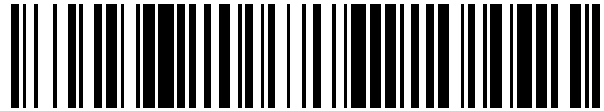


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 536 078**

51 Int. Cl.:

C07D 495/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.09.2011 E 11761206 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **31.12.2014 EP 2616471**

54 Título: **Inhibidores de notum pectinacetilesterasa y métodos para su uso**

30 Prioridad:

14.09.2010 US 382526 P

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

20.05.2015

73 Titular/es:

**LEXICON PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)
8800 Technology Forest Place
The Woodlands, TX 77381, US**

72 Inventor/es:

**BARBOSA, JOSEPH;
CARSON, KENNETH GORDON;
GARDYAN, MICHAEL WALTER;
HE, WEI;
LOMBARDO, VICTORIA;
PABBA, PRAVEEN y
TARVER, JAMES JR.**

74 Agente/Representante:

SUGRAÑES MOLINÉ, Pedro

ES 2 536 078 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 notum pectinacetilsterasa y métodos para su uso

5 1. Campo de la invención

Esta invención se refiere a inhibidores de molécula pequeña de la notum pectinacetilsterasa, composiciones que los comprenden y métodos de su uso.

10 2. Antecedentes de la invención

La salud ósea depende de las actividades coordinadas de los osteoblastos formadores de hueso y de los osteoclastos responsables de la resorción ósea. "El recambio óseo refleja un equilibrio entre estas funciones celulares anabólicas y catabólicas y garantiza que el esqueleto maduro puede repararse a sí mismo cuando está dañado y mantener su función endocrina gracias a la liberación de minerales tales como calcio y fósforo en la circulación". Allen, J. G. et al., J. Med.Chem., 53 (10 de junio de 2010), pp.4332 - 4353, 4332. Muchos estados patológicos alteran este equilibrio, lo que resulta en un aumento o disminución de la masa ósea o cambios en la calidad del hueso. La pérdida gradual de la densidad mineral ósea se conoce como osteopenia; la pérdida ósea severa se conoce como osteoporosis. *Id.*

El tratamiento de referencia actual para el tratamiento y prevención de la osteoporosis utiliza la clase de los bisfosfonatos de agentes antireabsorción orales de tipo molécula pequeña. *Id.* en 4333. Generalmente también se utiliza ácido zoledrónico, raloxifeno, calcio y suplementos de vitamina D en el tratamiento de la osteoporosis. *Id.* Mientras que los agentes antireabsorción pueden ayudar a prevenir la pérdida ósea, los agentes anabólicos "son capaces de aumentar la masa ósea en un mayor grado... y también tienen la capacidad de mejorar la calidad del hueso y aumentar la resistencia ósea". Guo, H., et al., J. Med. Chem., 53 (25 de febrero de 2010), pp.1819 - 1829, 1819. En los Estados Unidos, la PTH humana es el único agente anabólico aprobado por la FDA. *Id.*; Allen en 4333. "Debido a la escasez de agentes anabólicos disponibles para el tratamiento de la osteoporosis, hay una necesidad urgente de desarrollar pequeños compuestos moleculares para el tratamiento de esta enfermedad que no sean tóxicos, sean rentables y fáciles de administrar". Guo en 1819.

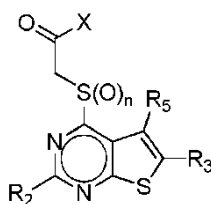
"Aunque el desarrollo de agentes farmacológicos que estimulan la formación de hueso está menos avanzado en comparación con las terapias antireabsorción, se conocen varias vías para facilitar la función de los osteoblastos". Allen en 4338. Estas vías incluyen proteínas morfogénicas óseas, el factor de crecimiento β transformante, la hormona paratiroidea, el factor de crecimiento similar a la insulina, el factor de crecimiento de fibroblastos y la vía de señalización del sitio de integración en MMTV de tipo sin alas (WNT). *Id.* Guo y colaboradores han publicado recientemente los resultados relativos a la primera de estas vías. Guo, *supra*. En particular, describieron que ciertos compuestos de benzotiofeno y benzofurano sustituidos mejoran la expresión de la proteína morfogenética ósea 2 en ratones y ratas. Supuestamente, dos de los compuestos estimulan la formación ósea y la restauración de la conectividad trabecular *in vivo*. *Id.* en 1819.

Otra de estas vías es la vía WNT, la cual está implicada en una variedad de procesos de desarrollo y regenerativos. Allen en 4340. Sin embargo, la vía es compleja y gran parte de ella, así como la forma en la que sus componentes afectan al hueso no está aclarada. Por ejemplo, se ha sugerido que LRP-5, cuyas mutaciones están asociadas con un aumento de la masa ósea en los seres humanos y la β -catenina, a través de la cual se produce la señalización canónica de WNT "no pueden estar asociadas directamente a través de la señalización de WNT al control de la masa ósea". *Id.*

Un análisis reciente de los datos de expresión génica ha conducido a la identificación de nuevas dianas de señalización WNT. Véase, por ejemplo, Torisu, Y., et al, Cancer Sci., 99(6):1139-1146, 1143(2008). Una de tales dianas es la notum pectinacetilsterasa, también conocida como NOTUM y LOC174111.

3. Sumario de la invención

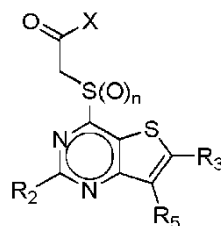
Esta invención abarca compuestos de la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que: X es OR_{1B} o $N(R_{1B})_2$; cada R_{1B} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_2 es

hidrógeno, halo, $-\text{CO}_2\text{R}_{2\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{2\text{A}})_2$, $-\text{SR}_{2\text{A}}$, $-\text{OR}_{2\text{A}}$, $-\text{N}(\text{R}_{2\text{A}})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada $\text{R}_{2\text{A}}$ es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_3 es hidrógeno, halo, ciano, $-\text{CO}_2\text{R}_{3\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{3\text{A}})_2$, $-\text{SR}_{3\text{A}}$, $-\text{OR}_{3\text{A}}$, $-\text{N}(\text{R}_{3\text{A}})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada $\text{R}_{3\text{A}}$ es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_5 es hidrógeno, halo, $-\text{CO}_2\text{R}_{5\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{5\text{A}})_2$, $-\text{SR}_{5\text{A}}$, $-\text{OR}_{5\text{A}}$, $-\text{N}(\text{R}_{5\text{A}})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada $\text{R}_{5\text{A}}$ es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; y n es 1 o 2; en el que "opcionalmente sustituidos" significa opcionalmente sustituidos con uno o más de alcoxi, alquilo, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino), arilo, ácido carboxílico, ciano, halo, haloalquilo, heterociclo o hidroxilo.

