthritis in cathepsin S null mice", Immunity 1999 10, 207-17.

Se ejemplifica la invención mediante el uso de cualquiera de los compuestos descritos anteriormente en la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de osteoporosis de un mamífero que lo necesite. Se amplifica adicionalmente la invención mediante el uso de cualquiera de los compuestos descritos anteriormente
 40 en la preparación de un medicamento para el tratamiento y/o prevención de: pérdida de hueso, reabsorción de hueso, fracturas de hueso, enfermedad metastásica de hueso y/o trastornos relacionados con actuación de catepsina.

Se ejemplifica adicionalmente la invención mediante el uso de un inhibidor de catepsina K de la presente invención, o un sal, estereoisómero o derivado de N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo, para la preparación de un medicamento, como una dosis unitaria oral para tratar un trastorno seleccionado de: osteoporosis, osteoporosis
 45 inducida por glucocorticoides, enfermedad de Paget, renovación de hueso aumentada de forma anómala, enfermedad periodontal, pérdida de dientes, fracturas de hueso, artritis reumatoide, osteoartritis, osteólisis periprostética, osteogénesis imperfecta, aterosclerosis, obesidad, glaucoma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad metastásica del hueso, hipercalcemia de tumor maligno o mieloma múltiple, en un mamífero que lo necesite de acuerdo con un programa continuo que tenga un intervalo de dosificación de una vez por semana, una vez cada dos semanas, dos veces al mes o una vez al mes. También se desvela un procedimiento para tratar un trastorno seleccionado de: osteoporosis, osteoporosis inducida por glucocorticoides, enfermedad de Paget, renovación de hueso aumentada de forma anómala, enfermedad periodontal, pérdida de dientes, fracturas de hueso, artritis reumatoide, osteoartritis, osteólisis periprostética, osteogénesis imperfecta, aterosclerosis, obesidad,
 50 glaucoma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad metastásica del hueso, hipercalcemia de tumor maligno o mieloma múltiple, administrando un inhibidor de catepsina K de la presente invención a un mamífero que lo necesite de acuerdo con un programa continuo que tenga un intervalo de dosificación de una vez por semana, una vez cada dos semanas, dos veces al mes o una vez al mes.

Los compuestos de la presente invención pueden administrarse a mamíferos, preferentemente seres humanos, solos o, preferentemente, en combinación con vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables, opcionalmente con adyuvantes conocidos, tales como alumbre, en una composición farmacéutica, de acuerdo con la práctica
 60

farmacéutica convencional. Los compuestos pueden administrarse por vía oral o parenteral, incluyendo las vías de administración intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, subcutánea, rectal y tópica.

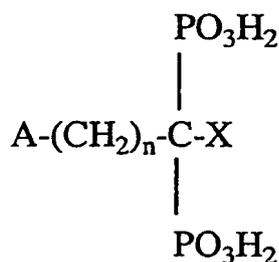
En el caso de que comprimidos para su uso oral, los vehículos que se usan habitualmente incluyen lactosa y almidón de maíz, y se añaden habitualmente agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para administración oral en forma de cápsulas, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Para uso oral de un compuesto terapéutico de acuerdo con la presente invención, el compuesto seleccionado puede administrarse, por ejemplo, en forma de comprimidos o cápsulas, o como una solución o suspensión acuosa. Para administración oral en forma de un comprimido o cápsula, el componente farmacológico activo puede combinarse con un vehículo oral, no tóxico, farmacéuticamente aceptable, inerte, tal como lactosa, almidón, sacarosa, glucosa, metil celulosa, estearato de magnesio, fosfato dicálcico, sulfato cálcico, manitol, sorbitol, para administración oral en forma líquida, los componentes farmacológicos orales pueden combinarse con cualquier vehículo inerte farmacéuticamente aceptable oral, no tóxico, tal como etanol, glicerol, agua. Además, cuando sea necesario o se desee, también pueden incorporarse a la mezcla aglutinantes, lubricantes, agentes disgregantes y agentes colorantes adecuados. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, tragacanto o alginato sódico, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato sódico, estearato sódico, estearato de magnesio, benzoato sódico, acetato sódico, cloruro sódico. Los disgregantes incluyen, sin limitación, almidón, metil celulosa, agar, bentonita, goma de xantano. Cuando se requieren suspensiones acuosas para su uso oral, el principio activo se combina con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, pueden añadirse ciertos agentes edulcorantes y/o saporíferos. Para uso intramuscular, intraperitoneal, subcutáneo e intravenoso, se preparan habitualmente soluciones estériles del principio activo, y el pH de las soluciones debería ajustarse y tamponarse de forma adecuada. Para su uso intravenoso, la concentración total de solutos debería controlarse para hacer a la preparación isotónica.

Los compuestos de la presente invención también pueden administrarse en forma de sistemas de suministro de liposomas, tales como vesículas unilamelares pequeñas, vesículas unilamelares grandes y vesículas multilamelares. Pueden formarse liposomas a partir de una diversidad de fosfolípidos, tales como colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Los compuestos de la presente invención también pueden suministrarse mediante el uso de anticuerpos monoclonales como vehículos individuales con los que se acoplan moléculas compuestas. Los compuestos de la presente invención también pueden acoplarse con polímeros solubles como vehículos farmacológicos dirigibles. Tales polímeros pueden incluir polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropilmetacrilamida-fenol, polihidroxi-etilaspártamida-fenol o polietilenoóxido-polilisina sustituida con restos de palmitoilo. Además, los compuestos de la presente invención pueden acoplarse a una clase de polímeros biodegradables útiles para conseguir liberación controlada de un fármaco, por ejemplo, ácido poliláctico, ácido poliglicólico, copolímeros de ácido poliláctico y poliglicólico, caprolactona poliépsilon, ácido polihidroxibutírico, poliortoésteres, poliacetales, polidihidropiranos, policianoacrilatos y copolímeros negros anfipáticos o reticulados de hidrogeles.

Los presentes compuestos también son útiles en combinación con agentes conocidos útiles para tratar o prevenir osteoporosis, osteoporosis inducida por glucocorticoides, enfermedad de Paget, renovación de hueso aumentada de forma anómala, enfermedad periodontal, pérdida de dientes, fracturas de huesos, artritis reumatoide, osteoartritis, osteólisis periprotésica, osteogénesis imperfecta, enfermedad metastásica del hueso, hipercalcemia de tumor maligno y mieloma múltiple. Las combinaciones de los compuestos desvelados en el presente documento con otros agentes útiles para tratar o prevenir osteoporosis u otros trastornos del hueso están dentro del alcance de la invención. Un experto habitual en la materia será capaz de discernir qué combinaciones de agentes serían útiles basándose en las características particulares de los fármacos y la enfermedad implicados. Tales agentes incluyen lo siguiente: un bisfosfonato orgánico; un modulador de receptor de estrógenos; un modulador de receptor de andrógenos; un inhibidor de protón ATPasa de osteoclastos; un inhibidor de HMG-CoA reductasa; un antagonista del receptor de integrina; una vitamina D; un análogo de vitamina D sintético; agente anabólico, tal como PTH; un fármaco antiinflamatorio no esteroideo; un inhibidor de ciclooxigenasa-2 selectivo; un inhibidor de interleucina 1 beta, un inhibidor de LOX/COX; un inhibidor de RANKL; y las sales y mezclas farmacéuticamente aceptables de los mismos. Una combinación preferida es un compuesto de la presente invención y un bisfosfonato orgánico. Otra combinación preferida es un compuesto de la presente invención y un modulador de receptor de estrógenos. Otra combinación preferida es un compuesto de la presente invención y un modulador de receptor de andrógenos. Otra combinación preferida es un compuesto de la presente invención y un agente anabólico de osteoblastos.

"Bisfosfonato orgánico" incluye, pero sin limitación, compuestos de la fórmula química



5 en la que n es un número entero de 0 a 7, y en la que A y X se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en H, OH, halógeno, NH₂, SH, fenilo, alquilo C₁-C₃₀, una estructura de anillos bicíclica cicloalquilo C₃-C₃₀ ramificado que contiene dos o tres N, alquilo C₁-C₃₀ sustituido, NH₂ alquilo C₁-C₁₀, NH₂ C₃-C₁₀ ramificado o cicloalquilo, NH₂ dialquilo C₁-C₁₀ sustituido, alcoxi C₁-C₁₀, tio alquilo C₁-C₁₀ sustituido, tiofenilo, halofeniltio, fenilo alquilo C₁-C₁₀ sustituido, piridilo, furanilo, pirrolidinilo, imidazolilo, imidazopiridinilo y bencilo, de tal forma que tanto A como X no se seleccionan entre H o OH cuando n es 0; o A y X se toman junto con el átomo o átomos de carbono a los que están unidos para formar un anillo C₃-C₁₀.

10 En la fórmula química anterior, los grupos alquilo pueden ser lineales, ramificados o cíclicos, con la condición de que se seleccionen átomos suficientes para la fórmula química. El alquilo C₁-C₃₀ sustituido puede incluir una gran diversidad de sustituyentes, cuyos ejemplos no limitantes incluyen los seleccionados entre el grupo que consiste en fenilo, piridilo, furanilo, pirrolidinilo, imidazonilo, NH₂, NH₂ alquilo o dialquilo C₁-C₁₀ sustituido, OH, SH y alcoxi C₁-C₁₀.

15 La fórmula química anterior también pretende incluir estructuras carbocíclicas complejas, aromáticas y heteroátomos para los sustituyentes A y/o X, cuyos ejemplos no limitantes incluyen naftilo, quinolilo, isoquinolilo, adamantilo y clorofeniltio.

20 También son útiles sales y derivados farmacéuticamente aceptables de los bisfosfonatos en el presente documento. Los ejemplos no limitantes de sales incluyen las seleccionadas entre el grupo que consiste en metal alcali, metal alcalino, amonio, y amonio mono-, di-, tri- o tetra-alquilo C₁-C₁₀ sustituido. Sales preferidas son las seleccionadas entre el grupo que consiste en sales sódicas, potásicas, cálcicas, magnésicas y de amonio. Son más preferidas las sales sódicas. Los ejemplos no limitantes de derivados incluyen los seleccionados entre el grupo que consiste en ésteres, hidratos y amidas.

25 Debe apreciarse que los términos "bisfosfonato" y "bisfosfonatos", como se usan en el presente documento, en referencia a los agentes terapéuticos de la presente invención pretenden incluir además difosfonatos, ácidos bifosfónicos y ácidos difosfónicos, así como sales y derivados de estos materiales. El uso de una nomenclatura específica en referencia al bisfosfonato o los bisfosfonatos no pretende limitar el alcance de la presente invención, a menos que se indique otra cosa. Debido a la nomenclatura mixta actualmente en uso por los expertos en la técnica, se hace referencia a un peso o porcentaje específico de un compuesto de bisfosfonato en la presente invención sobre una base en peso de ácido activo, a menos que se indique otra cosa en el presente documento. Por ejemplo, la expresión "aproximadamente 5 mg de un bisfosfonato de inhibición de resorción ósea seleccionado entre el grupo que consiste en alendronato, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, y mezclas de los mismos, o una base en peso de ácido alendrónico activo" significa que la cantidad del compuesto de bisfosfonato seleccionado se calcula en base a 5 mg de ácido alendrónico.

Los ejemplos no limitantes de bisfosfonatos útiles en el presente documento incluyen los siguientes:

35 Alendronato, que también se conoce como ácido alendrónico, ácido 4-amino-1-hidroxitilideno-1,1-bisfosfónico, alendronato sódico o alendronato monosódico trihidrato, ácido 4-amino-1-hidroxitilideno-1,1-bisfosfónico monosódico trihidrato.

40 El alendronato se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.922.007, de Kieczkowski y col., expedida el 1 de mayo de 1990; la Patente de Estados Unidos N° 5.019.651, de Kieczkowski y col., expedida el 28 de mayo de 1991; la Patente de Estados Unidos N° 5.510.517, de Dauer y col., expedida el 23 de abril de 1996; la Patente de Estados Unidos N° 5.648.491, de Dauer y col., expedida el 15 de julio de 1997.

45 Ácido cicloheptilaminometileno-1,1-bisfosfónico, YM 175, Yamanouchi (incadronato, anteriormente conocido como cimadronato), como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.970.335, de Isomura y col., expedida el 13 de noviembre de 13, 1990.

Ácido 1,1-diclorometileno-1,1-difosfónico (ácido clodronico), y la sal disódica (clodronato, Procter and Gamble), se describen en la Patente Belga 672.205 (1966) y J. Org. Chem 32, 4111 (1967).

Ácido 1-hidroxi-3-(1-pirrolidinil)-propilideno-1,1-bisfosfónico (EB-1053).

Ácido 1-hidroxietano-1,1-difosfónico (ácido etidronico).

Ácido 1-hidroxi-3-(N-metil-N-pentilamino)propilideno-1,1-bisfosfónico, también conocido como BM-210955, Boehringer-Mannheim (ibandronato), se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.927.814, expedida el 22 de mayo de 1990.

1-hidroxi-2-imidazo-(1,2-a)piridin-3-etilideno (minodronato).

Ácido 6-amino-1-hidroxihexilideno-1,1-bisfosfónico (neridronato).

Ácido 3-(dimetilamino)-1-hidroxipropilideno-1,1-bisfosfónico (olpadronato).

Ácido 3-amino-1-hidroxipropilideno-1,1-bisfosfónico (pamidronato).

Ácido [2-(2-piridinil)etilideno]-1,1-bisfosfónico (piridronato), se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.761.406.

Ácido 1-hidroxi-2-(3-piridinil)-etilideno-1,1-bisfosfónico (risedronato).

Ácido (4-clorofenil)tiometano-1,1-disfosfónico (tiludronato), como se describe en la Patente de Estados Unidos N° 4.876.248, de Breliere y col., 24 de octubre de 1989.

Ácido 1-hidroxi-2-(1H-imidazol-1-il)etilideno-1,1-bisfosfónico (zoledronato).

Los ejemplos no limitantes de bisfosfonatos incluyen alendronato, cimadronato, clodronato, etidronato, ibandronato, incadronato, minodronato, neridronato, olpadronato, pamidronato, piridronato, risedronato, tiludronato y zolendronato, y sales y ésteres farmacéuticamente aceptables de los mismos. Un bisfosfonato particularmente preferido es alendronato, especialmente una sal sódica, potásica, cálcica, magnésica o de amonio de ácido alendrónico. La ejemplificación del bisfosfonato preferido es una sal sódica de ácido alendrónico, especialmente una sal sódica hidratada de ácido alendrónico. La sal puede hidratarse con un número entero de moles de agua o números no enteros de moles de agua. La ejemplificación adicional del bisfosfonato preferido es una sal sódica hidratada de ácido alendrónico, especialmente cuando la sal hidratada es alendronato monosódico trihidrato.

Se reconoce que pueden utilizarse mezclas de dos o más de los activos de bisfosfonato.

La dosificación precisa del bisfosfonato orgánico variará con el programa de dosificación, el bisfosfonato particular seleccionado, la edad, talla, sexo y condición del mamífero o ser humano, la naturaleza y gravedad del trastorno para tratar, y otros factores médicos y físicos relevantes. Por lo tanto, no puede especificarse una cantidad farmacéuticamente eficaz precisa previamente y esta puede determinarse fácilmente por el cuidador o especialista clínico. Pueden determinarse cantidades apropiadas por experimentación rutinaria de modelos animales y estudios clínicos humanos. En general, se selecciona una cantidad apropiada de bisfosfonato para obtener un efecto de inhibición de reabsorción del hueso, es decir, se administra una cantidad del bisfosfonato que inhibe la reabsorción del hueso. Para seres humanos, una dosis oral eficaz de bisfosfonato es típicamente de aproximadamente 1,5 a aproximadamente 6000 µg/kg de peso corporal y preferentemente de aproximadamente 10 a aproximadamente 2000 µg/kg de peso corporal. Para alendronato monosódico trihidrato, las dosis humanas habituales que se administran están generalmente en el intervalo de aproximadamente 2 mg/día a aproximadamente 40 mg/día, preferentemente aproximadamente 5 mg/día a aproximadamente 40 mg/día. En los Estados Unidos las dosificaciones aprobadas en la actualidad para alendronato monosódico trihidrato son 5 mg/día para prevenir osteoporosis, 10 mg/día para tratar osteoporosis y 40 mg/día para tratar enfermedad de Paget.

En regímenes de dosificación alternativos, los bisfosfonatos pueden administrarse a intervalos distintos de diario, por ejemplo dosificación de una vez por semana, dosificación dos veces por semana, dosificación cada dos semanas y dosificación dos veces al mes. En un régimen de dosificación una vez por semana, se administraría alendronato monosódico trihidrato a dosificaciones de 35 mg/semana o 70 mg/semana.

“Moduladores de receptor de estrógenos selectivos” se refiere a compuestos que interfieren o inhiben la unión de estrógeno con el receptor, independientemente del mecanismo. Los ejemplos de moduladores de receptores de estrógenos incluyen, pero sin limitación, estrógeno, progestágeno, estradiol, droloxifeno, raloxifeno, lasofoxifeno, TSE-424, tamoxifeno, idoxifeno, LY353381, LY117081, toremifeno, fulvestrant, 4-[7-(2,2-dimetil-1-oxopropoxi-4-metil-2-[4-[2-(1-piperidinil)etoxi]fenil]-2H-1-benzopiran-3-il)-fenil]-2,2-dimetilpropanoato, 4,4'-dihidroxibenzofenon-2,4-dinitrofenil-hidrazona, y SH646.