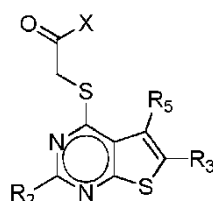
La invención también abarca compuestos de la fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que: X es $\text{OR}_{1\text{B}}$ o $\text{N}(\text{R}_{1\text{B}})_2$; cada $\text{R}_{1\text{B}}$ es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_2 es hidrógeno, halo, $-\text{CO}_2\text{R}_{2\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{2\text{A}})_2$, $-\text{SR}_{2\text{A}}$, $-\text{OR}_{2\text{A}}$, $-\text{N}(\text{R}_{2\text{A}})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada $\text{R}_{2\text{A}}$ es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_3 es hidrógeno, halo, ciano, $-\text{CO}_2\text{R}_{3\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{3\text{A}})_2$, $-\text{SR}_{3\text{A}}$, $-\text{OR}_{3\text{A}}$, $-\text{N}(\text{R}_{3\text{A}})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada $\text{R}_{3\text{A}}$ es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_4 es hidrógeno, halo o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_5 es hidrógeno, halo, $-\text{CO}_2\text{R}_{5\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{5\text{A}})_2$, $-\text{SR}_{5\text{A}}$, $-\text{OR}_{5\text{A}}$, $-\text{N}(\text{R}_{5\text{A}})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada $\text{R}_{5\text{A}}$ es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; y n es 1 o 2; en el que "opcionalmente sustituidos" significa opcionalmente sustituidos con uno o más de alcoxi, alquilo, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino), arilo, ácido carboxílico, ciano, halo, haloalquilo, heterociclo, o hidroxilo.

Esta invención abarca composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos divulgados en la presente memoria.

La invención también abarca compuestos de:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, para uso como un medicamento para el tratamiento o manejo de una enfermedad o trastorno caracterizado por la pérdida ósea, en la que: X es $\text{OR}_{1\text{B}}$ o $\text{N}(\text{R}_{1\text{B}})_2$; cada $\text{R}_{1\text{B}}$ es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_2 es hidrógeno, halo, $-\text{CO}_2\text{R}_{2\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{2\text{A}})_2$, $-\text{SR}_{2\text{A}}$, $-\text{OR}_{2\text{A}}$, $-\text{N}(\text{R}_{2\text{A}})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada $\text{R}_{2\text{A}}$ es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_3 es hidrógeno, halo, ciano, $-\text{CO}_2\text{R}_{3\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{3\text{A}})_2$, $-\text{SR}_{3\text{A}}$, $-\text{OR}_{3\text{A}}$, $-\text{N}(\text{R}_{3\text{A}})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada $\text{R}_{3\text{A}}$ es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_5 es hidrógeno, halo, $-\text{CO}_2\text{R}_{5\text{A}}$, $-\text{C}(\text{O})\text{N}(\text{R}_{5\text{A}})_2$, $-\text{SR}_{5\text{A}}$, $-\text{OR}_{5\text{A}}$, $-\text{N}(\text{R}_{5\text{A}})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos, y cada $\text{R}_{5\text{A}}$ es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; en el que "opcionalmente sustituidos" significa opcionalmente sustituidos con uno o más de alcoxi, alquilo, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino), arilo, ácido carboxílico, ciano, halo, haloalquilo, heterociclo o hidroxilo.

4. Breve descripción de las figuras

Determinados aspectos de la invención pueden ser entendidos con referencia a las figuras adjuntas.

La Figura 1 proporciona una representación gráfica de las diferencias entre los espesores corticales de varios

sitios óseos en ratones *knockout* homocigotos para el gen NOTUM ("HOM") y los de sus compañeros de camada de tipo natural ("WT").

La Figura 2 proporciona una representación gráfica de un aumento de los espesores de hueso cortical observados en ratones *knockout* tanto homocigotos como heterocigotos ("HET") para el gen NOTUM, en comparación con sus compañeros de camada de tipo natural.

La Figura 3 proporciona una representación gráfica de los resultados obtenidos de las pruebas de resistencia a la fractura del fémur y de compresión de la columna vertebral realizadas en los huesos de ratones macho *knockout* homocigotos y heterocigotos para el gen NOTUM y sus compañeros de camada de tipo natural.

La Figura 4 proporciona una representación gráfica de los resultados obtenidos de las pruebas de resistencia a la fractura del fémur y de compresión de la columna vertebral realizadas en los huesos de ratones hembra *knockout* homocigotos y heterocigotos para el gen NOTUM y sus compañeros de camada de tipo natural.

La Figura 5 proporciona una representación gráfica de las mediciones de los espesores corticales en la diáfisis media del fémur obtenidas después de 25 días de administración a ratones híbridos machos F1 (129 x C57) DE 1 mg/kg, 8 mg/kg y 24 mg/kg del inhibidor de NOTUM ácido 2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético.

La Figura 6 proporciona una representación gráfica de las mediciones de los espesores corticales en la diáfisis media del fémur obtenidas después de cinco semanas de administración a ratas Fischer 344 ovariectomizadas de ácido 2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético, en la que "CONTROL SIMULADO" se refiere a las ratas que no fueron ovariectomizadas y a las que no se administró el compuesto; "SIMULADO MÁS COMPUESTO" se refiere a las ratas que no fueron ovariectomizadas pero a las que se les administró el compuesto; "CONTROL OVX" se refiere a las ratas que fueron ovariectomizadas pero a las que no se administró el compuesto y "OVX MÁS COMPUESTO" se refiere a las ratas que fueron ovariectomizadas y a las que se les administró el compuesto.

La Figura 7 proporciona una representación gráfica de las mediciones de los espesores corticales en la diáfisis media de la tibia obtenidas del mismo experimento asociado con la Figura 6.

La Figura 8 proporciona una representación gráfica de las mediciones de los espesores corticales en la diáfisis media del fémur obtenidas después de 25 días de administración a ratones híbridos machos F1 (129 x C57) de 3 mg/kg, 10 mg/kg y 30 mg/kg del inhibidor de NOTUM ácido 2-((6-cloro-7-ciclopropiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético.

La Figura 9 proporciona una representación gráfica de las mediciones de los espesores corticales en la diáfisis media del fémur obtenidas después de siete y 18 días de administración a ratones híbridos machos F1 (129 x C57) de 34 mg/kg del inhibidor de NOTUM ácido 2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético).

5. Descripción detallada de la invención

Esta invención se basa, en parte, en el descubrimiento de que la inhibición de NOTUM puede afectar a la formación de hueso endocortical. Aspectos particulares de la invención se basan en estudios de ratones que carecen de un gen funcional NOTUM ("ratones knockout"), en el descubrimiento de compuestos que inhiben NOTUM y en el descubrimiento de que tales compuestos pueden ser utilizados para estimular la formación de hueso cortical en ratones y ratas.

5.1. Definiciones

A menos que se indique lo contrario, el término "alqueniilo" significa un hidrocarburo de cadena lineal, ramificada y/o cíclico que tiene de 2 a 20 (por ejemplo, de 2 a 10 o de 2 a 6) átomos de carbono y que incluye al menos un doble enlace carbono-carbono. Restos alqueniilo representativos incluyen vinilo, alilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobutenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-metil-1-butenilo, 2-metil-2-butenilo, 2,3-dimetil-2-butenilo, 1-hexenilo, 2-hexenilo, 3-hexenilo, 1-heptenilo, 2-heptenilo, 3-heptenilo, 1-octenilo, 2-octenilo, 3-octenilo, 1-nonenilo, 2-nonenilo, 3-nonenilo, 1-decenilo, 2-decenilo y 3-decenilo.

A menos que se indique lo contrario, el término "alcoxi" significa un grupo -O-alquilo. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen, pero no se limitan a, -OCH₃, -OCH₂CH₃, -O(CH₂)₂CH₃, -O(CH₂)₃CH₃, -O(CH₂)₄CH₃ y -O(CH₂)₅CH₃.

A menos que se indique lo contrario, el término "alquilo" significa un hidrocarburo de cadena lineal, ramificada y/o cíclico ("cicloalquilo"). Restos alquilo no cíclicos pueden tener de 1 a 20 (por ejemplo, de 1 a 10 o de 1 a 4) átomos de carbono; restos alquilo cíclicos pueden tener 3-20 (por ejemplo, 3-10 o 3-6) átomos de carbono. Los restos alquilo que tienen de 1 a 4 carbonos se denominan "alquilo inferior". Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, t-butilo, isobutilo, pentilo, hexilo, isohexilo, heptilo, 4,4-dimetilpentilo, octilo, 2,2,4-trimetilpentilo, nonilo, decilo, undecilo y dodecilo. Los restos cicloalquilo pueden ser monocíclicos o multicíclicos y los ejemplos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y adamantilo. Los ejemplos adicionales de restos alquilo tienen porciones lineales, ramificadas y/o cíclicas (por ejemplo, 1-etil-4-metilciclohexilo). El término "alquilo" incluye hidrocarburos saturados, así como restos alqueniilo y alquinilo.

A menos que se indique lo contrario, el término "alquilarilo" o "alquil-arilo" significa un resto alquilo unido a un resto arilo.

A menos que se indique lo contrario, el término "alquilheteroarilo" o "alquil-heteroarilo" significa un resto alquilo unido a un resto heteroarilo.

5 A menos que se indique lo contrario, el término "alquilheterociclo" o "alquil-heterociclo" significa un resto alquilo unido a un resto heterociclo.

10 A menos que se indique lo contrario, el término "alquinilo" significa un hidrocarburo de cadena lineal, ramificada o cíclico que tiene de 2 a 20 (por ejemplo, de 2 a 20 o de 2 a 6) átomos de carbono e incluye al menos un triple enlace carbono-carbono. Alquiniolos representativos incluyen acetilenilo, propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo, 3-metil-1-butinilo, 4-pentinilo, 1-hexinilo, 2-hexinilo, 5-hexinilo, 1-heptinilo, 2-heptinilo, 6-heptinilo, 1-octinilo, 2-octinilo, 7-octinilo, 1-noninilo, 2-noninilo, 8-noninilo, 1-decinilo, 2-decinilo y 9-decinilo.

15 A menos que se indique lo contrario, el término "arilo" significa un anillo aromático o un sistema de anillo aromático o parcialmente aromático compuesto de átomos de carbono e hidrógeno. Un resto arilo puede comprender múltiples anillos unidos o condensados. Ejemplos de restos arilo incluyen, pero no se limitan a, antraceno, azuleno, bifenilo, fluoreno, indano, indenilo, naftilo, fenantreno, fenilo y 1,2,3,4-tetrahidro-naftaleno.

20 A menos que se indique lo contrario, el término "arilalquilo" o "alquil-arilo" significa un resto arilo unido a un radical alquilo.

A menos que se indique lo contrario, los términos "halógeno" y "halo" abarcan flúor, cloro, bromo y yodo.

25 A menos que se indique lo contrario, el término "heteroalquilo" se refiere a un resto alquilo (lineal, ramificado o cíclico) en el que al menos uno de sus átomos de carbono ha sido reemplazado con un heteroátomo (por ejemplo, N, O o S).

30 A menos que se indique lo contrario, el término "heteroalquilarilo" o "heteroalquilo-arilo" se refiere a un resto heteroalquilo unido a un resto alquilo.

A menos que se indique lo contrario, el término "heteroalquilheterociclo" o "hetero-alquilheterociclo" se refiere a un resto heteroalquilo unido al resto heterociclo.

35 A menos que se indique lo contrario, el término "heteroarilo" significa un resto arilo en el que al menos uno de sus átomos de carbono ha sido reemplazado con un heteroátomo (por ejemplo, N, O o S). Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, acridinilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, benzoisotiazolilo, benzoisoxazolilo, benzoquinazolinilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, furilo, imidazolilo, indolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, oxadiazolilo, oxazolilo, ftalazinilo, pirazinilo, pirazolilo, piridazinilo, piridilo, pirimidinilo, pirimidilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, tetrazolilo, tiazolilo y triazinilo.

40 A menos que se indique lo contrario, el término "heteroarilalquilo" o "heteroaril-alquilo" significa un resto heteroarilo unido a un resto alquilo.

45 A menos que se indique lo contrario, el término "heterociclo" se refiere a un anillo o sistema de anillo monocíclico o policíclico, aromático, parcialmente aromático o no aromático compuesto de carbono, hidrógeno y al menos un heteroátomo (por ejemplo, N, O o S). Un heterociclo puede comprender múltiples (es decir, dos o más) anillos condensados o unidos. Los heterociclos incluyen heteroarilos. Ejemplos incluyen, pero no se limitan a, benzo[1,3]dioxolilo, 2,3-dihidro-benzo[1,4]dioxinilo, cinolinilo, furanilo, hidantoinilo, morfolinilo, oxetanilo, oxiranilo, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidinonilo, pirrolidinilo, tetrahidrofurano, tetrahidropirano, tetrahidropiridinilo, tetrahidropirimidinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrotiopirano y valerolactamilo.

50 A menos que se indique lo contrario, el término "heterocicloalquilo" o "heterociclo-alquilo" se refiere a un resto heterociclo unido a un resto alquilo.

55 A menos que se indique lo contrario, el término "heterocicloalquilo" se refiere a un heterociclo no aromático.

A menos que se indique lo contrario, el término "heterocicloalquilalquilo" o "heterocicloalquil-alquilo" se refiere a un resto heterocicloalquilo unido a un resto alquilo.

60 A menos que se indique lo contrario, los términos "manejar" y "manejo" abarcan la prevención de la recurrencia de la enfermedad o trastorno especificado en un paciente que ya ha sufrido la enfermedad o trastorno y/o alargan el tiempo que un paciente que ha sufrido la enfermedad o trastorno permanece en remisión. Los términos abarcan la modulación del umbral, el desarrollo y/o duración de la enfermedad o trastorno o el cambio de la forma en que un paciente responde a la enfermedad o trastorno.