Un “modulador de receptor de estrógenos beta” es un compuesto que agoniza o antagoniza selectivamente receptor de estrógenos beta (ERβ). La agonización de ERβ aumenta la transcripción del gen de triptófano hidroxilasa (TPH, la enzima clave en la síntesis de serotonina) mediante un acontecimiento mediado por ERβ. Pueden encontrarse ejemplos de agonistas de receptores de estrógenos beta en la publicación Internacional de PCT WO 01/82923, que se publicó el 8 de noviembre de 2001 y el documento WO 02/41835, que se publicó el 20 de mayo de 2002.

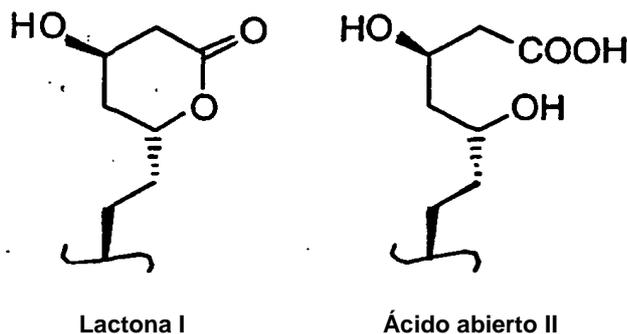
“Moduladores de receptor de andrógenos” se refiere a compuestos que interfieren con o inhiben la unión de andrógenos con el receptor, independientemente del mecanismo. Los ejemplos de moduladores de receptor de andrógenos incluyen finasterida y otros inhibidores de 5α-reductasa, nilutamida, flutamida, bicalutamida, liarozol y acetato de abiraterona.

“Un inhibidor de protón ATPasa de osteoclastos” se refiere a un inhibidor del protón ATPasa, que se encuentra en la membrana apical del osteoclasto, y se ha indicado que desempeña un papel significativo en el proceso de reabsorción de hueso. Esta bomba de protones representa una diana atractiva para el diseño de inhibidores de reabsorción de hueso que son potencialmente útiles para el tratamiento y prevención de osteoporosis y

enfermedades metabólicas relacionadas. Véase C. Farina y col., "Selective inhibitors of the osteoclast vacuolar proton ATPase as novel bone antiresorptive agents," DDT, 4: 163-172 (1999).

"Inhibidores de HMG-CoA reductasa" se refiere a inhibidores de 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA reductasa. Los compuestos que tienen actividad inhibidora para HMG-CoA reductasa pueden identificarse fácilmente usando ensayos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, véanse los ensayos descritos o citados en la Patente de Estados Unidos 4.231.938 en col. 6, y documento WO 84/02131 en las páginas 30-33. Las expresiones "inhibidor de HMG-CoA reductasa" e "inhibidor de HMG-CoA reductasa" tienen el mismo significado cuando se usan en el presente documento.

Los ejemplos de inhibidores de HMG-CoA reductasa que pueden usarse incluyen pero sin limitación lovastatina (MEVACOR®; véase Patentes de Estados Unidos N° 4.231.938, 4.294.926 y 4.319.039), simvastatina (XOCOR®, véase Patentes de Estados Unidos N° 4.444.784, 4.820.850 y 4.916.239), pravastatina (PRAVACHOL®; véase Patentes de Estados Unidos N° 4.346.227, 4.537.859, 4.410.629, 5.030.447 y 5.180.589), fluvastatina (LESCOL®; véase, Patentes de Estados Unidos N° 5.354.772, 4.911.165, 4.929.437, 5.189.164, 5.118.853, 5.290.946 y 5.356.896), atorvastatina (LIPITOR®; véase Patente de Estados Unidos N° 5.273.995, 4.681.893, 5.489.691 y 5.342.952) y cerivastatina (también conocida como rivastatina y BAYCHOL®; véase Patente de Estados Unidos N° 5.177.080). Las fórmulas estructurales de estos y adicionales inhibidores de HMG-CoA reductasa que pueden usarse en los presentes procedimientos se describen en la página 87 de M. Yalpani, "Cholesterol Lowering Drugs", Chemistry & Industry, pp. 85-89 (5 de febrero de 1996) y las Patentes de Estados Unidos N° 4.782.084 y 4.885.314. La expresión inhibidor de HMG-CoA reductasa como se usa en el presente documento incluye todas las formas de lactona y ácido abierto (es decir, cuando el anillo de lactona está abierto para formar el ácido libre), farmacéuticamente aceptables así como formas de sales y ésteres de compuestos que tengan actividad inhibidora de HMG-CoA reductasa, y por lo tanto el uso de tales sales, ésteres, formas de ácido abierto y lactona se incluye dentro del alcance de la presente invención. Se muestra a continuación una ilustración de la parte de lactona y su forma de ácido abierto correspondiente en las estructuras I y II.



En inhibidores de HMG-CoA reductasa en los que puede existir una forma de ácido abierto, pueden formarse preferentemente formas de sales y ésteres a partir del ácido abierto, y todas las formas tales se incluyen dentro del significado de la expresión "inhibidor de HMG-CoA reductasa" como se usa en el presente documento. Preferentemente, el inhibidor de HMG-CoA reductasa se selecciona de lovastatina y simvastatina, y más preferentemente simvastatina. En el presente documento, la expresión "sales farmacéuticamente aceptables" con respecto al inhibidor de HMG-CoA reductasa significará sales no tóxicas de los compuestos empleados en la presente invención que generalmente se preparan haciendo reaccionar el ácido libre con una base orgánica o inorgánica adecuada, particularmente las formadas a partir de cationes tales como sodio, potasio, aluminio, calcio, litio, magnesio, zinc y tetrametilamonio, así como las sales formadas a partir de aminas tales como amoníaco, etilendiamina, N-metilglucamina, lisina, arginina, ornitina, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, clorprocaína, dietanolamina, procaína, N-bencilfentilamina, 1-p-clorobencil-2-pirrolidin-1'-il-metilbenzimidazol, dietilamina, piperazina y tris(hidroximetil) aminometano. Los ejemplos adicionales de formas salinas de inhibidores de HMG-CoA reductasa pueden incluir, pero sin limitación, acetato, bencenosulfonato, benzoato, bicarbonato, bisulfato, bitartrato, borato, bromuro, edetato cálcico, camsilato, carbonato, cloruro, clavulanato, citrato, dihidrocloruro, edetato, edisilato, estolato, esilato, fumarato, gluceptato, gluconato, glutamato, glicolilarsanilato, hexilresorcinato, hidrabamina, bromhidrato, clorhidrato, hidroxinaptoato, yoduro, isotionato, lactato, lactobionato, laurato, malato, maleato, mandelato, mesilato, metilsulfato, mucato, napsilato, nitrato, oleato, oxalato, pamoato, palmitato, pantotenato, fosfato/difosfato, poligalacturonato, salicilato, estearato, subacetato, succinato, tanato, tartrato, teocato, tosilato, trietioduro y valerato.

Los derivados de ésteres de los compuestos inhibidores de HMG-CoA reductasa descritos pueden actuar como profármacos que, cuando se absorben en el torrente sanguíneo de un animal de sangre caliente, pueden escindirse de tal manera que liberen la forma farmacológica y permitan que el fármaco aporte eficacia terapéutica mejorada.

Como se ha usado anteriormente, "antagonistas del receptor de integrina" se refiere a compuestos que antagonizan, inhiben o contrarrestan selectivamente la unión de un ligando fisiológico con la integrina $\alpha_v\beta_3$, a compuestos que antagonizan, inhiben o contrarrestan selectivamente la unión de un ligando fisiológico con la integrina $\alpha_v\beta_5$, a

compuestos que antagonizan, inhiben o contrarrestan la unión de un ligando fisiológico tanto con la integrina $\alpha_v\beta_3$ como con la integrina $\alpha_v\beta_5$ y a compuestos que antagonizan, inhiben o contrarrestan la actividad de la integrina o las integrinas particulares expresadas en células endoteliales capilares. La expresión también se refiere a antagonistas de las integrinas $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_v\beta_8$, $\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$, $\alpha_6\beta_1$ y $\alpha_6\beta_4$. La expresión también se refiere a antagonistas de cualquier combinación de integrina $\alpha_v\beta_3$, $\alpha_v\beta_5$, $\alpha_v\beta_6$, $\alpha_v\beta_8$, $\alpha_1\beta_1$, $\alpha_2\beta_1$, $\alpha_5\beta_1$, todas y $\alpha_6\beta_4$. H.N. Lode y colaboradores en PNAS USA 96:1591-1596 (1999) han observado efectos sinérgicos entre un antagonista de integrina $\alpha_v\beta_3$ antiangiogénico y una proteína de fusión de citocina (interleucina 2) - anticuerpo específico tumoral en la erradicación de metástasis tumorales espontáneas. Sus resultados sugieren que esta combinación tiene potencial para el tratamiento de cáncer y crecimiento tumoral metastásico. Los antagonistas del receptor de integrina $\alpha_v\beta_3$ inhiben la reabsorción del hueso a través de un nuevo mecanismo distinto del de todos los fármacos disponibles en la actualidad. Las integrinas son receptores de adhesión transmembrana heterodiméricos que median en interacciones célula-célula y célula-matriz. Las subunidades de integrina α y β interactúan de forma no covalente y se unen ligandos de matriz extracelular de una manera dependiente de cationes divalentes. La integrina más abundante en osteoclastos es $\alpha_v\beta_3$ ($> 10^7$ /osteoclasto), que parece desempeñar un papel limitante de velocidad en la organización citoesquelética importante para migración celular y polarización. El efecto antagonista de $\alpha_v\beta_3$ se selecciona de inhibición de reabsorción de hueso, inhibición de reestenosis, inhibición de degeneración macular, inhibición de artritis, e inhibición de cáncer y crecimiento metastásico.

“Un agente anabólico de osteoblastos” se refiere a agentes que construyen hueso, tales como PTH. Se ha mostrado que la administración intermitente de hormona paratiroidea (PTH) o sus fragmentos amino terminales y análogos evitan, detienen, invierte parcialmente la pérdida de hueso y estimulan la formación de hueso en animales y seres humanos. Para un análisis refiérase a D.W. Dempster y col., “Anabolic actions of parathyroid hormone on bone”, *Endocr Rev* 14: 690-709 (1993). Los estudios han demostrado beneficios clínicos de la hormona paratiroidea en la estimulación de formación de hueso y por lo tanto aumento de masa y fuerza ósea. Se presentaron resultados en RM Neer y col., en *New Eng J Med* 344 1434-1441 (2001).

Además, los fragmentos o análogos de proteínas relacionadas con hormona paratiroidea, tales como PTHrP- (1-36) han demostrado efectos anticalciúricos potentes [véase M.A. Syed y col., “Parathyroid hormone-related protein-(1-36) stimulates renal tubular calcium reabsorption in normal human volunteers: implications for the pathogenesis of humoral hypercalcemia of malignancy,” *JCEM* 86: 1525-1531 (2001)] y también pueden tener potencial como agentes anabólicos para tratar osteoporosis.

“Vitamina D” incluye, pero sin limitación, vitamina D_3 (colecalfiferol) y vitamina D_2 (ergocalciferol), que son precursores biológicamente inactivos, de origen natural, de los metabolitos biológicamente activos hidroxilados de vitamina D: 1α -hidroxi vitamina D; 25-hidroxi vitamina D y $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D. La vitamina D_2 y vitamina D_3 tienen la misma eficacia biológica en seres humanos. Cuando la vitamina D_2 o D_3 entra en la circulación, se hidroxila por citocromo P_{450} -vitamina D-25-hidroxilasa para proporcionar 25-hidroxi vitamina D. El metabolito 25-hidroxi vitamina D es biológicamente inerte y se hidroxila adicionalmente en el riñón por citocromo P_{450} -monooxigenasa, 25 (OH) $D-1\alpha$ -hidroxilasa para proporcionar $1,25$ -dihidroxi vitamina D. Cuando se reduce el calcio en suero, hay un aumento de la producción de hormona paratiroidea (PTH), que regula la homeostasis del calcio y aumenta los niveles de calcio en plasma aumentando la conversión de 25-hidroxi vitamina D a $1,25$ -dihidroxi vitamina D.

Se cree que $1,25$ -dihidroxi vitamina D es responsable de los efectos de vitamina D en el metabolismo del calcio y del hueso. El metabolito $1,25$ -dihidroxi es la hormona activa requerida para mantener la absorción del calcio y la integridad esquelética. La homeostasis del calcio se mantiene por $1,25$ dihidroxi vitamina D induciendo que células madre monocíticas se diferencien en osteoclastos y manteniendo el calcio en el intervalo normal, lo que da como resultado mineralización del hueso por la deposición de hidroxiapatita cálcica en la superficie del hueso, véase Holick, MF, “Vitamin D photobiology, metabolism, and clinical applications” en *Endocrinology*, 3ª ed., 990-1013 (1995), editado por DeGroot L, y col. Sin embargo, niveles elevados de $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 pueden dar como resultado un aumento de la concentración de calcio en sangre y el control anómalo de la concentración de calcio por metabolismo del hueso, dando como resultado hipercalcemia. $1\alpha,25$ -dihidroxi vitamina D_3 también regula indirectamente la actividad osteoclástica en metabolismo del hueso y puede esperarse que niveles elevados aumenten la reabsorción de hueso excesiva en osteoporosis.

En realizaciones de la presente invención, se elige una cantidad apropiada del compuesto de vitamina D para proporcionar nutrición de vitamina D adecuada durante el intervalo de dosificación sin interferir con la capacidad del inhibidor de catepsina K para obtener un efecto inhibidor de reabsorción del hueso. Para composiciones orales de la presente invención que comprenden un inhibidor de catepsina K, y un compuesto de vitamina D, una cantidad del compuesto de vitamina D comprende de aproximadamente 100 UI a aproximadamente 60.000 UI. Los ejemplos no limitantes de una cantidad oral del compuesto de vitamina D en realizaciones de la presente invención incluyen, pero sin limitación, dosificaciones de 2.800, UI, 5.600 UI, 7.000 UI, 8.400 UI, 11.200 UI, 14.000 UI, 16.800 UI o 19.600 UI. Son ejemplos no limitantes de una cantidad oral de vitamina D para dosificación semanal 2.800 UI, 5.600 UI, 7.000 UI, 8.400 UI y 11.200 UI. Son ejemplos no limitantes de una cantidad oral de vitamina D para dosificación oral 11.200 UI, 14.000 UI, 15.400 UI, 16.800 UI y 19.600 UI.

“Análogos de vitamina D sintéticos” incluyen compuestos de origen no natural que actúan como vitamina D.

- 5 “Fármacos antiinflamatorios no esteroideos” o AINE, inhiben el metabolismo de ácido araquidónico a prostaglandinas proinflamatorias mediante ciclooxigenasa (COX)-1 y COX-2. Los ejemplos no limitantes de AINE incluyen: aspirina, ibuprofeno, naproxeno, diclofenaco, etodolaco, fenoprofeno, flubiprofeno, indometacina, ketoprofeno, ketorolac, meloxicam, nabumetona, oxaprozina, piroxicam, sulindac, tolmetina, diflunisal, meclofenamato y fenilbutazona.
- Un “inhibidor de ciclooxigenasa-2 selectivo”, o inhibidor de COX-2, se refiere a un tipo de fármaco antiinflamatorio no esteroideo (AINE), que inhibe la coenzima COX-2, que contribuye a dolor e inflamación en el cuerpo. Los ejemplos no limitantes de inhibidores de COX-2 incluyen: celecoxib, etoricoxib, parecoxib, rofecoxib, valdecoxib y lumiracoxib.
- 10 Un “inhibidor de interleucina-1 beta” o IL-1 β , se refiere a un inhibidor de IL-1, que es un factor soluble producido por monocitos, macrófagos y otras células que activa linfocitos T y potencia su respuesta a mitógenos o antígenos. Los ejemplos no limitantes de inhibidores de IL-1 β incluyen diacereína y reína.
- Un “inhibidor de LOX/COX” se refiere a un inhibidor de las tres enzimas principales implicadas en la ruta del ácido araquidónico, concretamente, 5-LOX, COX-1 y COX-2. Un ejemplo no limitante de un inhibidor de LOX/COX es licofelona.
- 15 Un “inhibidor de RANKL” se refiere a un inhibidor del ligando de receptor activador de NF-kB (RANKL), que se ha llamado previamente factor de diferenciación de osteoclastos (ODF), ligando de osteoprotegerina (OPGL) y la citocina inducida por activación relacionada con TNF (TRANCE). RANKL es un estimulador clave de la formación y maduración de osteoclastos. Un ejemplo no limitante de un inhibidor de RANKL es AMG-162.
- 20 Si se formulan como una dosis fija, tales productos de combinación emplean los compuestos de la presente invención dentro del intervalo de dosificación descrito posteriormente y el otro agente o agentes farmacéuticamente activos dentro de su intervalo de dosificación aprobado. Pueden usarse como alternativa compuestos de la presente invención secuencialmente con agente o agentes farmacéuticamente aceptables conocidos cuando una formulación de combinación es inapropiada.
- 25 El término “administración” y variantes del mismo (por ejemplo, “administrar” un compuesto) en referencia a un compuesto de la invención significa introducir el compuesto o un profármaco del compuesto en el sistema del animal que necesite tratamiento. Cuando se proporciona un compuesto de la invención o profármaco del mismo en combinación con uno o más agentes activos adicionales (por ejemplo, un agente citotóxico, etc.), se entiende que “administración” y sus variantes incluyen cada una introducción simultánea y secuencial del compuesto o profármaco del mismo y otros agentes. La presente invención incluye dentro de su alcance profármacos de los compuestos de la presente invención. En general, tales profármacos serán derivados funcionales de los compuestos de la presente invención que ya son convertibles *in vivo* en el compuesto requerido. Los ejemplos no limitantes de profármacos previstos por la presente invención incluyen ésteres que pueden hidrolizarse para proporcionar alcoholes de la presente invención; cetonas que pueden reducirse *in vivo* para proporcionar alcoholes de la presente invención. Se entiende que en algunos casos, la reducción de una cetona puede producirse de forma estereoespecífica para proporcionar predominantemente un alcohol diastereomérico sencillo. Se describen ejemplos adicionales de profármacos adecuados, junto con procedimientos convencionales para la selección y preparación de tales derivados, por ejemplo, en “Design of Prodrugs,” ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1985. Por lo tanto, en los procedimientos del tratamiento de la presente invención, el término “administrar” abarcará el tratamiento de las diversas afecciones descritas con el compuesto desvelado específicamente o con un compuesto que puede no estar desvelado específicamente, pero que se convierte al compuesto especificado *in vivo* después de su administración al paciente. Los metabolitos de estos compuestos incluyen especies activas producidas tras introducción de compuestos de la presente invención en el medio biológico.
- 30 35 40
- 45 Como se usa en el presente documento, el término “composición” pretende abarcar un producto que comprende los ingredientes especificados en las cantidades especificadas, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de la combinación de los ingredientes especificados en las cantidades especificadas.
- La expresión “cantidad terapéuticamente eficaz” como se usa en el presente documento significa la cantidad de compuesto activo o agente farmacéutico que induce la respuesta biológica o medicinal en un tejido, sistema, animal o ser humano que se busca por un investigador, veterinario, doctor en medicina u otro especialista clínico.
- 50 Los términos “tratar” o “tratamiento” de una enfermedad como se usa en el presente documento incluyen: prevenir la enfermedad, es decir, provocar que los síntomas clínicos de la enfermedad no se desarrollen en un mamífero que pueda exponerse o estar predispuesto a la enfermedad pero no experimenta ni presenta aún síntomas de la enfermedad; inhibir la enfermedad, es decir, detener o reducir el desarrollo de la enfermedad o sus síntomas clínicos; o aliviar la enfermedad, es decir, provocar regresión de la enfermedad o sus síntomas clínicos.
- 55 La expresión “reabsorción de hueso”, como se usa en el presente documento, se refiere al procedimiento por el que los osteoclastos degradan hueso.
- Las expresiones “una vez por semana” o “dosificación una vez por semana”, como se usan en el presente documento, significan que una dosificación unitaria, por ejemplo, una dosificación unitaria de un inhibidor de

cathepsina K, se administra una vez a la semana, es decir, una vez durante un período de siete días, preferentemente el mismo día de cada semana. En el régimen de dosificación una vez por semana, la dosificación unitaria se administra generalmente aproximadamente cada siete días. Un ejemplo no limitante de un régimen de dosificación una vez por semana incluiría la administración de una dosificación unitaria del inhibidor de cathepsina K cada domingo. Se recomienda habitualmente que no se administre una dosificación unitaria para administración una vez por semana en días consecutivos, sino que el régimen de dosificación una vez por semana puede incluir un régimen de dosificación en el que se administren dosificaciones unitarias en dos días consecutivos que queden dentro de dos periodos semanales diferentes.

Por dosificación "bisemanal" se entiende que se administra una dosificación unitaria del inhibidor de cathepsina K una vez durante un período de dos semanas, es decir, una vez durante un período de catorce días, preferentemente el mismo día durante cada período de dos semanas. En el régimen de dosificación dos veces por semana, cada dosificación unitaria se administra generalmente cada aproximadamente catorce días. Un ejemplo no limitante de un régimen de dosificación bisemanal implicaría la administración de una dosificación unitaria del inhibidor de cathepsina K cada dos domingos. Se prefiere que la dosificación unitaria no se administre en días consecutivos, pero el régimen de dosificación bisemanal puede incluir un régimen de dosificación en el que la dosificación unitaria se administra en dos días consecutivos dentro de dos periodos bisemanales diferentes.

Por dosificación "dos veces al mes" se entiende que se administra una dosificación unitaria del inhibidor de cathepsina K dos veces, es decir, en dos ocasiones, durante un período mensual de calendario. Con el régimen dos veces al mes, las dosis se proporcionan preferentemente en las mismas dos fechas de cada mes. En el régimen de dosificación dos veces al mes, cada dosificación unitaria se administra generalmente aproximadamente cada catorce a dieciséis días. Un ejemplo no limitante de un régimen de dosificación dos veces al mes implicaría dosificar el o aproximadamente el primer día del mes, y el o aproximadamente el quince, es decir, el punto intermedio, del mes. Se prefiere que las dosificaciones unitarias no se administren el mismo día o días consecutivos, pero el régimen de dosificación dos veces al mes puede incluir un régimen de dosificación en el que las dosificaciones unitarias se administran dos días consecutivos dentro de un período mensual, o períodos mensuales diferentes. El régimen dos veces al mes se define en el presente documento como distinto de, y que no abarca, el régimen de dosificación bisemanal debido a que los dos regímenes tienen una periodicidad diferente y da como resultado la administración de diferentes números de dosificaciones durante períodos largos de tiempo. Por ejemplo, durante un período de un año, se administraría un total de aproximadamente veinticuatro dosificaciones de acuerdo con el régimen dos veces al mes (debido a que hay doce meses de calendario en un año), mientras que se administraría un total de aproximadamente veintiséis dosificaciones de acuerdo con el régimen de dosificación bisemanal (debido a que hay aproximadamente cincuenta y dos semanas en un año).

La expresión "una vez al mes" se usa de acuerdo con el significado generalmente aceptado como una medida de tiempo que supone aproximadamente cuatro semanas, aproximadamente 30 días o 1/12 de un año de calendario.

La presente invención también abarca una composición farmacéutica útil en el tratamiento de osteoporosis u otros trastornos del hueso, que comprende la administración de una cantidad terapéuticamente eficaz de los compuestos de la presente invención, con o sin vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables. Las composiciones adecuadas de la presente invención incluyen soluciones acuosas que comprenden compuestos de la presente invención y vehículos farmacológicamente aceptables, por ejemplo, solución salina, a un nivel de pH, por ejemplo, 7,4. Las soluciones pueden introducirse en el torrente sanguíneo de un paciente por inyección de embolada local.

Cuando se administra un compuesto de acuerdo con la presente invención a un sujeto humano, la dosificación diaria normalmente se determinará por el médico que la prescribe variando la dosificación generalmente de acuerdo con la edad, peso y respuesta del paciente individual, así como la gravedad de los síntomas del paciente.

En una aplicación ejemplar, se administra una cantidad adecuada de compuesto a un mamífero que se somete a tratamiento para una afección dependiente de cathepsina. Las dosificaciones orales de la presente invención, cuando se usan para los efectos indicados, variarán entre aproximadamente 0,01 mg por kg de peso corporal por día (mg/kg/día) y aproximadamente 100 mg/kg/día, preferentemente de 0,01 a 10 mg/kg/día, y más preferentemente, 0,1 a 5,0 mg/kg/día. Para la administración oral, las composiciones se proporcionan preferentemente en forma de comprimidos que contienen 0,01, 0,05, 0,1, 0,5, 1,0, 2,5, 3,5, 5,0, 10,0, 15,0, 20,0, 25,0, 35,0, 40,0, 50,0, 80,0, 100, 200 y 500 miligramos del principio activo para el ajuste sintomático de la dosificación al paciente para tratar. Un medicamento típicamente contiene de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 500 mg del principio activo, preferentemente, de aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg de principio activo. Por vía intravenosa, las dosis más preferidas variarán de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10 mg/kg/minuto durante una infusión a velocidad constante. Provechosamente, los compuestos de la presente invención pueden administrarse en una dosis diaria sencilla, o la dosificación diaria total puede administrarse en dosis divididas de dos, tres o cuatro veces al día. Además, los compuestos de la presente invención pueden administrarse de acuerdo con un programa continuo que tiene un intervalo de dosificación de una vez por semana, bisemanal, dos veces al mes o una vez al mes. Además, pueden administrarse compuestos preferidos para la presente invención en forma intranasal mediante uso tópico de vehículos intranasales adecuados, o mediante vías transdérmicas, usando las formas de parches cutáneos transdérmicos bien conocidas por los expertos habituales en la materia. Para administrar en forma de un sistema de suministro transdérmico, la administración de dosificación será, por supuesto, continua en lugar de intermitente a lo

largo del régimen de dosificación.

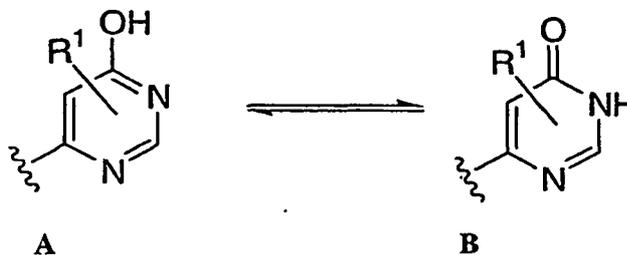
Los compuestos de la presente invención pueden usarse en combinación con otros agentes útiles para tratar afecciones mediadas por catepsina. Los componentes individuales de tales combinaciones pueden administrarse por separado en diferentes momentos durante el transcurso de terapia o simultáneamente en formas de combinación divididas o sencillas. Debe entenderse por lo tanto que la presente invención abarca todos los regímenes tales de tratamiento simultáneo o alternativo y el término "administrar" debe interpretarse en consecuencia. Se entenderá que el alcance de las combinaciones de los compuestos de la presente invención con otros agentes útiles para tratar afecciones mediadas por catepsina incluye en principio cualquier combinación con cualquier composición farmacéutica útil para tratar trastornos relacionados con actuación de estrógenos.

El alcance de la invención abarca por lo tanto el uso de los compuestos reivindicados en el presente documento en combinación con un segundo agente seleccionado de: un bisfosfonato orgánico; un modulador del receptor de estrógenos; un modulador de receptor de andrógenos; un inhibidor de protón ATPasa de osteoclastos; un inhibidor de HMG-CoA reductasa; un antagonista del receptor de integrina; un agente anabólico de osteoblastos, tal como PTH; vitamina D; un análogo de vitamina D sintético; un fármaco antiinflamatorio no esteroideo; un inhibidor de ciclooxigenasa-2 selectivo; un inhibidor de interleucina 1 beta; un inhibidor de LOX/COX; un inhibidor de RANKL; y las sales y mezclas farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Estos y otros aspectos de la invención resultarán evidentes a partir de las enseñanzas contenidas en el presente documento.

Definiciones

Los compuestos de la presente invención pueden tener centros asimétricos, ejes quirales y planos quirales (como se describe en: E. L. Eliel y S. H. Wilen, Stereochemistry of Carbon Compounds, John Wiley & Sons, Nueva York, 1994, páginas 1119-1190), y aparecen como racematos, mezclas racémicas y como diastereómeros individuales, con todos los isómeros posibles y mezclas de los mismos, incluyendo isómeros ópticos, que se incluyen en la presente invención. Además, los compuestos desvelados en el presente documento pueden existir en forma de tautómeros y ambas formas tautoméricas pretenden incluirse por el alcance de la invención, aunque sólo se representa una estructura tautomérica. Por ejemplo, cualquier mención al compuesto A que se muestra a continuación se entiende que incluye la estructura tautomérica B, y viceversa, así como mezclas de la misma.



Cuando cualquier variable (por ejemplo, R^1 , R^2 , R^3 , etc.) aparece más de una vez en cualquier constituyente, su definición en cada caso es independiente en cada caso diferente. Además, las combinaciones de sustituyentes y variables únicamente se permiten si dichas combinaciones dan como resultado compuestos estables. Las líneas dibujadas en los sistemas de anillos de los sustituyentes indican que el enlace indicado puede unirse a cualquiera de los átomos de carbono del anillo sustituibles. Si el sistema de anillos es policíclico, se pretende que el enlace se una a cualquiera de los átomos de carbono sustituibles en el anillo proximal únicamente.

Se entiende que los sustituyentes y patrones de sustitución en los compuestos de la presente invención pueden seleccionarse por un experto en la técnica para proporcionar compuestos que sean químicamente estables y que puedan sintetizarse fácilmente mediante técnicas conocidas en la técnica, así como mediante los procedimientos descritos a continuación, a partir de materiales de partida fácilmente disponibles. Si un sustituyente está sustituido con más de un grupo, se entiende que estos grupos múltiples pueden estar en el mismo carbono o en carbonos diferentes, siempre que se obtenga una estructura estable. La expresión "opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes" debe interpretarse de forma equivalente a la expresión "opcionalmente sustituido con al menos un sustituyente" y tales casos, la realización preferida tendrá de cero a tres sustituyentes.

Como se usa en el presente documento, "alquilo" pretende incluir grupos hidrocarburo alifáticos saturados tanto de cadena ramificada como lineal que tienen de uno a diez átomos de carbono, a menos que se indique otra cosa. Por ejemplo, C_1 - C_{10} , como en "alquilo C_1 - C_{10} " define que incluye grupos que tienen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 carbonos en una disposición lineal, ramificada o cíclica. Por ejemplo, "alquilo C_1 - C_{10} " específicamente incluye metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo, heptilo, octilo, nonilo, decilo, y así sucesivamente.

El término "cicloalquilo" o "carbociclo" significará anillos cíclicos de alcanos de tres a ocho átomos de carbono totales, a menos que se indique otra cosa, o cualquier número dentro de este intervalo (es decir, ciclopropilo,

ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo o ciclooctilo).

En ciertos casos, los sustituyentes pueden definirse con un intervalo de carbonos que incluyan cero, tales como alquileo (C_0-C_6)-arilo. Si arilo se toma como fenilo, esta definición incluirá el propio fenilo, así como $-CH_2Ph$, $-CH_2CH_2Ph$, $CH(CH_3)CH_2CH(CH_3)Ph$, y así sucesivamente.

- 5 Como se usa en el presente documento, "arilo" pretende indicar cualquier anillo de carbono monocíclico o bicíclico estable de hasta 12 átomos en cada anillo, en el que al menos un anillo es aromático. Los ejemplos de dichos elementos arilo incluyen fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, indanilo, bifenilo, fenantrilo, antrilo o acenafilo. En los casos en los que el sustituyente arilo sea bicíclico y un anillo no sea aromático se entenderá que la unión se realiza a través del anillo aromático.
- 10 El término "heteroarilo", como se usa en el presente documento, representa un anillo monocíclico, bicíclico o tricíclico estable de hasta 10 átomos en cada anillo, en el que al menos un anillo es aromático y contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en O, N y S. Los grupos heteroarilo dentro del alcance de esta definición incluyen pero sin limitación: benzoimidazolilo, benzofuranilo, benzofurazanilo, benzopirazolilo, benzotriazolilo, benzotiofenilo, benzoxazolilo, carbazolilo, carbolinilo, cinnolinilo, furanilo, indolinilo, indolilo, indolazolinilo, indazolilo, isobenzofuranilo, isoindolilo, isoquinolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, naftipiridinilo, oxadiazolilo, oxazolilo, oxazoline, isoxazoline, piranilo, pirazinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridopiridinilo, piridilo, pirimidinilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolilo, quinoxalinilo, tetrazolilo, tetrazolopiridilo, tiadiazolilo, tiazolilo, tienilo, triazolilo, dihidrobenzoimidazolilo, dihidrobenzofuranilo, dihidrobenzotiofenilo, dihidrobenzoxazolilo, dihidroindolilo, dihidroquinolinilo, metilendioxibenceno, benzotiazolilo, benzotienilo, quinolinilo, isoquinolinilo, oxazolilo y tetra-
- 15 hidroquinolina. En los casos en los que el sustituyente heteroarilo sea bicíclico y un anillo no sea aromático o no contenga heteroátomos, se entenderá que la unión se realiza a través del anillo aromático o a través del anillo que contiene el heteroátomo, respectivamente. Si el heteroarilo contiene átomos de nitrógeno, se entenderá que los N-óxidos correspondientes de los mismos también se incluyen en esta definición.

- 20 Como se apreciará por los expertos en la técnica, "halo" o "halógeno", como se usa en el presente documento, pretende incluir cloro, flúor, bromo y yodo. El término "ceto" significa carbonilo (C-O).

- 25 La presente invención también incluye derivados N-óxido y derivados protegidos de compuestos de Fórmula I. Por ejemplo, cuando los compuestos de Fórmula I contienen un átomo de nitrógeno que puede oxidarse, el átomo de nitrógeno puede convertirse en un N-óxido mediante procedimientos bien conocidos en la técnica. Además, cuando los compuestos de Fórmula I contienen grupos, tales como hidroxilo, carboxilo, tiol o cualquier grupo que contenga uno o más átomos de nitrógeno, estos grupos pueden estar protegidos con un grupo protector adecuado. Puede encontrarse una lista completa de grupos protectores adecuados en T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, Inc. 1981. Los derivados protegidos de compuestos de Fórmula I pueden prepararse mediante procedimientos bien conocidos en la técnica.

- 30 Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención incluyen las sales no tóxicas convencionales de los compuestos de esta invención formadas con ácidos inorgánicos u orgánicos. Por ejemplo, las sales no tóxicas convencionales incluyen las obtenidas a partir de ácidos inorgánicos, tales como clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, sulfámico, fosfórico, nítrico y similares, así como sales preparadas a partir de ácidos orgánicos, tales como acético, propiónico, succínico, glicólico, esteárico, láctico, málico, tartárico, cítrico, ascórbico, pamoico, maleico, hidroximaleico, fenilacético, glutámico, benzoico, salicílico, sulfanílico, 2-acetoxi-benzoico, fumárico, toluenosulfónico, metanosulfónico, etano disulfónico, oxálico, isetiónico, trifluoroacético y similares. La preparación de las sales farmacéuticamente aceptables que se han descrito anteriormente y otras sales farmacéuticamente aceptables típicas se describe más completamente por Berg y col., "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci., 1977: 66: 1-19. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de esta invención pueden sintetizarse a partir de los compuestos de esta invención que contienen un resto básico o ácido mediante procedimientos químicos convencionales. Generalmente, las sales de los compuestos básicos se preparan mediante cromatografía de intercambio iónico o haciendo reaccionar la base libre con cantidades estequiométricas o con un exceso del ácido inorgánico u orgánico de formación de sales deseado en un disolvente adecuado o diversas combinaciones de disolventes. De forma análoga, las sales de los compuestos ácidos se forman por reacciones con la base inorgánica u orgánica apropiada.