65 A menos que se indique lo contrario, el término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas

a partir de ácidos o bases no tóxicas farmacéuticamente aceptables que incluyen ácidos y bases inorgánicas y ácidos y bases orgánicas. Sales de adición de base farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen, pero no se limitan a, sales metálicas preparadas a partir de aluminio, calcio, litio, magnesio, potasio, sodio y cinc o sales orgánicas preparadas a partir de lisina, N,N'-dibenciletilendiamina, clorprocaína, colina, dietanolamina, etilendiamina, meglumina (N-metilglucamina) y procaína. Ácidos no tóxicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ácidos inorgánicos y orgánicos tales como ácido acético, algínico, antranílico, bencenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, cítrico, etenosulfónico, fórmico, fumárico, furoico, galacturónico, glucónico, glucurónico, glutámico, glicólico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, múcico, nítrico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fosfórico, propiónico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, sulfúrico, tartárico y p-toluenosulfónico. Ácidos no tóxicos específicos incluyen ácido clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, sulfúrico y metanosulfónico. Ejemplos de sales específicas incluyen, por lo tanto, sales clorhidrato y mesilato. Otras son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington Pharmaceutical Sciences, 18ª ed. (Mack Publishing, Easton PA: 1990) y Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 19ª ed. (Mack Publishing, Easton PA: 1995).

15 A menos que se indique lo contrario, los términos "prevenir" y "prevención" contemplan una acción que se produce antes de que un paciente comience a sufrir la enfermedad o trastorno especificado, que inhibe o reduce la gravedad de la enfermedad o trastorno. En otras palabras, los términos abarcan la profilaxis.

20 A menos que se indique lo contrario, una "cantidad profilácticamente eficaz" de un compuesto es una cantidad suficiente para prevenir una enfermedad o trastorno, o uno o más síntomas asociados con la enfermedad o trastorno o prevenir su recurrencia. Una "cantidad profilácticamente eficaz" de un compuesto significa una cantidad de un agente terapéutico, solo o en combinación con otros agentes, que proporciona un beneficio profiláctico en la prevención de la enfermedad. El término "cantidad profilácticamente eficaz" puede abarcar una cantidad que mejora la profilaxis global o aumenta la eficacia profiláctica de otro agente profiláctico.

25 A menos que se indique lo contrario, el término "sustituido", cuando se usa para describir una estructura o resto químico, se refiere a un derivado de esa estructura o resto en el que uno o más de sus átomos de hidrógeno está sustituido con un resto químico o grupo funcional tal como, pero sin limitarse a, alcohol, aldehído, alcoxi, alcanoiloxi, alcoxicarbonilo, alquenilo, alquilo (por ejemplo, metilo, etilo, propilo, ciclopropilo, t-butilo), alquinilo, alquilcarboniloxi (-OC(O)alquilo), amida (por ejemplo -C(O)NH-alquilo, -alquilNHC(O)alquilo), amidinilo (por ejemplo, -C(NH)NH-alquilo, -C(NR)NH₂), amina (primaria, secundaria y terciaria, tal como alquilamino, arilamino, arilalquilamino), aroilo, arilo, ariloxi, azo, carbamóilo (por ej, -NHC(O)O-alquilo-, -OC(O)NH-alquilo), carbamilo (por ej, CONH₂, CONH-alquilo, CONH-arilo, CONH-arilalquilo), carbonilo, carboxilo, ácido carboxílico, anhídrido de ácido carboxílico, cloruro de ácido carboxílico, ciano, éster, epóxido, éter (por ejemplo, metoxi, etoxi), guanidino, halo, haloalquilo (por ej, -CCl₃, -CF₃, -C(CF₃)₃), heteroalquilo, hemiacetal, imina (primaria y secundaria), isocianato, isotiocianato, cetona, nitrilo, nitro, oxo, fosfodiéster, sulfuro, sulfonamido (por ejemplo, SO₂NH₂), sulfona, sulfonilo (incluyendo alquilsulfonilo, arilsulfonilo y arilalquilsulfonilo), sulfóxido, tiol (por ejemplo, sulfhidrilo, tioéter) y urea (por ejemplo, -NHCONH-alquilo). Sustituyentes particulares son alcoxi, alquilo, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino), arilo, ácido carboxílico, ciano, halo, haloalquilo, heterociclo e hidroxilo.

40 A menos que se indique lo contrario, una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto es una cantidad suficiente para proporcionar un beneficio terapéutico en el tratamiento o manejo de una enfermedad o trastorno o para retrasar o minimizar uno o más síntomas asociados con la enfermedad o trastorno. Una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto significa una cantidad de agente terapéutico, solo o en combinación con otras terapias, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento o manejo de la enfermedad o trastorno. El término "cantidad terapéuticamente eficaz" puede abarcar una cantidad que mejora la terapia global, reduce o evita síntomas o causas de una enfermedad o trastorno, o aumenta la eficacia terapéutica de otro agente terapéutico.

50 A menos que se indique lo contrario, los términos "tratar" y "tratamiento" contemplan una acción que se produce mientras un paciente está sufriendo la enfermedad o trastorno especificado, que reduce la gravedad de la enfermedad o trastorno, o retarda o retrasa la progresión de la enfermedad o trastorno.

55 A menos que se indique lo contrario, el término "incluye" tiene el mismo significado que "incluye, pero no se limita a" y el término "incluyen" tiene el mismo significado que "incluyen, pero no se limitan a". De manera similar, el término "tal como" tiene el mismo significado que el término "tal como, pero sin limitarse a".

60 A menos que se indique lo contrario, uno o más adjetivos inmediatamente antes de una serie de sustantivos, debe entenderse que se aplica a cada uno de los sustantivos. Por ejemplo, la frase "alquilo, arilo o heteroarilo opcionalmente sustituidos" tiene el mismo significado que "alquilo opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido".

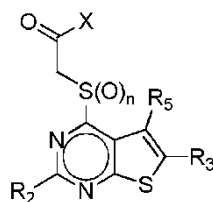
65 Hay que señalar que un resto químico que forma parte de un compuesto más grande puede ser descrito en la presente memoria utilizando un nombre comúnmente acordado cuando este existe como una única molécula o un nombre comúnmente acordado cuando es un radical. Por ejemplo, se acuerda que los términos "piridina" y "piridilo" tengan el mismo significado cuando se usan para describir un resto unido a otros restos químicos. Por lo tanto, se acuerda que las dos frases "XOH, en la que X es piridilo" y "XOH, en la que X es piridina", tengan el mismo

significado y abarcan los compuestos piridin-2-ol, piridin-3-ol y piridin-4-ol.

También hay que señalar que si la estereoquímica de una estructura o una porción de una estructura no se indica con, por ejemplo, líneas en negrita o discontinuas, la estructura o la porción de la estructura debe interpretarse como que abarca todos los estereoisómeros de la misma. Además, cualquier átomo mostrado en un dibujo con valencias no satisfechas se supone que está unido a suficientes átomos de hidrógeno para satisfacer las valencias. Además, los enlaces químicos representados con una línea continua paralela a una línea discontinua abarcan enlaces tanto sencillos como dobles (por ejemplo, aromáticos), si las valencias lo permitan.