- 50 Para los fines de esta memoria descriptiva, las siguientes abreviaturas tienen los significados indicados:

i-BuCOCl =	cloroformiato de isobutilo
t-BuMe ₂ SiCl =	tertio-butildimetilclorosilano
BuLi =	butil litio
CH ₂ Cl ₂ =	cloruro de metileno
CH ₃ CN =	Cianuro de metilo

CrO ₃ =	Cromato
DAST =	Trifluoruro de dietilaminoazufre
DMF =	N,N-dimetilformamida
DMSO =	dimetilsulfóxido
DTT =	ditiotreitól
EDTA =	Ácido etilendiaminatetraacético
EtOH =	etanol
KOH =	hidróxido potásico
HATU =	hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio
HCl =	ácido clorhídrico
H ₅ IO ₆ =	Ácido peryódico
MeMgBr =	bromuro de metil magnesio
MgSO ₄ =	sulfato de magnesio
Na ₂ CO ₃ =	carbonato sódico
NaCl =	cloruro sódico
NH ₄ Cl =	Cloruro de amonio
Na ₂ BH ₄ =	borohidruro sódico
PdCl ₂ (dppf) =	[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II)
PG =	grupo protector
ta =	temperatura ambiente
ac. sat. =	Acuoso saturado
SiO ₂ =	Sílice
TBAF =	Fluoruro de tetrabutilamonio
THF =	tetrahidrofurano
tlc =	Cromatografía de capa fina
(Ts) ₂ O =	anhídrido p-toluenosulfónico
Me =	Metilo
Et =	etilo

Los nuevos compuestos de la presente invención pueden prepararse de acuerdo con los siguientes procedimientos generales usando los materiales apropiados y se ilustran adicionalmente por los siguientes ejemplos específicos. Sin embargo, no se interpretará que los compuestos ilustrados en los ejemplos formen el único género que se considera como la invención. Los siguientes ejemplos ilustran adicionalmente detalles para la preparación de los compuestos de la presente invención. Los expertos en la técnica entenderán fácilmente que pueden usarse variaciones conocidas de las condiciones y procedimientos de los siguientes procedimientos preparativos para preparar estos compuestos. Todas las temperaturas están en grados Celsius a menos que se indique otra cosa.

5

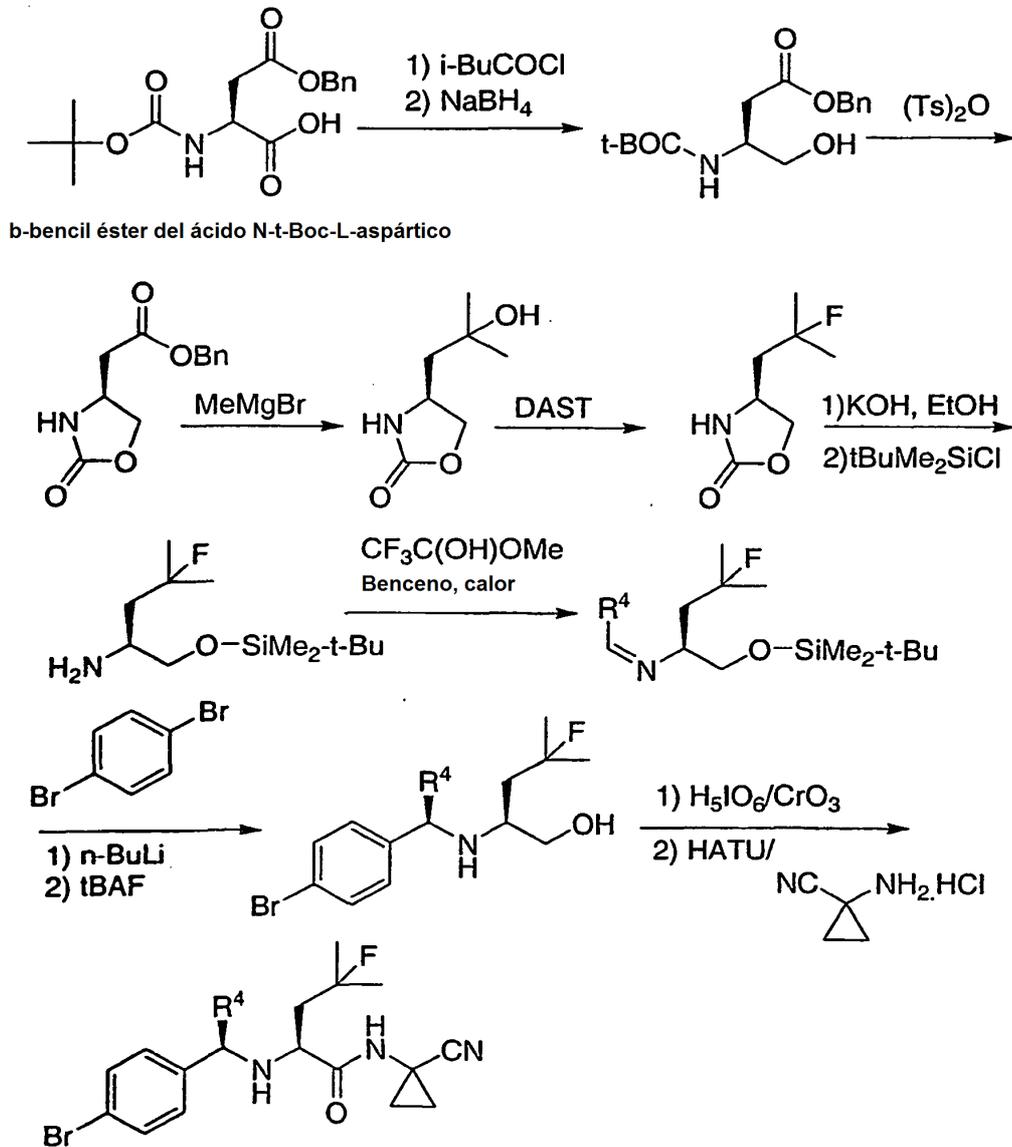
Como se describe en el Ejemplo 12 y el Esquema 1, partiendo de un beta bencil éster del ácido N-t-Boc-aspartico disponible en el mercado, el ácido libre se activo a través del procedimiento de anhídrido mixto (véase, Chen, F. M. F.; Lee, Y; Steinauer, R., Benoiton, N. L., Can. J. Chem. 1987, 65, 613-618), para la reducción con borohidruro sódico. El alcohol se convirtió en un grupo saliente y la ciclación *in situ* para dar el carbamato tuvo lugar después del calentamiento. El éster se trató con un exceso del reactivo de Grignard para producir el alcohol terciario soluble en agua. El último se trató con DAST para obtener el producto fluorado. La hidrólisis del carbamato cíclico y la sililación

10

del alcohol resultante dieron la amina primaria. La imina se formó tras la retirada azeotrópica de los productos volátiles. La monolitación de 1,4-dibromobenceno proporcionó un nucleófilo que reaccionó muy bien con la imina para generar la amina secundaria. El alcohol se desprotegió y se oxidó para producir el ácido. La formación de amida convencional proporcionó el intermedio de bromo versátil.

5

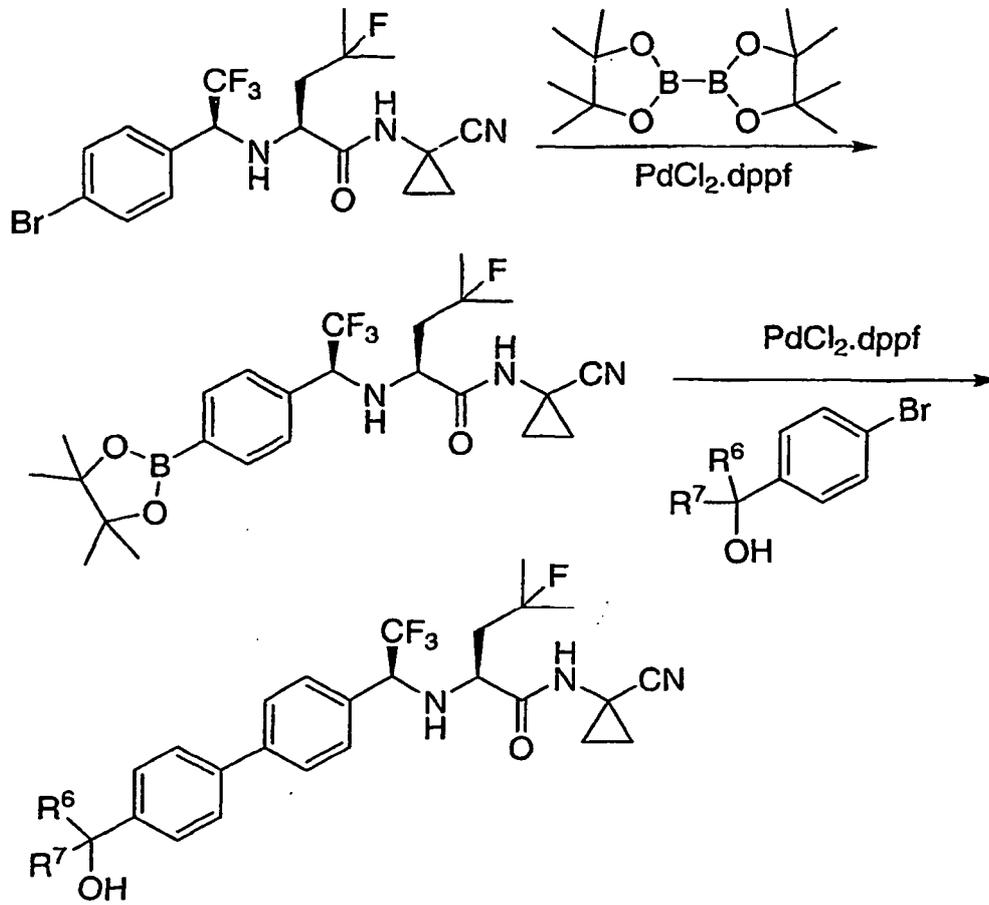
ESQUEMA 1



El bromo obtenido en el Esquema 1 puede convertirse en un boronato éster en condiciones de reacción mediadas por paladio como se muestra en el Esquema 2. A su vez, el boronato éster resultante se convierte fácilmente en un producto biarilo tras el acoplamiento con un bromuro en condiciones mediadas por paladio.

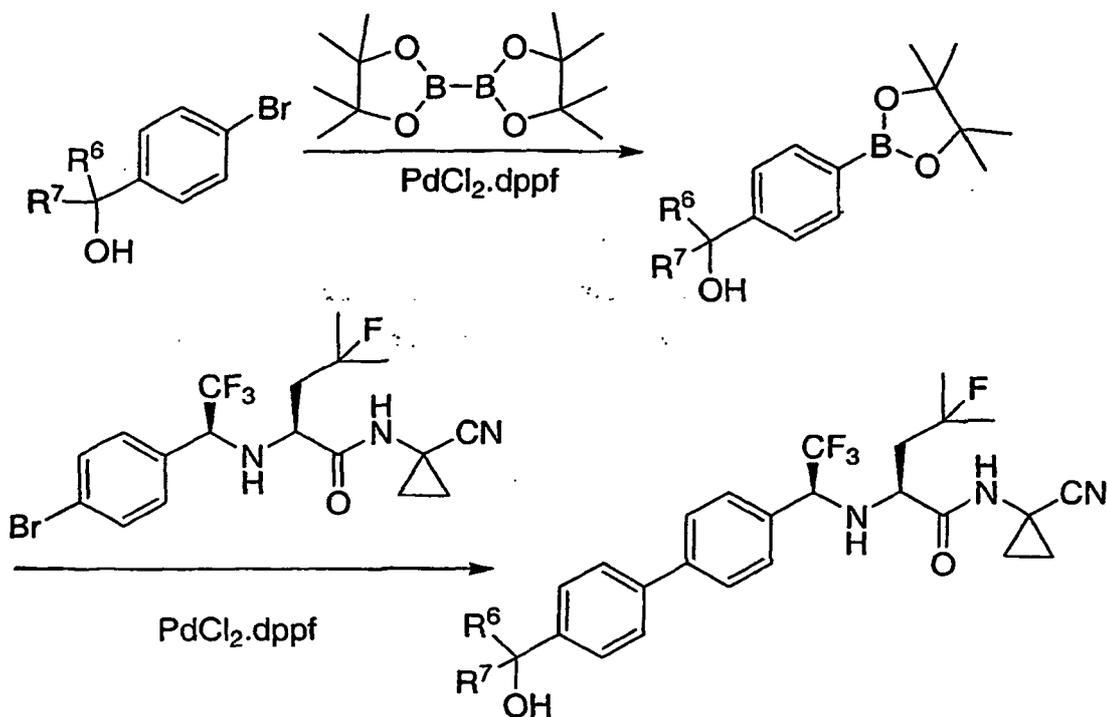
10

ESQUEMA 2



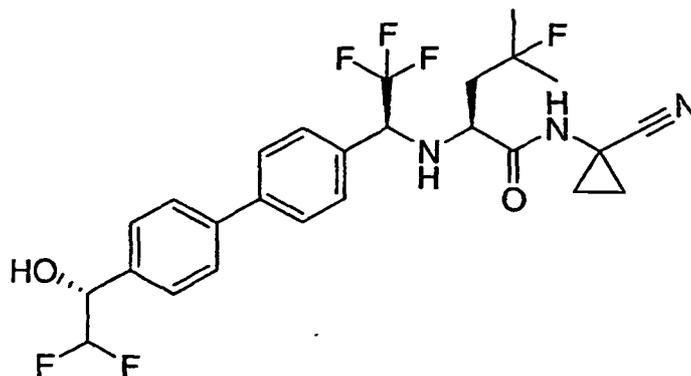
5 Como alternativa, se muestra en el Esquema 3 que un bromuro de arilo puede convertirse en un boronato éster en catálisis de paladio. En una reacción mediada por paladio, este boronato éster puede acoplarse con el bromuro que se ha descrito en el Esquema 1 para producir un compuesto biarilo.

ESQUEMA 3



Ejemplo 1

5 Síntesis de N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-(4'-[(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxietil]bifenil-4-il)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida



Etapa 1: Preparación de 1-(4-bromofenil)-2,2-difluoroetanol

10 A una solución agitada fría (-78 °C) de 1,4-dibromobenceno (86,4 g, 366 mmol) en tetrahidrofurano (800 ml) se le añadió n-butil litio (228 ml, 1,6 M en hexanos, 366 mmol). Esta se agitó a -78 °C durante 30 min y a esta suspensión se le añadió difluoroacetato de etilo (50 g, 402 mmol) durante 2 min. Se agitó a -78 °C durante 1 h. La reacción se interrumpió con ácido clorhídrico 1 N (250 ml) y se dejó calentar a temperatura ambiente. El medio se diluyó con metil terc-butil éter (250 ml) y las fases se separaron. El producto orgánico se lavó con salmuera (100 ml), se secó (MgSO₄) y se concentró a presión reducida. El residuo se destiló al vacío, obteniendo la difluorocetona en forma de un sólido vítreo de color blanco.

15 Etapa 2: Preparación de (1R)-1-(4-bromofenil)-2,2-difluoroetanol (Análogo a: Ramachandran, P. V. y col., Tet. Asym. 1994, Vol. 5, N° 6, págs. 1075-86.)

La cetona que se ha preparado en la etapa 1 ejemplo 1 (2,35 g, 10 mmol) y el R-Alpine Borane comercial (3,1 g, 12 mmol) se mezclaron a temperatura ambiente y se agitaron durante cuatro días con algo de desprendimiento de gas.

Después de cuatro días, la RMN ¹H de un alícuota mostró el consumo total de la cetona. La reacción se enfrió a 0 °C para la adición de acetaldehído (168 ul, 3 mmol). El baño se retiró y la agitación continuó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió éter dietílico (20 ml) seguido de etanolamina (725 ul, 12 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. El precipitado se retiró por filtración y se lavó con pentano. El filtrado se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía ultrarrápida (hexanos al 90%; acetato de etilo al 10% a hexanos al 70%; acetato de etilo al 30%), dando el material deseado en forma de un aceite incoloro. La pureza óptica no se comprobó en este punto.

Etapa 3: Preparación de N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]etil)-L-leucinamida

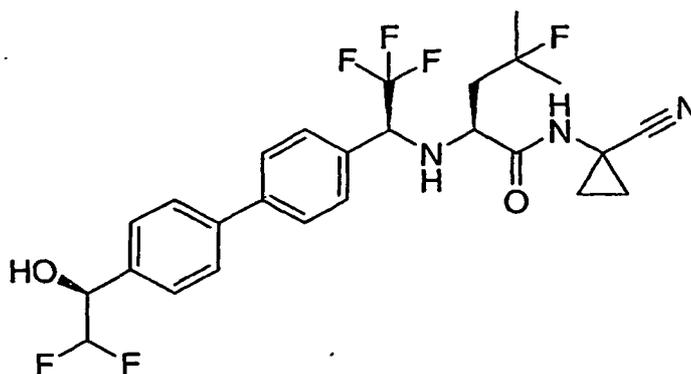
Se agitaron N²-[(1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetil]-N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-L-leucinamida de la etapa 9 en el ejemplo 12 (24 g, 53 mmol), bis(pinacolato)diboro (15,24 g, 60 mmol) y acetato potásico (16,2 g, 165 mmol) en dioxano (240 ml) y después se burbujeó nitrógeno a través de una pipeta durante 15 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfina)ferroceno] dicloropaladio (II), complejo 1:1 con diclorometano (PdCl₂dppf·CH₂Cl₂, 2,4 g, 3 mmol) y la mezcla de reacción se sumergió en un baño de aceite a 80 °C durante 105 minutos en una atmósfera de nitrógeno. La RMN ¹H de un alícuota mostró el consumo total del bromuro. La reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y la mayor parte del disolvente se retiró a presión reducida. El residuo se disolvió en un mínimo de diclorometano y se filtró sobre una capa de sílice. Se recogieron dos fracciones y se concentraron a presión reducida, dando unos sólidos. La fracción menos polar se agitó a temperatura ambiente durante una noche en hexanos al 90%; una mezcla de éter dietílico al 10%, y la fracción más polar se agitó a 0 °C durante una noche en hexanos. Ambos dieron un material puro en forma de sólidos de color blanquecino.