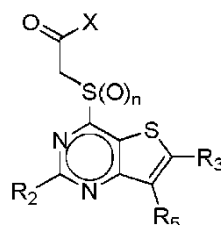
5.2. Compuestos

Esta invención abarca compuestos:



- o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que: X es OR_{1B} o $N(R_{1B})_2$; cada R_{1B} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_2 es hidrógeno, halo, $-CO_2R_{2A}$, $-C(O)N(R_{2A})_2$, $-SR_{2A}$, $-OR_{2A}$, $-N(R_{2A})_2$ o alquilo opcionalmente sustituido, arilo, heteroalquilo o heterociclo; cada R_{2A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_3 es hidrógeno, halo, ciano, $-CO_2R_{3A}$, $-C(O)N(R_{3A})_2$, $-SR_{3A}$, $-OR_{3A}$, $-N(R_{3A})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada R_{3A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_5 es hidrógeno, halo, $-CO_2R_{5A}$, $-C(O)N(R_{5A})_2$, $-SR_{5A}$, $-OR_{5A}$, $-N(R_{5A})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada R_{5A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; y n es 1 o 2; en el que "opcionalmente sustituidos" significa opcionalmente sustituidos con uno o más de alcoxi, alquilo, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino), arilo, ácido carboxílico, ciano, halo, haloalquilo, heterociclo o hidroxilo.

La invención también abarca compuestos de la fórmula:



- o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que: X es OR_{1B} o $N(R_{1B})_2$; cada R_{1B} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_2 es hidrógeno, halo, $-CO_2R_{2A}$, $-C(O)N(R_{2A})_2$, $-SR_{2A}$, $-OR_{2A}$, $-N(R_{2A})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada R_{2A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_3 es hidrógeno, halo, ciano, $-CO_2R_{3A}$, $-C(O)N(R_{3A})_2$, $-SR_{3A}$, $-OR_{3A}$, $-N(R_{3A})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada R_{3A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_4 es hidrógeno, halo o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; R_5 es hidrógeno, halo, $-CO_2R_{5A}$, $-C(O)N(R_{5A})_2$, $-SR_{5A}$, $-OR_{5A}$, $-N(R_{5A})_2$ o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; cada R_{5A} es independientemente hidrógeno o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; y n es 1 o 2; en el que "opcionalmente sustituidos" significa opcionalmente sustituidos con uno o más de alcoxi, alquilo, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino), arilo, ácido carboxílico, ciano, halo, haloalquilo, heterociclo, o hidroxilo

En algunos compuestos, R_2 es hidrógeno, halo, o alquilo inferior. En compuestos particulares, R_2 es hidrógeno.

En algunos, R_3 es ciano, halo, hidroxilo o alquilo opcionalmente sustituido.

En algunos, R_4 es hidrógeno.

En algunos, R_5 es ciano, halo, hidroxilo, o alquilo opcionalmente sustituido.

En compuestos particulares de esta fórmula, X es OR_{1B} .

En algunos, R_{1B} es hidrógeno, o alquilo o arilo opcionalmente sustituidos.

En algunos, R₂ es hidrógeno o alquilo opcionalmente sustituido.

5 En algunos, R₃ es alquilo o halo.

En algunos, R₃ es cloro.

En algunos, R₅ es alquilo o halo.

10

En algunos, R₅ es alquilo C₁₋₄.

Una realización particular es tal que el compuesto no sea 2-((6,7-difenilfuro[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-1-morfolinoetanona. Una forma de realización es tal que R₃ y R₅ no sean ambos fenilo.

15

Los compuestos particulares tienen una CI₅₀ de menos de aproximadamente 0,1, 0,05 o 0,025 μM determinada mediante el ensayo de unión descrito en la presente memoria. Los compuestos particulares tienen una CE₅₀ de menos de aproximadamente 5, 2,5, o 1 μM determinada mediante el ensayo de indicador descrito en la presente memoria.

20

Los compuestos de la invención (es decir, los compuestos divulgados en la presente memoria) se pueden preparar mediante los métodos divulgados en la presente memoria, así como mediante los métodos conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, la patente US N° 6.579.882 concedida a Stewart et al.; patente EP N° 0447891 concedida a Wiesenfeldt et al.

25

5.3. **Métodos de tratamiento**

Esta invención se refiere a un método para estimular la formación de hueso endocortical en un paciente, que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad eficaz de un compuesto de la invención.

30

También se refiere a un método para aumentar el espesor del hueso cortical, que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad eficaz de un compuesto de la invención.

Esta invención se refiere a un método de tratamiento, manejo o prevención de una enfermedad o trastorno asociado con la pérdida ósea, que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz de un compuesto de la invención. Ejemplos de enfermedades y trastornos incluyen la osteoporosis (por ejemplo, la osteoporosis posmenopáusica, la osteoporosis inducida por esteroides o glucocorticoides), la osteopenia y la enfermedad de Paget.

35

También en relación con la invención es un método de tratamiento, manejo o prevención de fracturas de huesos, que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz de un compuesto de la invención. Algunas fracturas óseas particulares están asociadas con enfermedad ósea metastásica, es decir, cáncer que se ha metastatizado al hueso. Ejemplos de cánceres que pueden metastatizar al hueso incluyen cáncer de próstata, mama, pulmón, tiroides y riñón.

40

Esta invención también se refiere a un método de tratamiento, manejo o prevención de la pérdida ósea asociada con, o causada por, una enfermedad o trastorno, que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente o profilácticamente eficaz de un compuesto de la invención. Ejemplos de enfermedades y trastornos incluyen enfermedad celíaca, enfermedad de Crohn, síndrome de Cushing, hiperparatiroidismo, enfermedad inflamatoria intestinal y colitis ulcerosa.

45

50

Ejemplos de pacientes que pueden beneficiarse de los métodos de esta invención incluyen hombres y mujeres de 55 años o mayores, mujeres posmenopáusicas y pacientes que sufren insuficiencia renal.

Los compuestos de la invención pueden administrarse en combinación (por ejemplo, en el mismo o en diferentes momentos) con otros fármacos conocidos por ser útiles en el tratamiento, manejo o prevención de enfermedades o trastornos que afectan al hueso. Ejemplos incluyen: moduladores del receptor de andrógenos; bisfosfonatos; calcitonina; antagonistas de los receptores de detección de calcio; inhibidores de la catépsina K; estrógenos y moduladores del receptor de estrógenos; aglutinantes de integrina, anticuerpos y antagonistas del receptor; hormona paratiroidea (PTH) y análogos y miméticos de los mismos; y Vitamina D y análogos sintéticos de la vitamina D.

55

60

Ejemplos de moduladores del receptor de andrógenos incluyen finasterida y otros inhibidores de la 5α-reductasa, nilutamida, flutamida, bicalutamida, liarozol, y acetato de abiraterona.

Ejemplos de bisfosfonatos incluyen alendronato, cimadronato, clodronato, etidronato, ibandronato, incadronato, minodronato, neridronato, olpadronato, pamidronato, piridronato, risedronato, tiludronato y zolendronato, y las sales farmacéuticamente aceptables y ésteres de los mismos.

65

Ejemplos de inhibidores de la catepsina K incluyen VEL-0230, AAE581 (balicatib), MV061194, SB-462795 (relacatib), MK-0822 (odanacatib) y MK-1256.

Ejemplos de estrógenos y moduladores del receptor de estrógenos incluyen los estrógenos naturales (por ej, 7-estradiol, estrona y estriol), estrógenos conjugados (por ejemplo, estrógenos equinos conjugados), anticonceptivos orales, estrógenos sulfatados, 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'-dihidroxibenzofenona-2,4-dinitrofenilhidrazona y SH646.

Ejemplos de aglutinantes de integrina, anticuerpos y antagonistas del receptor incluyen vitaxin (MEDI-522), cilengitide y L-000845704.