Etapa 4: Preparación de N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-[4'-(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxietil]bifenil-4-il)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida

El boronato éster de la etapa 3 del ejemplo 1 (20 g, 40 mmol) y el bromuro de arilo de la etapa 2 del ejemplo 1 (11,4 g, 48 mmol) se disolvieron en dimetilformamida (400 ml) seguido de una solución acuosa de bicarbonato sódico (60 ml, 120 mmol). Después, se burbujeó nitrógeno a través de una pipeta durante 15 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfina)ferroceno]dicloropaladio (II), complejo 1:1 con diclorometano (PdCl₂dppf·CH₂Cl₂, 2,4 g, 3 mmol) y la mezcla de reacción se sumergió en un baño de aceite a 80 °C durante 16 horas en una atmósfera de nitrógeno. La mayor parte de la dimetilformamida se retiró en el evaporador rotatorio a baja presión (45 °C, aprox. 0,13-0,67 kPa). El residuo se disolvió en acetato de etilo (400 ml) y se filtró sobre una capa de Celite. El filtrado se concentró a presión reducida. El residuo se recogió en aprox. 10 ml de diclorometano y se separó por cromatografía ultrarrápida. Las fracciones más puras se barrieron en hexanos (100 ml) a 0 °C durante una noche tres veces y se retiraron de nuevo (hexanos al 90%; acetato de etilo al 10% a hexanos al 45%; acetato de etilo al 55%). Después de la evaporación de los volátiles a presión reducida, el sólido se agitó en hexanos durante 2 días. El producto todavía contenía un 4% de pinacol, por lo que el lote se dividió en dos. La fracción A se disolvió en un mínimo de alcohol isopropílico con calentamiento suave. Se añadieron hexanos hasta que la solución se volvió un poco turbia y se dejó enfriar. Aparecieron cristales de color blanco y la reacción se enfrió adicionalmente a 0 °C durante 15 minutos. Los sólidos se recogieron por filtración, obteniendo el producto no contaminado con pinacol. La fracción B se agitó en éter dietílico al 20%; acetato de etilo al 1%; hexanos al 79% (100 ml) durante 3 horas a temperatura ambiente. Los sólidos se recogieron por filtración, contaminados únicamente con aproximadamente al 1% por RMN ¹H. El exceso enantiomérico se verificó por AD-RH quiral usando acetonitrilo al 32%; agua al 68%; ácido fórmico al 0,1%; isocrático (24 min para el enantiómero y 27 minutos para la molécula deseada). (MH)⁺ IEN = 528,0,

Ejemplo 2

Síntesis de N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-[4'-(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxietil]bifenil-4-)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida

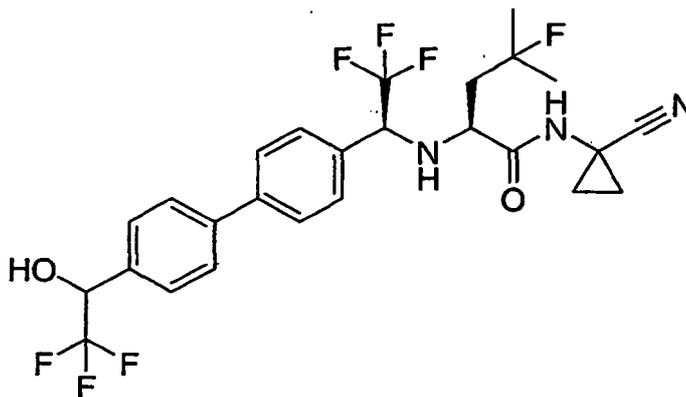


Etapa 1: Preparación de (1S)-1-(4-bromofenil)-2,2-difluoroetanol

La cetona preparada en la etapa 1 del ejemplo 1 (2,35 g, 10 mmol) y S-Alpine Borane comercial (3,1 g, 12 mmol) se mezclaron a temperatura ambiente y se agitaron durante cuatro días con algo de desprendimiento de gas. Después de cuatro días, la RMN ¹H de un alícuota mostró la presencia de material de partida. Se añadió más cantidad de S-Alpine Borane (1 ml) y la agitación continuó durante 2 días más. RMN ¹H de un alícuota mostró el consumo total de la cetona. La reacción se enfrió a 0 °C para la adición de acetaldehído (393 ul, 7 mmol). El baño se retiró y la agitación continuó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añadió éter dietílico (20 ml) seguido de etanolamina (966 ul, 16 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una hora. El precipitado se retiró por filtración y se lavó con pentano. El filtrado se concentró a presión reducida y se purificó por cromatografía ultrarrápida (hexanos al 90%; acetato de etilo al 10% a hexanos al 70%; acetato de etilo al 30%), dando el material deseado en forma de un aceite incoloro.

Etapa 2: Preparación de N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-[4'-(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxietyl]bifenil-4-il)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida

El boronato éster de la etapa 3 en el ejemplo 1 (200 mg, 0,40 mmol) y el bromuro de arilo de la etapa 1 en el ejemplo 2 (114 mg, 0,48 mmol) se trataron como en la etapa 4 del ejemplo 1, proporcionando un sólido de color blanco. (MH)⁺ IEN = 528,0

Ejemplo 3Síntesis de N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietyl)bifenil-4-il]etyl)-L-leucinamidaEtapa 1: Preparación de 1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetanol

A una solución a temperatura ambiente de 4'-bromo-2,2,2-trifluoroacetofenona comercial (100 mg) en 1,9 ml de metanol se le añadió borohidruro sódico (15 mg). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. Se añadió agua, se extrajo con metil t-butil éter (3 x 20 ml) y se lavó con agua y salmuera. Se secó con sulfato de magnesio y el disolvente se retiró a presión reducida, produciendo el compuesto del título, y éste se usó tal cual para la siguiente etapa.

RMN ¹H del compuesto del título (CDCl₃) δ (ppm): 7,55 (2H, d), 7,35 (2H, d), 4,92-5,05 (1H, m), 3,20 (1H, s).

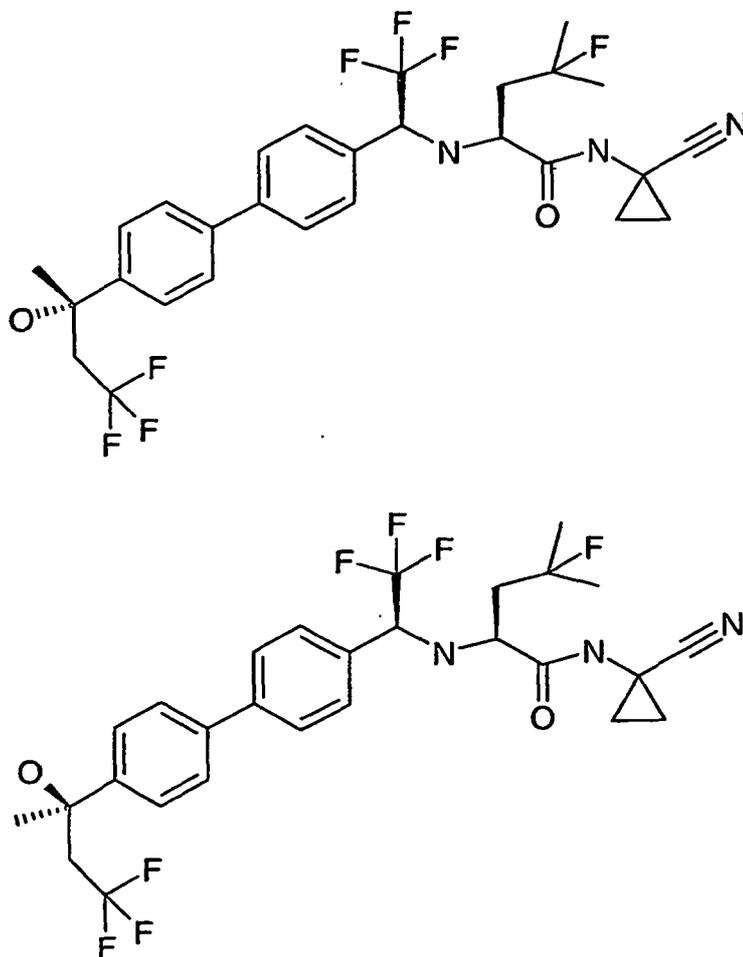
Etapa 2: Preparación de N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietyl)bifenil-4-il]etyl)-L-leucinamida

Una corriente de nitrógeno se pasó a través de una solución de DMF (4 ml), N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]etyl)-L-leucinamida descrita en la etapa 3 del ejemplo 1 (150 mg), 1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetanol de la etapa 1 en el ejemplo 3 (92 mg) y Na₂CO₃ 2 M (750 μl) durante 15 minutos seguido de la adición de [1,1'-bis(difenilfosino)-ferroceno]dicloropaladio (II), complejo (1:1) con diclorometano (12 mg). La mezcla se calentó a 80 °C durante 3 horas en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se vertió en hielo (20 g) y bicarbonato sódico acuoso saturado (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo al 50% en éter dietílico (3 x 50 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera y se secaron con sulfato de magnesio. La retirada del disolvente dejó un residuo que se purificó por cromatografía sobre SiO₂ usando acetato de etilo y hexanos (del 20 al 50%) como eluyente, seguido de trituración usando éter dietílico y hexanos para producir el compuesto del título.

RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 8,18 (1H, s), 7,60-7,70 (4H, m), 7,50-7,55 (1H, m), 7,33 (1H, d), 7,28 (1H, d), 6,40 (1H, s a), 4,38-4,48 (1H, m), 3,56 (1H, t), 2,67-2,69 (1H, m), 1,92-2,01 (2H, m), 1,45-1,46 (10H, m), 1,05-1,11 (3H, m), 0,92-0,99 (1H, m), 0,56-0,60 (2H, m), 0,36-0,38 (2H, m).

Ejemplo 4

Síntesis de N^1 -(1-cianociclopropil)-4-fluoro- N^2 -((1S)-2,2,2-trifluoro-1-(4'-((1S)-3,3,3-trifluoro-1-hidroxi-1-metilpropil)bifenil-4-il)etil)-L-leucinamida y N^1 -(1-cianociclopropil)-4-fluoro- N^2 -((1S)-2,2,2-trifluoro-1-(4'-((1R)-3,3,3-trifluoro-1-hidroxi-1-metilpropil)bifenil-4-il)etil)-L-leucinamida



5

Etapa 1: Preparación de 2-(4-Bromofenil)-4,4,4-trifluorobutan-2-ol

A una solución de 1,4-dibromobenceno (2,5 g, 10,6 mmol) en THF (50 ml) a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ se le añadió n-BuLi (6,5 ml, 10,4 mmol; 1,6 M en hexanos) y la mezcla se agitó a $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 15 min. Después, se añadió 4,4,4-trifluoro-2-butanona (1,3 g, 10,3 mmol). Después de una agitación adicional durante 15 min, la mezcla se inactivó con NH_4Cl acuoso y se extrajo con acetato de etilo. La purificación por cromatografía ultrarrápida combinada (columna de 40 g; se eluyó con hexanos-acetato de etilo (10% -20%) en 20 min; caudal: 35 ml/min y se recogieron 18 ml/fracción) proporcionó el compuesto del título en forma de un líquido de color pardo claro.

RMN ^1H (CD_3COCD_3) δ (ppm): 7,5 (4H, m), 4,64 (1H, s), 1,64 (3H, s).

10

15

Etapa 2: Preparación de N^1 -(1-cianociclopropil)-4-fluoro- N^2 -((1S)-2,2,2-trifluoro-1-(4'-((1S)-3,3,3-trifluoro-1-hidroxi-1-metilpropil)bifenil-4-il)etil)-L-leucinamida y N^1 -(1-cianociclopropil)-4-fluoro- N^2 -((1S)-2,2,2-trifluoro-1-(4'-((1R)-3,3,3-trifluoro-1-hidroxi-1-metilpropil)bifenil-4-il)etil)-L-leucinamida

20

25

Una corriente de nitrógeno se pasó a través de una solución de DMF (5 ml), N^1 -(1-cianociclopropil)-4-fluoro- N^2 -((1S)-2,2,2-trifluoro-1-(4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)etil)-L-leucinamida descrita en la etapa 3 del ejemplo 1 (150 mg), 2-(4-bromofenil)-4,4,4-trifluorobutan-2-ol de la etapa 1 en el ejemplo 4 (100 mg) y Na_2CO_3 2 M (360 μl) durante 15 minutos seguido de la adición de [1,1'-bis(difenilfosfino)-ferroceno]dicloropaldio (II), complejo (1:1) con diclorometano (5 mg). La mezcla se calentó a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 3 horas en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se vertió en hielo (20 g) y bicarbonato sódico acuoso saturado (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo al 50% en éter dietílico (3 x 50 ml). Los extractos combinados se lavaron con salmuera y se secaron con sulfato de magnesio. La retirada del disolvente dejó un residuo que se purificó por cromatografía sobre gel de sílice usando un sistema de bombeo de gradiente automatizado CombiFlash (acetato de etilo/Hexano, de 20:80 a 50:50 durante 25 minutos) seguido de trituración usando éter dietílico y hexanos, produciendo la mezcla

de dos diastereómeros.

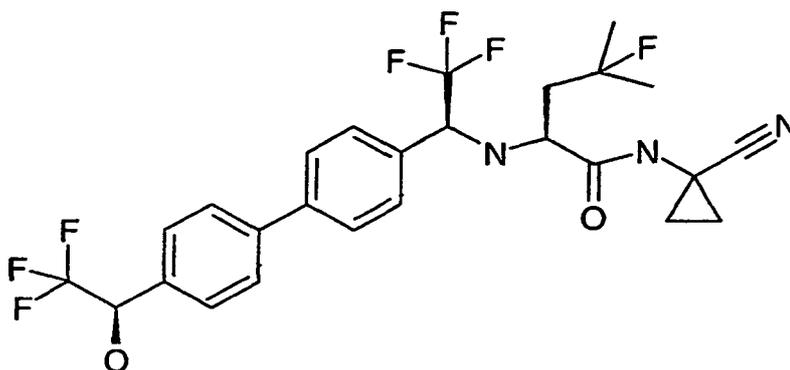
Para la separación, se inyectó una solución de 200 μ l de la mezcla de los dos diastereómeros (concentración a 50 μ g/ μ l en el 33% de 2-propanol y 67% al hexanos) de N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-{(1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(3,3,3-trifluoro-1-hidroxi-1-metilpropil)bifenil-4-il]etil}-L-leucinamida en Chiralcel OD, 250 x 20 mm (OD00C-CK004) usando el 33% de 2-propanol en hexanos como disolventes, el flujo a 6 ml/min y la detección a 260 nm. Después de varias inyecciones, se aisló N¹-(1-cianociclopropil)-N²-{(1S)-1-{4'-[(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil}-4-fluoro-L-leucinamida de las primeras fracciones de elución y se aisló N¹-(1-cianociclopropil)-N²-{(1S)-1-{4'-[(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil}-4-fluoro-L-leucinamida de las segundas fracciones de elución.

10 Primer diastereómero de elución: RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 8,19 (1H, s), 7,74-7,68 (6H, m), 7,57 (2H, d), 4,60 (1H, s), 4,42-4,36 (1H, m), 3,57-3,53 (1H, m), 2,78-2,88 (2H, m), 1,94-2,00 (2H, m), 1,73 (3H, s), 1,49-1,31 (8H, m), 1,07-1,13 (1H, m), 1,00-0,90 (1H, m), no se observó NH de trifluoroetilamina. (MH)⁺ IQPA = 573,9. La estereoquímica es tentativa.

15 Segundo diastereómero de elución: RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 8,19 (1H, s), 7,74-7,68 (6H, m), 7,57 (2H, d), 4,60 (1H, s), 4,42-4,36 (1H, m), 3,57-3,53 (1H, m), 2,78-2,88 (2H, m), 1,94-2,00 (2H, m), 1,73 (3H, s), 1,49-1,31 (8H, m), 1,07-1,13 (1H, m), 1,00-0,90 (1H, m), no se observó NH de trifluoroetilamina. (MH)⁺ IQPA = 574,0. La estereoquímica es tentativa.

Ejemplo 5

20 Síntesis de N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-{(1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(R)-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi)etil]bifenil-4-il]etil}-L-leucinamida



Etapa 1: Preparación de (R)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]etanol

25 Una suspensión de (R)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetanol (2,26 g, 8,86 mmol), bis(pinacolato)diboro (2,9 g, 11 mmol) y acetato potásico (3 g, 30 mmol) en DMF (80 ml) se burbujeó con nitrógeno durante 15 minutos, se añadió [1,1-Bis(difenilfosfina)ferroceno]dicloropaldio (II), complejo 1:1 con diclorometano (362 mg, 0,44 mmol) y se burbujeó de nuevo con nitrógeno durante 10 minutos. La mezcla de reacción se agitó a 85 °C durante 2 h, se vertió sobre hielo y agua y se extrajo con acetato de etilo (2 x 80 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una solución saturada de NaCl, se secaron (MgSO₄) y se concentraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo/Hexano, de 5:95 a 20:80 durante 25 minutos, y después 20:80 durante 5 minutos), proporcionando el producto del título.