5.4. **Formulaciones farmacéuticas**

Esta invención abarca composiciones farmacéuticas que comprenden uno o más compuestos de la invención, y opcionalmente uno o más de otros fármacos, tales como los descritos anteriormente.

Determinadas composiciones farmacéuticas son formas farmacéuticas unitarias adecuadas para la administración oral, mucosal (por ejemplo, nasal, sublingual, vaginal, bucal o rectal), parenteral (por ejemplo, subcutánea, intravenosa, inyección de bolo, intramuscular, o intraarterial) o transdérmica a un paciente. Ejemplos de formas farmacéuticas incluyen, pero no se limitan a: comprimidos; comprimidos oblongos; cápsulas, tales como cápsulas de gelatina elástica blandas; sellos; trociscos; pastillas para chupar; dispersiones; supositorios; ungüentos; cataplasmas (emplastos); pastas; polvos; apósitos; cremas; yesos; soluciones; parches; aerosoles (por ejemplo, aerosoles nasales o inhaladores); geles; formas farmacéuticas líquidas adecuadas para la administración oral o mucosal a un paciente, incluyendo suspensiones (por ejemplo, suspensiones líquidas acuosas o no acuosas, emulsiones de aceite en agua o emulsiones líquidas agua en aceite), soluciones y elixires; formas farmacéuticas líquidas adecuadas para administración parenteral a un paciente y sólidos estériles (por ejemplo, sólidos cristalinos o amorfos) que pueden reconstituirse para proporcionar formas farmacéuticas líquidas adecuadas para administración parenteral a un paciente.

La formulación debe adecuarse al modo de administración. Por ejemplo, la administración oral requiere recubrimientos entéricos para proteger los compuestos de esta invención de la degradación dentro en el tracto gastrointestinal. De manera similar, una formulación puede contener componentes que faciliten la administración del principio(s) activo(s) al sitio de acción. Por ejemplo, los compuestos pueden administrarse en formulaciones de liposomas, con el fin de protegerlos de las enzimas degradativas, facilitar el transporte en el sistema circulatorio y efectuar la administración a través de membranas celulares a sitios intracelulares.

La composición, forma y tipo de una forma farmacéutica variará dependiendo de su uso. Por ejemplo, una forma farmacéutica usada en el tratamiento agudo de una enfermedad puede contener mayores cantidades de uno o más de los principios activos que la que comprende una forma farmacéutica usada en el tratamiento crónico de la misma enfermedad. Del mismo modo, una forma farmacéutica parenteral puede contener cantidades más pequeñas de uno o más de los principios activos que la que comprende una forma farmacéutica oral usada para tratar la misma enfermedad. Estas y otras maneras en las que las formas farmacéuticas específicas abarcadas por esta invención variarán una de otra serán fácilmente evidentes para los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington Pharmaceutical Sciences, 18ª ed. (Mack Publishing, Easton PA: 1990).

Las composiciones farmacéuticas de esta invención se administran preferiblemente por vía oral. Formas farmacéuticas discretas adecuadas para la administración oral incluyen comprimidos (por ejemplo, comprimidos masticables), comprimidos oblongos, cápsulas y líquidos (por ejemplo, jarabes aromatizados). Tales formas farmacéuticas contienen cantidades predeterminadas de principios activos y se pueden preparar por métodos de farmacia bien conocidos por los expertos en la materia. Véase, por ejemplo, Remington Pharmaceutical Sciences, 18ª ed. (Mack Publishing, Easton PA: 1990).

Formas farmacéuticas orales típicas se preparan combinando el principio(s) activo(s) en una mezcla íntima con al menos un excipiente de acuerdo con técnicas de composición farmacéutica convencionales. Los excipientes pueden adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración.

Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan las formas farmacéuticas unitarias orales más ventajosas. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse por técnicas acuosas o no acuosas estándar. Dichas formas farmacéuticas se pueden preparar por métodos convencionales de farmacia. En general, las composiciones farmacéuticas y las formas farmacéuticas se preparan mezclando uniforme e íntimamente los principios activos con vehículos líquidos, vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y después conformando el producto en la presentación deseada si es necesario. Pueden incorporarse disgregantes a las formas farmacéuticas sólidas para facilitar una disolución rápida. También pueden incorporarse lubricantes para facilitar la fabricación de las formas farmacéuticas (por ejemplo, comprimidos).

6. EJEMPLOS

6.1. Ratón *knockout*

5 Se generaron ratones homocigotos para una mutación obtenida por ingeniería genética en el ortólogo murino del gen NOTUM humano utilizando los correspondientes clones de células madre embrionarias mutadas de la colección OMNIBANK de clones de células madre embrionarias mutadas (véase, en general, la patente US N° 6.080.576). Resumiendo, los clones de células madre embrionarias que contienen una inserción viral mutagénica en el locus NOTUM murino se microinyectaron en blastocistos, los cuales a su vez se implantaron en hembras hospedadoras pseudopreñadas y llevadas a término. La descendencia quimérica resultante fue posteriormente cruzada con 6 ratones hembra C57 negros y se comprobó en la descendencia la transmisión de la línea germinal del alelo NOTUM desactivado. Posteriormente, los animales heterocigotos para el alelo NOTUM mutado fueron cruzados para producir descendencia que era homocigota para el alelo mutado NOTUM, heterocigota para el alelo mutado NOTUM o descendencia de tipo natural en una proporción aproximada de 1:2:1.

15 Se estudiaron ratones homocigotos (-/-) para la desactivación del gen NOTUM conjuntamente con ratones heterocigotos (+/-) para la desactivación del gen NOTUM y los compañeros de camada de tipo natural (+/+). Durante este análisis, los ratones fueron sometidos a un seguimiento médico mediante un conjunto integrado de procedimientos diagnósticos médicos diseñados para evaluar la función de los principales sistemas de órganos en un sujeto mamífero. Mediante el estudio de los ratones "knockout" homocigotos (-/-) en los números descritos y conjuntamente con los compañeros de camada heterocigotos (+/-) y de tipo natural (+/+), se obtuvieron datos más fiables y repetibles.

25 Como se muestra en la Figura 1, los ratones macho con desactivación homocigota del gen NOTUM ("Hom") mostraron mayores espesores corticales en varios sitios óseos, en comparación con sus compañeros de camada de tipo natural a las 16 semanas de edad (número de ratones N = 10 para ambos grupos). Estas diferencias, que se midieron por microCT (Scanco μ CT40), fueron: 28 % ($p < 0,001$) en la diáfisis media del fémur; 19 % ($p < 0,001$) en la diáfisis media del húmero; 17 % ($p < 0,001$) en la diáfisis media de la tibia y 11 % ($p < 0,001$) en la unión tibia-peroné. Como se muestra en la Figura 2, a las 16 semanas de edad, el espesor del hueso cortical en la diáfisis media del fémur de los ratones heterocigotos para la mutación NOTUM "Het" también fue mayor que la de sus compañeros de camada de tipo natural: los machos het (N = 50) mostraron un 6 % ($p = 0,007$) de aumento en comparación con sus compañeros de camada de tipo natural (n = 23) y las hembras het (n = 57) mostraron un 9 % ($p < 0,001$) de aumento en comparación con sus compañeros de camada de tipo natural (N = 22).

35 Las manifestaciones prácticas de la redistribución observada de la formación de hueso en animales NOTUM se refleja en las Figuras 3 y 4, las cuales muestran resultados de ensayos de resistencia a la fractura del fémur (realizado por SkeleTech, ahora Ricerca Biosciences) utilizando una prueba estándar de flexión de 4 puntos. Como se muestra en la Figura 3, que proporciona resultados obtenidos para los ratones machos a las 16 semanas de edad, los het (N = 20) mostraron un ($p = 0,54$) aumento del 5 % en la resistencia a la fractura del fémur en comparación con sus compañeros de camada de tipo natural (N = 23), mientras que los Hom (N = 17) mostraron un aumento del 28 % ($p < 0,001$). Por otro lado, los ensayos de compresión de la columna vertebral de ambos hom y het para Notum no mostraron una reducción significativa en las cargas máximas de compresión de la columna vertebral en comparación con los controles de tipo natural. Se obtuvieron resultados similares para los ratones hembra a las 16 semanas de edad. Como se muestra en la Figura 4, los het (N = 20) mostraron un aumento del 12 % ($p = 0,04$) en la resistencia a la fractura del fémur en comparación con sus compañeros de camada de tipo natural (N = 21), mientras que los Hom (N = 18) mostraron un 28 % ($p < 0,001$) de aumento. El análisis de estos y otros datos reveló una fuerte correlación entre el espesor cortical y la resistencia a la fractura del fémur.

6.2. Ensayo de indicador

50 Los valores CE_{50} de los compuestos se determinaron utilizando este ensayo, el cual utiliza medios acondicionados que se prepararon como se indica a continuación. El plásmido que contiene la notum pectinacetiltransferasa humana en el vector pcDNA3.1(+) se transfectó en células HEK293 y los clones se seleccionaron por crecimiento en presencia de 400 μ g/ml de G418. El clon que contiene la expresión de la notum pectinacetiltransferasa humana más alta en el medio condicionado se mantuvo durante todos los ensayos de actividad en el futuro. Las células L que sobreexpresan y secretan Wnt3a en los medios condicionados se adquirieron de ATCC.

60 El protocolo del ensayo fue el siguiente. Se cultivaron aproximadamente 5 millones de células CellSensor@LEF/TCF-bla Freestyle™ 293F hasta casi la confluencia en placas de 15 cm. El medio de crecimiento de las células consistía en DMEM con FBS dializado 10 %, 5 μ g/ml de blasticidina (Invitrogen, R210-01), NEAA 0,1 mM, HEPES 25 mM y 1 x GPS. Las células se tripsinizaron a continuación mediante un primer enjuague con PBS, seguido de la adición de 5 ml de tripsina e incubación de las placas a temperatura ambiente durante dos minutos. A continuación se añadió un total de 10 ml de medio de ensayo (Opti-MEM, más FBS dializado 0,5 %, NEAA 0,1 mM, piruvato de sodio 1 mM, HEPES 10 mM, 1x GPS) por placa de 15 cm. Las células se contaron y se suspendieron a razón de 0,75 millones de células por ml. Las células se sembraron en placas de 384 pocillos Biocoat (Fisher, Catálogo N° 356663) a una densidad de 15.000 células por 20 μ l por pocillo. Después de la incubación de las células a 37 °C durante 3 horas,

se añadió 10 µl de LiCl 30 mM en medio de ensayo por pocillo, seguido de incubación a 37 °C durante otras 3 horas. Mientras tanto, los compuestos fueron dispensados mediante señales acústicas a las placas de 384 pocillos Greiner (Nº de catálogo 781076) usando un dispositivo ECHO, seguido de la adición de 10 µl por pocillo de medio acondicionado con Wnt3a y 10 µl por pocillo de medio acondicionado con notum pectinacetiltransferasa. A continuación se transfirieron 10 µl de mezcla Wnt3a/notum pectinacetiltransferasa desde las placas Greiner a cada uno de los pocillos de las placas de 384 pocillos que contenían las células CellSensor. Después de la incubación de las células durante la noche a 37 °C, se desarrollaron las reacciones por adición de 5 µl de 1xCCF4 (Invitrogen, Número de catálogo K1085) a cada pocillo, cubriendo toda la placa de 384 pocillos y balanceando suavemente en la oscuridad a temperatura ambiente durante 3 horas. Las placas se leyeron a continuación en un lector de placas Envision usando una longitud de onda de excitación de 400 nm y longitudes de onda de emisión de 460 nm y 535 nm.

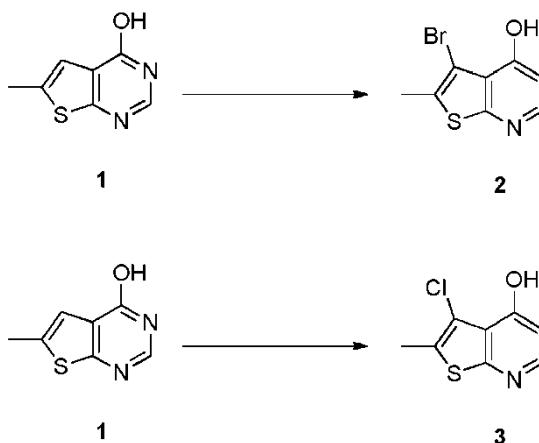
6.3. Ensayo de unión

Los valores CI_{50} de los compuestos se determinaron usando este ensayo, el cual utiliza 8-octanoiloxipireno-1,3,6-trisulfonato trisódico (OPTS), un sustrato enzimático hidrosoluble para ensayos fluorimétricos de esterasas y lipasas. El plásmido que contiene la notum pectinacetiltransferasa en el vector pcDNA3.1(+) se transfectó en células HEK293 y se seleccionaron clones haciéndoles crecer en presencia de 400 µl de G418. Para el ensayo se usaron los medios de acondicionamiento de estas células.

Se utilizó un dispositivo ECHO para dispensar acústicamente 75 nl de compuestos en placas Greiner de 384 pocillos secas (Nº de catálogo 781076), seguido por la adición de 10 µl de Tris/HCl 50 mM (pH 6,8) a cada pocillo de estas placas de ensayo de 384 pocillos. Los medios acondicionados que contenían notum pectinacetiltransferasa humana se diluyeron 75x con tampón de ensayo (Tris 50 mM, pH 6,8, $CaCl_2$ 5 mM, $MgCl_2$ 0,5 mM) y se añadieron a cada pocillo 25 µl de esta "mezcla enzimática" seguido de una pre-incubación de 10 minutos. Las reacciones enzimáticas se iniciaron mediante la adición de 15 µl de sustrato OPTS (Sigma, Nº de catálogo 74875) hasta una concentración final de 5 µM y los tiempos de reacción fueron de 10 minutos a temperatura ambiente. Todas las placas se leyeron en un lector de placas Envision con una longitud de onda de excitación de 485 nm y una longitud de onda de emisión de 535 nm.