30 RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 7,8 (2H, d), 7,55 (2H, d), 5,9 (1H, OH), 5,2-5,3 (1H, m), 1,3 (12H, s).

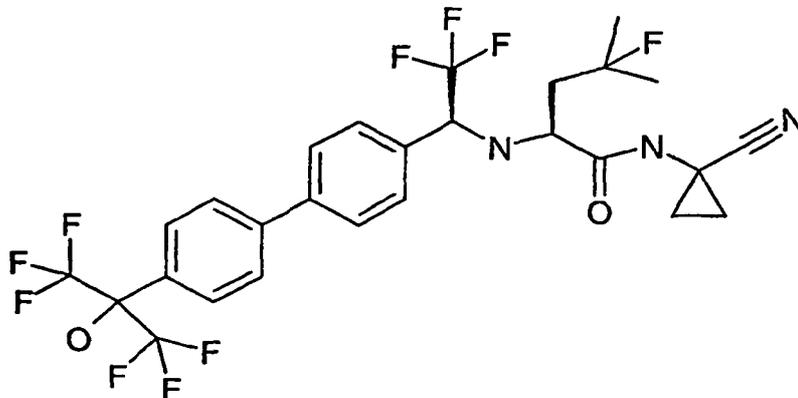
Etapa 2: Preparación de N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-{(1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(R)-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi)etil]bifenil-4-il]etil}-L-leucinamida

35 El boronato éster de la etapa 1 en el ejemplo 5 (250 mg, 0,83 mmol) y N²-[(1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetil]-N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-L-leucinamida (374 mg, 0,83 mmol) de la etapa 9 en el ejemplo 12 se acoplaron como en la etapa 4 del ejemplo 1, proporcionando el compuesto del título en forma de un polvo de color blanquecino.

40 RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 8,1-8,2 (1H, s a), 7,75-7,8 (4H, m), 7,7 (2H, m), 7,6 (2H, m), 5,9 (1H, m), 5,25-5,35 (1H, m), 4,35 (1H, m), 3,5-3,6 (1H, m), 1,9-2,1 (2H, m), 1,2-1,6 (8H, m), 0,9-1,1 (2H, m); no se observó NH. (MH)⁺ IEN = 545,8.

Ejemplo 6

Síntesis de N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-1-(trifluorometil)etil)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida



5 Etapa 1: Preparación de 2-(4-bromofenil)-,1,1,1,3,3,3-hexafluoropropan-2-ol

A una solución a -78 °C de dibromobenceno (4,7 g) en tetrahidrofurano (100 ml) se le añadió n-butil litio (8 ml; 2,5 M en hexanos) y la mezcla se agitó durante 15 minutos. Después, se pasó una corriente suave de hexafluoroacetona a través de la suspensión durante aproximadamente 15 minutos. Después, la mezcla se dejó reaccionar durante 1 hora. Se vertió en hielo y cloruro de amonio diluido y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se secó con sulfato de magnesio y el disolvente se retiró a presión reducida usando un calor mínimo. El residuo se pasó sobre un lecho corto de SiO₂ usando acetato de etilo al 10%/hexanos al 90% como eluyente, produciendo el alcohol terciario. RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 7,75-7,8(4H, s), 7,65(1H, OH).

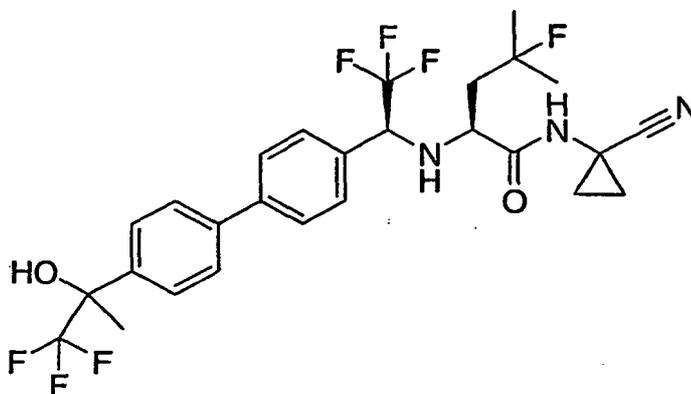
Etapa 2: Preparación de N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-1-(trifluorometil)etil)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida

15 Se acoplaron N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil]etil)-L-leucinamida descrita en la etapa 3 del ejemplo 1, (220 mg, 0,44 mmol) y el bromuro de la etapa 1 en el ejemplo 6 (323 mg, 1 mmol) como en la etapa 4 del ejemplo 1, proporcionando el compuesto del título en forma de una espuma.

20 RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 8,2 (1H, s a), 7,85-7,95 (4H, m), 7,75-7,8 (2H, d), 7,6 (2H, d), 7,55 (1H, OH), 4,4 (1H, m), 3,55 (1H, m), 2,8-2,9 (1H, m), 1,9-2,1 (2H, m), 1,4-1,5 (6H, m), 1,3-1,4 (2H, m), 1,1 (1H, m), 0,95 (1H, m). (MH)⁺ IEN = 614,1.

Ejemplo 7

Síntesis de N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-1-metiletil)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida



25

Etapa 1: Preparación de 2-(4-bromofenil)-1,1,1-trifluoropropan-2-ol

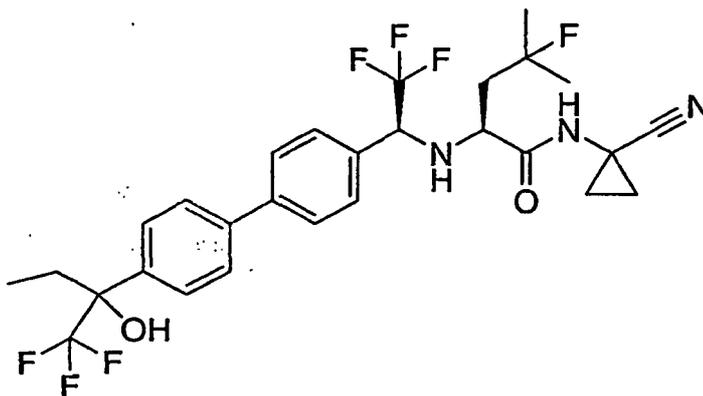
- 5 Se enfrió 1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetanol comercial (1 g, 4 mmol) en éter dietílico (8 ml) a -78 °C para la adición de bromuro de metilmagnesio comercial (2,65 ml, 7,9 mmol, 3 M en éter dietílico). Se dejó que medio de reacción turbio alcanzara la temperatura ambiente y se agitó durante una noche. La mezcla de reacción se transfirió a un embudo de decantación que contenía ácido clorhídrico 1,2 M (20 ml). Esta fase acuosa se extrajo 3 veces con acetato de etilo (30 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio y se concentraron a presión reducida. El aceite transparente se purgó lo suficiente para usarlo sin purificación adicional.

10 Etapa 2: Preparación de N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-1-metiletil)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida

El boronato éster de la etapa 3 en el ejemplo 1 (250 mg) y el bromuro de la etapa 1 en el ejemplo 7 (150 mg) se acoplaron como en la etapa 4 del ejemplo 1, proporcionando el compuesto del título en forma de un polvo de color blanco.
(MH)⁺ IEN = 560

15 **Ejemplo 8**

Síntesis de N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(1-hidroxi-1-(trifluorometil)propil)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida

Etapa 1: Preparación de 2-(4-Bromofenil)-1,1,1-trifluorobutan-2-ol

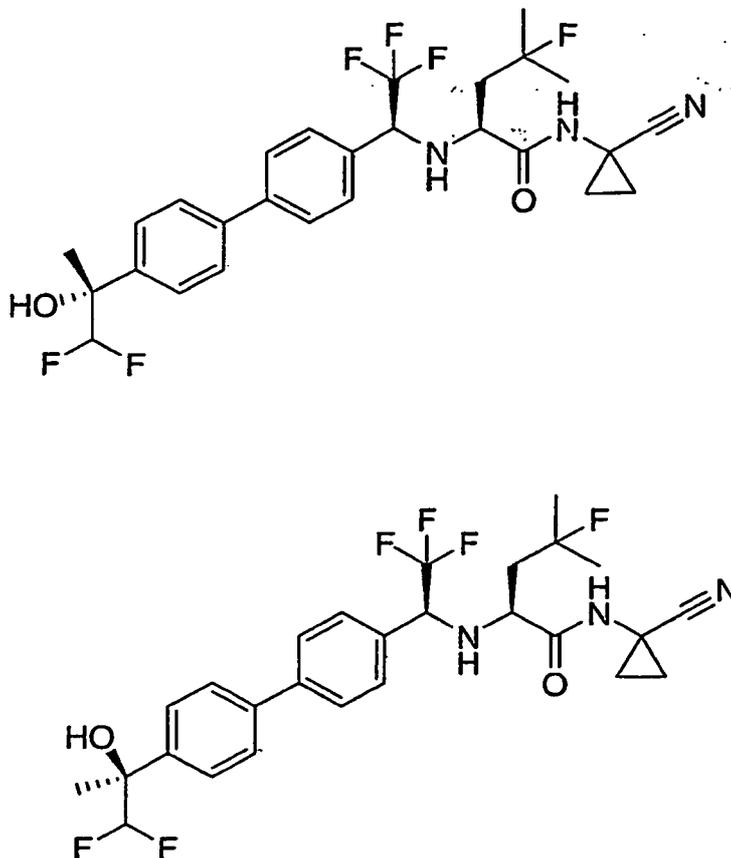
- 20 A una solución de 1,4-dibromobenceno (2,5 g, 10,6 mmol) en THF (50 ml) a -78 °C se le añadió n-BuLi (6,5 ml, 10 mmol; 1,6 M en hexanos) y la mezcla se agitó a -78 °C durante 15 min. Después, se añadió 1,1,1-trifluoro-2-butanona (1,3 g, 10 mmol). Después de una agitación adicional durante 15 min, la mezcla se inactivó con NH₄Cl acuoso y se extrajo con acetato de etilo. La purificación por cromatografía ultrarrápida combinada (columna de 40 g; se eluyó con hexanos-acetato de etilo (10%-20%) en 20 min; caudal: 35 ml/min y se recogieron 18 ml/fracción),
25 produciendo el compuesto del título en forma de un líquido incoloro.
RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 7,58 (m, 5H), 5,52 (s, 1H), 2,28 (m, 1H), 2,10 (m, 1H).

Etapa 2: Preparación de N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(1-hidroxi-1-(trifluorometil)propil)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida

- 30 El boronato éster de la etapa 3 en el ejemplo 1 (150 mg) y el bromuro de la etapa 1 en el ejemplo 8 (100 mg) se acoplaron como en la etapa 4 del ejemplo 1, proporcionando el compuesto del título en forma de un polvo de color blanco.
(MH)⁺ IEN = 574

Ejemplo 9

Síntesis de N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-(4'-[(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida y N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-(4'-[(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida



5

Etapa 1: Preparación de 2-(4-Bromofenil)-1,1-difluoropropan-2-ol

A una solución de 1-(4-bromofenil)-2,2-difluoroetanona (2,5 g, 10,6 mmol) en THF (60 ml) se le añadió cloruro de metilmagnesio (10 ml, 30 mmol; 3 M en THF) a 0 °C durante 10 min y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. Un tratamiento mínimo mostró que quedó material de partida y se añadió más cloruro de metilmagnesio (5 ml, 15 mmol, 3 M en THF). Después de agitarse adicionalmente durante 15 min, la mezcla se inactivó con H₂O, se acidificó cuidadosamente con HCl 1 M (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo. La purificación por cromatografía ultrarrápida combinada (columna de 120 g; se eluyó con hexanos-acetato de etilo (5%-25%) en 20 min; caudal: 70 ml/min y se recogieron 25 ml/fracción) proporcionó el compuesto del título en forma de un líquido incoloro. RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 7,54 (m, 4H), 5,86 (t, 1H), 5,10 (s, 1H), 1,64 (s, 3H).

15 Etapa 2: Preparación de N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-(4'-[(2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida

El boronato éster de la etapa 3 en el ejemplo 1 (2,5 g) y el bromuro de la etapa 1 en el ejemplo 9 (1,6 mg) se acoplaron como en la etapa 4 del ejemplo 1, proporcionando la mezcla de diastereómeros en forma de un polvo de color blanco.

20 Etapa 3: Separación de diastereómeros

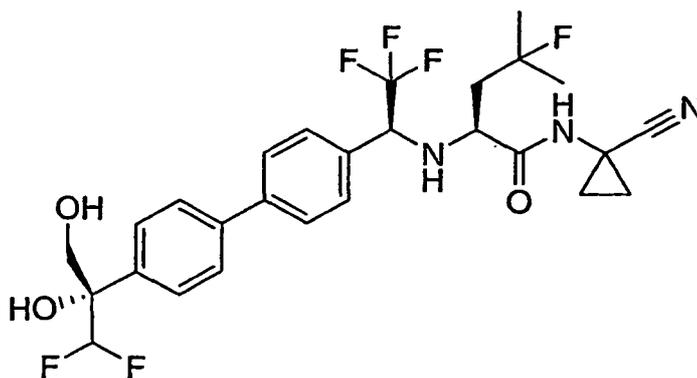
La mezcla diastereomérica de 1:1 de la etapa 2 en el ejemplo 9 (80 mg) se disolvió en etanol (2 ml). La mezcla de compuestos se resolvió en ~10 inyecciones (10 x 200 μl) con una columna semi-preparativa Chiralcel OD (2 cm de D.I. x 25 cm) eluyendo con 2-propanol al 32,5% en hexanos y un caudal de 6 ml/min. Las fracciones rápidas eluidas a 21-23 min se combinaron y se concentraron, dando N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-(4'-[(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il)-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida en forma de un polvo de color blanco (98% de e.d.). La estereoquímica es tentativa. (MH)⁺ IEN = 542

25

La fracción lenta eluida a 25 min se combinaron y se concentraron, dando N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-{4'-[(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida en forma de un polvo de color blanco (98% de e.d.). La estereoquímica es tentativa.
(MH)⁺ IEN = 542

5 Ejemplo 10

Síntesis de N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-{4'-[(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida



Etapas 1: Preparación de 1-bromo-4-[1-(difluorometil)vinil]benceno

- 10 A un polvo de cinc activado (13,3 g, 0,2 mol) en un matraz de 1 l se le añadió THF (200 ml). Se añadió gota a gota diyodometano (8,9 ml, 110 mmol) durante 10 min. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. La mezcla se enfrió con un baño de hielo-acetona, se añadió una solución de cloruro de estaño (iv) 1 M en CH₂Cl₂ (22,1 ml, 22,1 mmol) durante 15 min (punta de aguja insertada en el interior de la mezcla). La mezcla se agitó durante 15 min y el baño de refrigeración se retiró. La mezcla se agitó a t.a. durante 30 min. Después de volver a enfriarla con un baño de hielo-acetona y se añadió gota a gota una solución de 1-(4-bromofenil)-2,2-difluoroetanol (5,2 g, 22,12 mmol) en THF (30 ml) durante 10 min. El baño de refrigeración se retiró y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Después, la mezcla se vertió en porciones a una mezcla de bicarbonato sódico (300 ml, 300 mmol) y hexanos (300 ml) a 0 °C. Después de agitar durante 15 min, la mezcla se filtró a través de celite. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó (Na₂SO₄) y se concentró. La cromatografía sobre gel de sílice y la elución con hexanos:acetato de etilo (20:1) proporcionó el compuesto del título en forma de un líquido amarillo pálido.
- 20 RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 7,60 (d, 2H), 7,50 (d, 2H), 6,70 (t, 1H), 5,92 (s, 1H), 5,80 (s, 1H).

Etapas 2: Preparación de (2S)-2-(4-bromofenil)-3,3-difluoropropano-1,2-diol

- 25 A un matraz de 250 ml cargado con AD-mix-alfa comercial (7 g) se le añadieron alcohol terc-butílico (25 ml) y H₂O (25 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente, dando 2 fases transparente y las fases lentas parecían de color amarillo naranja. Después de enfriar a 0 °C, se añadió de una sola vez 1-bromo-4-[1-(difluorometil)vinil]benceno (1,1 g, 4,7 mmol) y la mezcla se agitó a aproximadamente 4 °C durante una noche. Se obtuvo una mezcla de color amarillo brillante. La mezcla se mantuvo a 0 °C y se añadió sulfito sódico sólido (8 g, 64 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 30 min. Se añadió acetato de etilo (50 ml) y la fase orgánica se separó. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 10 ml). Los extractos orgánicos combinados de acetato de etilo se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron. La purificación por cromatografía ultrarrápida combinada (columna de 40 g; se eluyó con hexanos:acetato de etilo (20%-60%) en 25 min; caudal: 35 ml/min y se recogieron 18 ml/fracción) produjo el compuesto del título en forma de un aceite incoloro.
- 30 RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 7,56 (s, 4H), 6,14 (t, 1H), 5,00 (s, 1H), 4,40 (t, 1H), 4,00 (m, 1H), 3,80 (m, 1H).

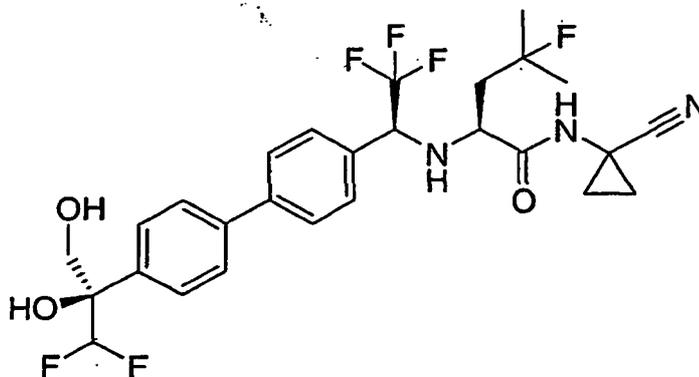
Etapas 3: Preparación de N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-{4'-[(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida

- 35 El boronato éster de la etapa 3 en el ejemplo 1 (900 mg) y el bromuro de la etapa 2 en el ejemplo 10 (450 mg) se acoplaron como en la etapa 4 del ejemplo 1, proporcionando el compuesto del título en forma de un polvo de color blanco.

- 40 Un derivado de éster mono-fosfonato (Yves Leblanc, y col. Tetrahedron Asymmetry 2001, 12, 3063-3066) se preparó para la medición de pureza óptica (94% de e.d.; Chiralpak A D, 2-propanol al 40% en hexanos, caudal 1 ml/min; tiempo de retención 7,4 min).
RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 8,15 (s, 1H), 7,70 (m, 6H), 7,55 (d, 2H), 6,20 (t, 1H), 4,92 (s, 1H), 4,35 (m, 2H), 4,08 (m, 1H), 3,85 (m, 1H), 3,52 (m, 1H), 1,98 (m, 2H), 1,50-1,28 (m, 8H), 1,05 (m, 1H), 0,90 (m, 1H).

Ejemplo 11

Síntesis de N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-{4'-[(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida



5 Etapa 1: Preparación de (2R)-2-(4-bromofenil)-3,3-difluoropropano-1,2-diol

A un matraz de 250 ml cargado con AD-mix-beta comercial (7 g) se le añadieron t-BuOH (25 ml) y H₂O (25 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente, dando 2 fases transparente y las fases lentas parecían de color amarillo naranja. Después de enfriar a 0 °C, se añadió de una sola vez 1-bromo-4-[1-(difluorometil)vinil]benceno (1,1 g, 4,7 mmol) y la mezcla se agitó a aproximadamente 4 °C durante una noche. Se obtuvo una mezcla de color amarillo brillante. La mezcla se mantuvo a 0 °C y se añadió sulfito sódico sólido (8 g, 64 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 30 min. Se añadió acetato de etilo (50 ml) y la fase orgánica se separó. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 10 ml). Los extractos combinados de acetato de etilo se secaron (Na₂SO₄) y se concentraron. La purificación por cromatografía ultrarrápida combinada (columna de 40 g; se eluyó con hexanos-acetato de etilo (20%-60%) en 25 min; caudal: 35 ml/min y se recogieron 18 ml/fracción) produjo el compuesto del título en forma de un aceite incoloro.

RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 7,56 (s, 4H), 6,14 (t, 1H), 5,00 (s, 1H), 4,40 (t, 1H), 4,00 (m, 1H), 3,80 (m, 1H).

Etapa 2: Preparación de N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-{4'-[(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida

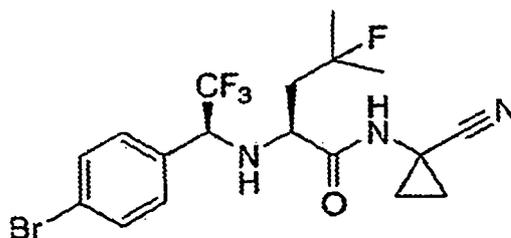
El boronato éster de la etapa 3 en el ejemplo 1 (1,5 g) y el bromuro de la etapa 1 en el ejemplo 11 (740 mg) se acoplaron como en la etapa 4 del ejemplo 1, proporcionando el compuesto del título en forma de un polvo de color blanco.

Un derivado de éster mono-fosfonato (Yves Leblanc, y col. Tetrahedron Asymmetry 2001, 12, 3063-3066) se preparó para la medición de la pureza óptica (94% de e.d.; Chiralpak AD, 2-propanol al 40% en hexanos, caudal 1 ml/min; tiempo de retención 11,1 min).

RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ (ppm): 8,15 (s, 1H), 7,70 (m, 6H), 7,55 (d, 2H), 6,20 (t, 1H), 4,92 (s, 1H), 4,35 (m, 2H), 4,08 (m, 1H), 3,85 (m, 1H), 3,52 (m, 1H), 1,98 (m, 2H), 1,50-1,28 (m, 8H), 1,05 (m, 1H), 0,90 (m, 1H).

Ejemplo 12

Síntesis de N²-[(1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetil]-N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-L-leucinamida



30 Etapa 1: Preparación de (3S)-3-[(terc-butoxicarbonil)amino]-4-hidroxibutanoato de bencilo

Se disolvió 4-bencil éster del ácido N-(terc-butoxicarbonil)-L-aspártico (30 g) en dimetoxietano (90 ml) y la solución se enfrió a -5 °C. Se añadió N-metilmorfolina (10,32 ml) seguido de una adición lenta de cloroformiato de isobutilo (12,66 ml) de tal forma que la temperatura de reacción se mantuvo por debajo de -10 °C. La mezcla se maduró durante 0,5 horas. Los productos sólidos se filtraron rápidamente y se lavaron con dimetoxietano (90 ml). El filtrado

se enfrió a -50 °C y se añadió lentamente una solución de borohidruro sódico (4,4 g) en agua (45 ml), de tal forma que la temperatura de reacción se mantuvo entre -30 °C y -15 °C. Después, se añadió agua (500 ml), de tal forma que la temperatura de la mezcla de reacción se mantuvo por debajo de -15 °C. La suspensión se filtró, el sólido se lavó con agua (400 ml) y se secó, produciendo (3S)-3-[(terc-butoxicarbonil)amino]-4-hidroxitanoato de bencilo.

5 RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ 7,3-7,45 (5H, m), 5,85-5,95 (1H, NH), 5,15 (2H, s), 3,95-4,1 (2H, m), 3,5-3,7 (2H, m), 2,55-2,75 (2H, m), 1,4 (9H, s).

Etapa 2: Preparación de [(4S)-2-oxo-1,3-oxazolidin-4-il]acetato de bencilo

A una solución del alcohol (95,7 g) de la Etapa 1 en dicloroetano (925 ml) se le añadió piridina (625 ml) y la mezcla se enfrió a 0-5 °C. Se añadió anhídrido p-toluenosulfónico anhídrido (105,7 g), la mezcla se calentó a temperatura ambiente, se agitó durante 1 hora y después se calentó a 90 °C durante 2 horas. La mezcla se enfrió, se diluyó con diclorometano (1000 ml) y se lavó con HCl 1 N (3 x 600 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con sulfato sódico y los disolventes se retiraron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía sobre SiO₂ usando acetato de etilo y hexanos en una proporción 1:1 seguido de acetato de etilo, produciendo [(4S)-2-oxo-1,3-oxazolidin-4-il]acetato de bencilo.

10 RMN ¹H (CD₃SOCD₃) δ 7,8 (1H, NH), 7,3-7,45 (5H, m), 5,05-5,15 (2H, m), 4,4-4,5 (1H, m), 4,1-4,2 (1H, m), 4,0-4,05 (1H, m), 3,6-3,8 (2H, m).

Etapa 3: Preparación de (4S)-4-(2-hidroxi-2-metilpropil)-1,3-oxazolidin-2-ona

Se añadió bromuro de metilmagnesio (227 ml de una solución 3 M en éter dietílico) a una mezcla de tolueno (340 ml) y THF (340 ml) a -20 °C. Después, se añadió gota a gota una solución caliente en THF (170 ml) del éster de la Etapa 2 (40 g) manteniendo la temperatura por debajo de -10 °C. La mezcla se maduró durante 2 horas y después se añadió lentamente a una mezcla de agua (1000 ml) y ácido acético (200 ml), y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas a temperatura ambiente. La fase acuosa se separó y la fase orgánica se extrajo con agua (2 x 200 ml). El producto se extrajo de las fases acuosas combinadas usando diclorometano y un extractor continuo. El extracto de diclorometano se evaporó a sequedad usando heptano como un codisolvente para retirar azeotrópicamente el ácido acético. El residuo se purificó por cromatografía sobre SiO₂ usando etanol y diclorometano (1:30), produciendo (4S)-4-(2-hidroxi-2-metilpropil)-1,3-oxazolidin-2-ona.

20 RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ 6,1-6,4 (1H, NH), 4,45-4,55 (1H, m), 4,1-4,2 (1H, m), 3,95-4,05 (1H, m), 3,7 (1H, s), 1,65-1,85 (2H, m), 1,25 (6H, m).

Etapa 4: Preparación de (4S)-4-(2-fluoro-2-metilpropil)-1,3-oxazolidin-2-ona

Se añadió una solución en diclorometano (100 ml) del alcohol (47,8 g) de la Etapa 3 a una solución a -70 °C de trifluoruro de (dietilamino)azufre (48,5 g) en diclorometano (500 ml). La mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. Después, la mezcla se añadió cuidadosamente a una mezcla a 0 °C de NaHCO₃ acuoso saturado (800 ml). La fase orgánica se separó y se lavó con NaHCO₃ acuoso saturado. El producto acuoso se extrajo adicionalmente con diclorometano (100 ml) y las fases combinadas de diclorometano se secaron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía sobre SiO₂ usando acetato de etilo y hexanos (1:5) seguido de acetato de etilo, produciendo (4S)-4-(2-fluoro-2-metilpropil)-1,3-oxazolidin-2-ona.

30 RMN ¹H (CD₃SOCD₃) δ 7,6 (1H, NH), 4,4-4,5 (1H, m), 3,95-4,05 (1H, m), 3,9-3,95 (1H, m), 1,8-1,95 (2H, m), 1,25-1,4 (6H, 2s).

Etapa 5: Preparación de (2S)-2-amino-4-fluoro-4-metilpentan-1-ol

A una solución del derivado de flúor (21,0 g) de la Etapa 4 en alcohol etílico acuoso al 90% (216 ml) se le añadió hidróxido potásico (21,9 g). La mezcla se calentó a reflujo durante 4 horas y se enfrió a temperatura ambiente. Después, la mezcla se concentró y se co-evaporó con tolueno (3 x 300 ml). El residuo se disolvió en diclorometano (500 ml) y se agitó durante 0,5 horas. La suspensión se filtró a través de celite y el celite se lavó con diclorometano (3 x 100 ml). El filtrado se concentró a sequedad, produciendo (2S)-2-amino-4-fluoro-4-metilpentan-1-ol.

40 RMN ¹H (CD₃OD) δ 3,4-3,5 (1H, m), 3,2-3,3 (1H, m), 3,0-3,1 (1H, m), 1,5-1,7 (2H, m), 1,35 (3H, s), 1,3 (3H, s).

Etapa 6: Preparación de (2S)-1-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]-4-fluoro-4-metilpentan-2-amina

El amino alcohol (21,0 g) de la Etapa 5 se disolvió en diclorometano (300 ml) y la solución se enfrió a 0 °C. Se añadieron 4-(dimetilamino)piridina (0,051 g) y cloruro de terc-butildimetilsililo (21 g) seguido de trietilamina (25 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se vertió lentamente en cloruro de amonio acuoso saturado a 0 °C y se extrajo con diclorometano (3 x 300 ml). La fase orgánica se lavó con salmuera, se secó con sulfato sódico y los disolventes se retiraron al vacío, produciendo (2S)-1-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]-4-fluoro-4-metilpentan-2-amina.

50 RMN ¹H (CD₃OD) δ 3,6-3,65 (1H, m), 3,4-3,5 (1H, m), 3,1-3,2 (1H, m), 1,6-1,8 (2H, m), 1,35-1,45 (6H, m), 0,93 (9H, s), 0,1 (6H, s).

55 Etapa 7: Preparación de (2S)-1-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]-4-fluoro-4-metil-N-[(1E)-2,2,2-trifluoroetilideno]pentan-2-amina

A una solución de la amina (31,5 g) de la Etapa 6 en benceno (126 ml) se le añadió trifluoroacetaldehído metil hemiacetal (21,6 ml). La solución se calentó a reflujo durante una noche usando un purgador Dean-Stark para recoger el agua. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró a sequedad. El residuo se purificó sobre SiO₂ usando un 4% de acetato de etilo en hexanos, produciendo (2S)-1-[[terc-butil(dimetil)silil]oxi]-4-fluoro-4-metilpentan-2-amina.

RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ 7,9-7,95 (1H, m), 3,75-3,85 (1H, m), 3,7-3,75 (1H, m), 3,53-3,6 (1H, m), 1,9-2,0 (2H, m), 1,3-1,4 (6H, m), 0,9 (9H, s), 0,1 (3H, s), 0,05 (3H, s).

Etapa 8: Preparación de (2S)-2-[[[(1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetil]amino]-4-fluoro-4-metilpentan-1-ol

a una solución a -75 °C de 1,4-dibromobenceno (0,26 g) en THF (4 ml) se le añadió n-BuLi (0,42 ml de una solución 2,5 M de hexanos) y la mezcla se maduró durante 20 minutos. La imina (0,329 g) de la Etapa 7 en THF (2 ml) se añadió y la mezcla se maduró 2 horas. Después, la mezcla se añadió a una mezcla de agua (50 ml), NH₄Cl (1 g) y hielo picado. Se extrajo con acetato de etilo (2 x 25 ml) y las fases combinadas de acetato de etilo se secaron y se evaporaron a sequedad.

El mismo procedimiento se repitió a una escala mayor usando 1,4-dibromobenceno (1,2 g), n-BuLi (1,84 ml) y la imina (1,38 g), y la mezcla de reacción se trató como anteriormente. Los residuos combinados de ambas preparaciones se disolvieron en THF (10 ml) y se enfriaron a 0 °C. Se añadió fluoruro de n-tetrabutylamonio (6 ml de una solución 1 M de THF) y la mezcla se agitó a +5 °C durante 16 h. La mezcla se vertió en una mezcla de agua (50 ml), cloruro de amonio (1 g) y hielo picado, y la fase orgánica se separó. El producto acuoso se extrajo adicionalmente con acetato de etilo (2 x 15 ml) y las fases orgánicas combinadas se secaron y se concentraron. El residuo se purificó sobre SiO₂ usando acetato de etilo y hexanos (1:5), produciendo (2S)-2-[[[(1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetil]amino]-4-fluoro-4-metilpentan-1-ol.

RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ 7,65 (2H, m), 7,5 (2H, m), 4,5-4,6 (1H, m), 3,8 (1H, m), 3,6 (1H, m), 3,3-3,4 (1H, m), 2,85-2,0 (1H, m), 2,55 (1H, m), 1,7-1,9 (2H, s), 1,3-1,4 (6H, m).

Etapa 9: Preparación N²-[[[(1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetil]-N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-L-leucinamida

Una suspensión de H₅IO₆/CrO₃ (66 ml de 0,44 M en CH₃CN; Nota) se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota una solución del alcohol de la Etapa 8 (1,55 g) en CH₃CN (5 ml). La mezcla se agitó a 0-5 °C durante 3,5 horas. Se vertió en Na₂HPO₄ a pH 4 (200 ml) con agitación vigorosa y la mezcla se extrajo con éter dietílico (3 x 50 ml). Los extractos de éter combinados se lavaron con agua y salmuera (1:1) seguido de NaHSO₃ acuoso diluido y salmuera. La mezcla se secó con sulfato sódico, se filtró, y los disolventes se evaporaron a sequedad, produciendo N-[[[(1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetil]-4-fluoro-L-leucina que se usó tal cual en la siguiente etapa.

Nota. El agente de oxidación (H₅IO₆/CrO₃) se preparó como se describe en Tetrahedron Letters 39 (1998) 5323-5326 pero usando CH₃CN de calidad HPLC (contiene agua al 0,5%); no se añadió agua.

Se añadió diisopropiltilamina (4,2 ml) a una suspensión a 0 °C del ácido (1,5 g) anterior, clorhidrato de 1-amino-1-ciclopropanocarbonitrilo (1,18 g), hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N,N',N'-tetrametiluronio (1,94 g) y dimetilformamida (5 ml) y la mezcla se hizo reaccionar a temperatura ambiente durante 48 h. Después, se vertió sobre hielo y cloruro de amonio acuoso diluido. La mezcla se extrajo con acetato de etilo y éter (1:1) y las fases orgánicas combinadas se lavaron con Na₂HPO₄ diluido a pH 3 y salmuera. Los disolventes se evaporaron a sequedad y el residuo se purificó por cromatografía sobre SiO₂ usando acetato de etilo y hexanos (1:2), produciendo N²-[[[(1S)-1-(4-bromofenil)-2,2,2-trifluoroetil]-N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-L-leucinamida en un estado de pureza suficiente para la siguiente etapa.

RMN ¹H (CD₃COCD₃) δ 8,15 (1H, NH), 7,6 (2H, m), 7,45 (2H, m), 4,35-4,45 (1H, m), 3,45-3,55 (1H, m), 1,9-2,1 (2H, m), 1,75-1,85 (1H, NH), 1,35-1,55 (8H, m), 1,1-1,15 (1H, m), 0,95-1,05 (1H, m).

Composición farmacéutica

Como una realización específica de la presente invención, se formulan 100 mg de (1R,2R)-N-(cianometil)-5,5-difluoro-2-[4'-(metiltio)-1,1'-bifenil-2-il] ciclohexanocarboxamida, con lactosa dividida de forma suficientemente fina para proporcionar una cantidad total de 580 a 590 mg para llenar una cápsula de gelatina dura de tamaño 0.

Los compuestos desvelados en la presente solicitud muestran actividad en los siguientes ensayos. Además, los compuestos desvelados en la presente solicitud tienen un perfil farmacológico potenciado en relación con compuestos previamente desvelados.

Ensayo de catepsina K

Se prepararon diluciones en serie (1/3) de 500 μM hasta 0,0085 μM de compuestos de ensayo en dimetilsulfóxido (DMSO). Después se añadieron 2 μl de DMSO de cada dilución a 50 μl de tampón de ensayo (MES, 50 mM (pH 5,5); EDTA, 2,5 mM; DTT, 2,5 mM y DMSO 10%) y 25 μl de catepsina K humana (0,4 nM) en solución de tampón de ensayo. Las soluciones de ensayo se mezclaron durante 5-10 segundos en una placa agitadora y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se añadió Z-Leu-Arg-AMC (8 μM) en 25 μl de tampón de ensayo a las soluciones de ensayo. La hidrólisis del grupo saliente de coumarina (AMC) se siguió de espectrofluorometría (Exλ =

355 nm; $Em\lambda = 460$ nm) durante 10 minutos. El porcentaje de inhibición se calculó ajustando los valores experimentales a modelo matemático convencional para curva de la respuesta a dosis.

Ensayo de catepsina L

5 Se prepararon diluciones en serie (1/3) de 500 μ M hasta 0,0085 μ M de compuesto de ensayo en dimetilsulfóxido (DMSO). Después se añadieron 2 μ l de DMSO de cada dilución a 50 μ l de tampón de ensayo (MES, 50 mM (pH 5,5); EDTA, 2,5 mM; DTT, 2,5 mM y DMSO 10%) y 25 μ l de catepsina L humana (0,5 nM) en solución de tampón de ensayo. Las soluciones de ensayo se mezclaron durante 5-10 segundos en una placa agitadora y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se añadió Z-Leu-Arg-AMC (8 μ M) en 25 μ l de tampón de ensayo a las
10 soluciones de ensayo. La hidrólisis del grupo saliente de coumarina (AMC) se siguió de espectrofluorometría ($Ex\lambda = 355$ nm; $Em\lambda = 460$ nm) durante 10 minutos. El porcentaje de inhibición se calculó ajustando los valores experimentales a modelo matemático convencional para curva de respuesta a dosis.

Ensayo de catepsina B

15 Se prepararon diluciones en serie (1/3) de 500 μ M a 0,0085 μ M de compuestos de ensayo en dimetilsulfóxido (DMSO). Después se añadieron 2 μ l de DMSO de cada dilución a 50 μ l de tampón de ensayo (MES, 50 mM (pH 5,5); EDTA, 2,5 mM; DTT, 2,5 μ M y DMSO 10%) y 25 μ l de catepsina B humana (4,0 nM) en solución de tampón de ensayo. Las soluciones de ensayo se mezclaron durante 5-10 segundos en una placa agitadora y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se añadió Z-Leu-Arg-AMC (8 μ M) en 25 μ l de tampón de ensayo a las
20 soluciones de ensayo. La hidrólisis del grupo saliente de coumarina (AMC) se siguió de espectrofluorometría ($Ex\lambda = 355$ nm; $Em\lambda = 460$ nm) durante 10 minutos. El porcentaje de inhibición se calculó ajustando los valores experimentales a modelo matemático convencional para curva de respuesta a dosis.

Ensayo de catepsina S

25 Se prepararon diluciones en serie (1/3) de 500 μ M hasta 0,0085 μ M de compuestos de ensayo en dimetilsulfóxido (DMSO). Después se añadieron 2 μ l de DMSO de cada dilución a 50 μ l de tampón de ensayo (MES, 50 μ M (pH 5,5); EDTA, 2,5 mM; DTT, 2,5 mM y DMSO 10%) y 25 μ l de catepsina S humana (20 nM) en solución de tampón de ensayo. Las soluciones de ensayo se mezclaron durante 5-10 segundos en una placa agitadora y se incubaron durante 15 minutos a temperatura ambiente. Se añadió Z-Leu-Arg-AMC (8 μ M) en 25 μ l de tampón de ensayo a las
30 soluciones de ensayo. La hidrólisis del grupo saliente de coumarina (AMC) se siguió de espectrofluorometría ($Ex\lambda = 355$ nm; $Em\lambda = 460$ nm) durante 10 minutos. El porcentaje de inhibición se calculó ajustando los valores experimentales a modelo matemático convencional para curva de respuesta a dosis.

Farmacocinética en ratas

Farmacocinética por O (PO) en ratas

PROCEDIMIENTO:

Los animales se alojan, alimentan y se cuidan de acuerdo con las directrices del Consejo Canadiense sobre Cuidados Animales.

35 Las ratas Sprague Dawley macho (250-400 g) se someten a ayunas durante una noche antes de cada estudio de nivel en sangre PO.

40 Las ratas se sitúan en el inmovilizador de una en una y la caja se asegura con firmeza. Se obtiene la muestra de sangre cero cortando un trozo pequeño (1 mm o menos) de la punta de la cola. La cola después se frota con un movimiento firme pero suave de la punta al extremo para extraer la sangre. Se recogen aproximadamente 0,5 ml de sangre en un tubo vacutainer heparinizado.

Los compuestos se preparan según se requiera, en un volumen de dosificación convencional de 10 ml/kg, y se administran por vía oral pasando una aguja de sonda de 7,62 cm de calibre 16 al esófago.

45 Se toman recogidas de sangre posteriores de la misma manera que la muestra de sangre cero excepto que no hay necesidad de volver a cortar la cola. La cola se limpia con un trozo de gasa y se extrae la sangre/se frota como se ha descrito anteriormente en los tubos marcados de forma apropiada.

Inmediatamente después de la toma de muestras, la sangre se centrifuga, se separa, el plasma se pone en frascos claramente marcados y se almacena en un congelador hasta que se analice.

Los puntos temporales típicos para determinación de niveles en sangre de rata después de dosificación PO son:

0, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 24 h

Después de la muestra sanguínea de punto temporal de 4 horas, se proporciona alimento a las ratas a voluntad. Se proporciona agua en todo momento durante el estudio.

Vehículos:

5 Pueden usarse los siguientes vehículos (con volúmenes de dosis correspondientes) en determinación de nivel en sangre de rata PO:

PEG 200/300/400 (0-60% en agua):	igual o menor de 10 ml/kg
Metocel (0,5%-1,0% en agua):	igual o menor de 10 ml/kg
Tween 80 (1-10% en agua):	igual o menor de 10 ml/kg

10 Los Compuestos para niveles en sangre PO pueden estar en forma de suspensión. Para mejor homogeneidad, la suspensión puede situarse en un sonicador durante aproximadamente 5 minutos.

15 Para el análisis, las alícuotas se diluyen con 1,2 a 1,5 volúmenes de acetonitrilo que contienen opcionalmente un patrón interno y se centrifugan para retirar precipitado proteico. El sobrenadante se inyecta directamente en una columna de HPLC C-18 con dirección de espectrometría de masas (EM) o absorbancia ultravioleta (UV) o de fluorescencia (Fluo). La cuantificación se realiza en relación con una curva patrón preparada usando muestras de sangre limpias con adiciones de cantidades conocidas de fármaco en acetonitrilo que contiene opcionalmente un patrón interno. El acetonitrilo adicional que contiene opcionalmente patrón interno se añade hasta la cantidad de 1,2 a 1,5 volúmenes de la cantidad de sangre inicial para corresponder con lo que se ha realizado en el caso de las muestras. La biodisponibilidad (F) se evalúa comparando el área bajo la curva (AUC) i.v. frente a p.o.

$$F = \frac{AUC_{po}}{AUC_{iv}} \times \frac{DOSE_{iv}}{DOSE_{po}} \times 100\%$$

20 y

$$AUC = (C1+C2)*(T2-T1)/2$$

en la que C es la concentración medida por EM o UV o Fluo en un momento dado T

Farmacocinética intravenosa en ratas

PROCEDIMIENTO:

25 Los animales se alojan, alimentan y se cuidan de acuerdo con las directrices del Consejo Canadiense sobre cuidados Animales.

Se usan ratas Sprague Dawley macho (325-375 g) no en ayunas en estos estudios.

El compuesto se prepara según se requiera, en un volumen de dosificación convencional de 1 ml/kg.

30 La dosificación de las ratas conscientes para administración intravenosa se realiza a través de la vena yugular usando una aguja de calibre 25. Esto constituye el punto temporal cero.

35 La muestra sanguínea de 5 minutos se toma cortando un trozo (1-2 mm) de la punta de la cola. La cola se frota después con un movimiento firme pero suave desde la punta de la cola hasta la base para extraer la sangre de la cola. Se recogen aproximadamente 0,5 ml de sangre a un frasco de recogida heparinizado. Se toman muestras sanguíneas posteriores de la misma manera, excepto que no hay necesidad de cortar la cola de nuevo. La cola se limpia con un trozo de gasa y se toma muestras sanguíneas, como se ha descrito anteriormente, en los tubos marcados de forma apropiada.

Los puntos temporales típicos para determinación de niveles en sangre de rata después de dosificación I.V. son:

- 0, 5 min, 15 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h
- o 0,5 min, 30 min, 1 h, 2 h, 4 h, 6 h, 8 h, 24 h

40 Vehículos:

Pueden usarse los siguientes vehículos en determinaciones de nivel en sangre de rata IV:

Dextrosa:	1 ml/kg
Moleculsol 25%:	1 ml/kg
DMSO (dimetilsulfóxido):	Restringido a 10% del volumen de dosis hasta 0,1 ml por kilogramo del animal
PEG 200:	No más de 80% mezclado con agua estéril 20% - 1 ml/kg

45

Con dextrosa, puede añadirse bicarbonato sódico si la solución es turbia.

5 Para análisis, las alícuotas se diluyen con 1,2 a 1,5 volúmenes de acetonitrilo que contiene opcionalmente un patrón interno y se centrifugan para retirar precipitado proteico. El sobrenadante se inyecta directamente en una columna de HPLC C-18 con detección de espectrometría de masas (EM) o absorbancia ultravioleta (UV) o fluorescencia (Fluo). La cuantificación se realiza en relación con una curva patrón preparada usando muestras de sangre limpias con adiciones de cantidades conocidas de fármaco en acetonitrilo que contiene opcionalmente un patrón interno. Se añade acetonitrilo adicional que contiene opcionalmente patrón interno hasta una cantidad de 1,2 a 1,5 volúmenes de la cantidad de sangre inicial para corresponder con lo que se realizó en el caso de las muestras. La biodisponibilidad (F) se evalúa comparando el área bajo la curva (AUC) i.v. frente a p.o.

10

$$F = \frac{AUC_{po} \times DOSE_{iv} \times 100\%}{AUC_{iv} \times DOSE_{po}}$$

y

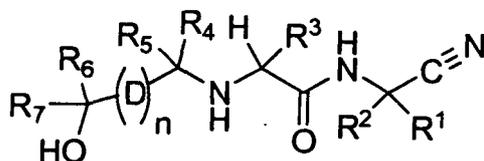
$$AUC = (C1+C2)*(T2-T1)/2$$

en la que C es la concentración medida por EM o UV o Fluo en un momento dado T.

15

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:



en la que R¹ y R² se toman junto con el átomo de carbono al que están unidos para formar un ciclopropilo que está opcionalmente sustituido con alquilo C₁₋₃;

R³ es alquilo C₁₋₆ que está sustituido con uno a cuatro flúor o uno a cuatro cloro;

R⁴ es alquilo C₁₋₆ que está sustituido con uno a cinco halógenos;

R⁵ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆ que está opcionalmente sustituido con uno a cinco halógenos;

cada D es fenilo;

R⁶ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆ que está opcionalmente sustituido con uno a dos hidroxilo o dos a seis halógenos;

R⁷ es alquilo C₁₋₆ que está opcionalmente sustituido con dos a cinco halógenos;

n es dos;

o una sal, estereoisómero o derivado N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R⁵ es hidrógeno y R⁴ es CF₃; o una sal, estereoisómero o derivado N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. El compuesto de la reivindicación 1 ó 2, en el que R7 es alquilo C₁₋₃ sustituido con dos o tres flúor; o una sal, estereoisómero o derivado N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. El compuesto de la reivindicación 1 que es:

N¹-(1-cianociclopropil)-N²-(1-{4'-[2,2-difluoro-1-hidroxietyl]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-(2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietyl)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-(2,2,2-trifluoro-1-{4'-[3,3,3-trifluoro-1-hidroxi-1-metilpropil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-(2,2,2-trifluoro-1-{4'-[2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-1-(trifluorometil)etil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-(2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-1-metiletil)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-(2,2,2-trifluoro-1-{4'-[1-hidroxi-1-(trifluorometil)propil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-N²-(1-{4'-[2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-N²-(1-{4'-[2,2-difluoro-1-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

o una sal, estereoisómero o derivado N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. El compuesto de la reivindicación 4 que es:

N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-{4'-[(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxietyl]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-N²-((1S)-1-{4'-[(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxietyl]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietyl)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-{4'-[(1S)-3,3,3-trifluoro-1-hidroxi-1-metilpropil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-{4'-[(1R)-3,3,3-trifluoro-1-hidroxi-1-metilpropil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(R)-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietyl)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-{4'-[2,2,2-trifluoro-1-(trifluorometil)etil]bifenil-4-il}etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-[4'-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxi-1-metiletil)bifenil-4-il]etil)-L-leucinamida;

N¹-(1-cianociclopropil)-4-fluoro-N²-((1S)-2,2,2-trifluoro-1-{4'-[1-hidroxi-1-(trifluorometil)propil]bifenil-4-il}etil)-L-

leucinamida;

N^1 -(1-cianociclopropil)- N^2 -((1S)-1-{4'-[(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

5 N^1 -(1-cianociclopropil)- N^2 -((1S)-1-{4'-[(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-metiletil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

N^1 -(1-cianociclopropil)- N^2 -((1S)-1-{4'-[(1S)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

N^1 -(1-cianociclopropil)- N^2 -((1S)-1-{4'-[(1R)-2,2-difluoro-1-hidroxi-1-(hidroximetil)etil]bifenil-4-il}-2,2,2-trifluoroetil)-4-fluoro-L-leucinamida;

10 o una sal, estereoisómero o derivado N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación precedente y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

7. El uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una sal, estereoisómero o derivado de N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo en la preparación de un medicamento útil para el tratamiento de: osteoporosis, osteoporosis inducida por glucocorticoides, enfermedad de Paget, renovación de hueso aumentada de forma anómala, enfermedad periodontal, pérdida de dientes, fracturas de hueso, artritis reumatoide, osteoartritis, osteólisis periprostética, osteogénesis imperfecta, aterosclerosis, obesidad, glaucoma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad metastásica del hueso, hipercalcemia de tumor maligno o mieloma múltiple.

8. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una sal, estereoisómero o derivado de N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo y otro agente seleccionado del grupo que consiste en: un bisfosfonato orgánico, un modulador de receptor de estrógenos, un modulador de receptor de estrógenos beta, un modulador de receptor de andrógenos, un inhibidor de protón ATPasa de osteoclastos, un inhibidor de HMG-CoA reductasa, un antagonista del receptor de integrina, o un agente anabólico de osteoblastos, vitamina D, un análogo de vitamina D sintético, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, un inhibidor de ciclooxigenasa 2 selectivo, un inhibidor de interleucina-1 beta, un inhibidor de LOX/COX, un inhibidor de RANKL, y las sales y mezclas farmacéuticamente aceptables de los mismos.

9. El uso de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una sal, estereoisómero o derivado de N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo y otro agente seleccionado del grupo que consiste en: un bisfosfonato orgánico, un modulador de receptor de estrógenos, un modulador de receptor de andrógenos, un inhibidor de protón ATPasa de osteoclastos, un inhibidor de HMG-CoA reductasa, un antagonista del receptor de integrina, un agente anabólico de osteoblastos, vitamina D, un análogo de vitamina D sintético, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, un inhibidor de ciclooxigenasa 2 selectivo, un inhibidor de interleucina-1 beta, un inhibidor de LOX/COX, un inhibidor de RANKL, y las sales y mezclas farmacéuticamente aceptables de los mismos, en la preparación de un medicamento útil para el tratamiento de: osteoporosis, osteoporosis inducida por glucocorticoides, enfermedad de Paget, renovación de hueso aumentada de forma anómala, enfermedad periodontal, pérdida de dientes, fracturas de hueso, artritis reumatoide, osteoartritis, osteólisis periprostética, osteogénesis imperfecta, aterosclerosis, obesidad, glaucoma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad metastásica del hueso, hipercalcemia de tumor maligno o mieloma múltiple en un mamífero que lo necesite.

10. Una combinación de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una sal, estereoisómero o derivado de N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo, y otro agente seleccionado del grupo que consiste en: un bisfosfonato orgánico, un modulador de receptor de estrógenos, un modulador de receptor de estrógenos beta, un modulador de receptor de andrógenos, un inhibidor de protón ATPasa de osteoclastos, un inhibidor de HMG-CoA reductasa, un antagonista del receptor de integrina, o un agente anabólico de osteoblastos, vitamina D, un análogo de vitamina D sintético, un fármaco antiinflamatorio no esteroideo, un inhibidor de ciclooxigenasa 2 selectivo, un inhibidor de interleucina-1 beta, un inhibidor de LOX/COX, un inhibidor de RANKL y las sales y mezclas farmacéuticamente aceptables del mismo.

11. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal, estereoisómero o derivado de N-óxido farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en un procedimiento del tratamiento del cuerpo humano por terapia.

12. Un compuesto para su uso de la reivindicación 11 en el que la terapia es el tratamiento de osteoporosis, osteoporosis inducida por glucocorticoides, enfermedad de Paget, renovación de hueso aumentada de forma anómala, enfermedad periodontal, pérdida de dientes, fracturas de hueso, artritis reumatoide, osteoartritis, osteólisis periprostética, osteogénesis imperfecta, aterosclerosis, obesidad, glaucoma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, enfermedad metastásica del hueso, hipercalcemia de tumor maligno o mieloma múltiple.