6.4. Método general de síntesis A: Preparación de 3-cloro-2-metiltieno[2,3-b]piridin-4-ol (2); 3-bromo-2-metiltieno[2,3-b]piridina-4-ol (3)

Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:

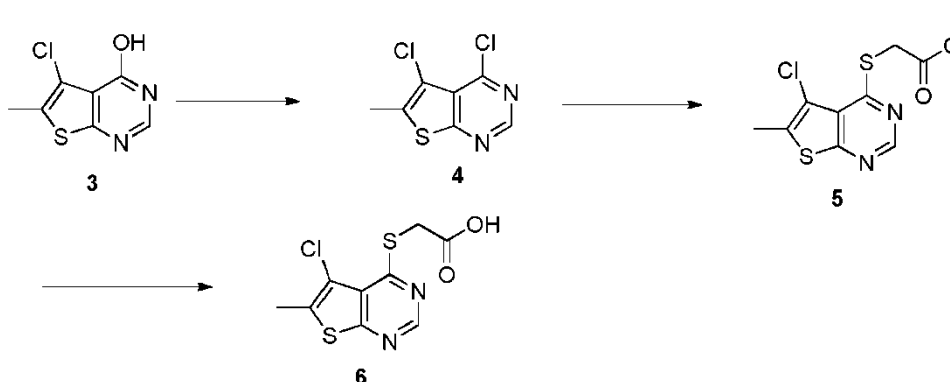


En un matraz de fondo redondo de 100 ml se extrajo 6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-ol **1** (1 g, 6,2 mmol) en ácido acético (12 ml) y se agitó a temperatura ambiente. A esto se añadió bromo (0,3 ml, 6,2 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante toda la noche. A continuación, la reacción se inactivó con hielo y se agitó hasta que se fundió el hielo. El producto se separó por filtración y luego se lavó con agua y se secó para obtener (1 g, 66 % de rendimiento) de 3-bromo-2-metiltieno[2,3-b]piridin-4-ol **2** como un producto seco.

En un matraz de fondo redondo de 3 l se extrajo 6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-ol **1** (50 g, 310 mmol) en ácido acético (525 ml) y se añadió NCS (37,5 g, 372 mmol). La reacción se calentó a 55 °C durante 8 horas. A continuación, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se inactivó con agua y se extrajo el compuesto con cloruro de metileno (2 x 250 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron, dando 3-cloro-2-metiltieno[2,3-b]piridina-4-ol en forma de un sólido **3** en (42,15 g, 70 % de rendimiento).

6.5. Método general de síntesis B: Preparación del ácido 2-(5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acético (6)

Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:



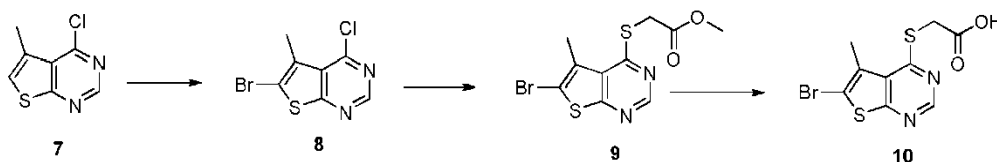
Síntesis de 4: Se suspendió 3-cloro-2-metiltieno[2,3-b]piridin-4-ol **3** (40 g, 2,000 mmol, 1 eq.) en POCl_3 (368 ml, 4000 mmol, 20 eq.) y se calentó a 90 °C durante 4 horas. Después de enfriar la reacción se concentró y el residuo se enfrió a 0 °C. A continuación se añadió lentamente agua fría helada para asegurar el consumo completo de POCl_3 . La solución de color negro se extrajo tres veces con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron dos veces con NaHCO_3 acuoso saturado, una vez con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron, dando un sólido marrón claro 4,5-dicloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidina **4** (41,6 g, rendimiento 93 %), que se usó inmediatamente después del secado completo.

Síntesis de 5: Se suspendió 4,5-dicloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidina **4** (40 g, 182,2 mmol, 1 eq.) en metanol (500 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió lentamente 2-mercaptoacetato de metilo (27 ml, 191,5 mmol, 1,05 eq.), seguido de la adición lenta de TEA (53 ml, 382,6 mmol, 2,1 eq.). Después de agitar durante 90 minutos, se concentró la reacción. El residuo se recogió en acetato de etilo y se filtró a través de un tapón de gel de sílice para eliminar las sales y algo de color. El filtrado se concentró y se purificó usando cromatografía en gel de sílice con acetato de etilo 0-15 % en hexanos, obteniéndose 2-(5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acetato de metilo **5** (47,30 g, rendimiento 91 %) como un sólido blanco.

Síntesis de 6: El 2-(5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acetato de metilo **5** (45 g, 150 mmol, 1 eq.) se extrajo en THF (350 ml) y se añadió NaOH acuoso 1 N (300 ml, 300 mmol, 2 eq.) con agitación eficiente. Después de 40 minutos, la reacción se concentró y el residuo se recogió en agua, se enfrió a 0 °C y se acidificó a pH bajo con HCl 1 N. El precipitado se recogió mediante filtración a vacío, se lavó con agua. El secado en vacío durante toda la noche, dio el ácido 2-(5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acético **6** (40,5 g, rendimiento 94 %) como un sólido blanco.
EM m/z $\text{C}_9\text{H}_7\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}_2$ $[M + 1]^+ = 275$ y $[M + 1]^{+3} = 277$. **RMN de ^1H** (400 MHz, metanol- d_4) δ ppm 8,66 (s, 1 H), 4,05 (s, 2 H), 2,54 (s, 3 H). **RMN de ^{13}C** (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 170,04 (s), 162,55 (s, 1C), 162,48 (s, 1C), 152,55 (s, 1C), 135,03 (s, 1C), 125,03 (s, 1C), 114,36 (s, 1C), 32,17 (s, 1C), 14,05 (s, 1C).

6.6. Método general de síntesis C: Preparación del ácido 2-(6-bromo-5-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acético (10)

Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:

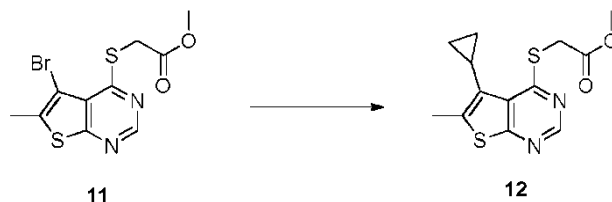


Síntesis de 8: La 4-cloro-5-metiltieno[2,3-d]pirimidina **7** (1 g, 5,4 mmol), preparada de acuerdo con el Método general de síntesis B, se extrajo en ácido acético y se agitó a temperatura ambiente. A esta mezcla de reacción, se añadió bromo (1 eq = 275 μl , 5,4 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante toda la noche. La reacción se inactivó a continuación con hielo y se agitó hasta que se derritió el hielo. El producto se separó por filtración y luego se lavó con agua y se secó para obtener 1 g de 6-bromo-4-cloro-5-metiltieno[2,3-d]pirimidina **8** (786 mg, rendimiento 55 %) como un sólido de color amarillo pálido.

Los compuestos **9** y **10** se prepararon de acuerdo con el Método general de síntesis **B**.

6.7. Método de síntesis general D: Preparación del 2-(5-ciclopropil-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acetato de metilo (12)

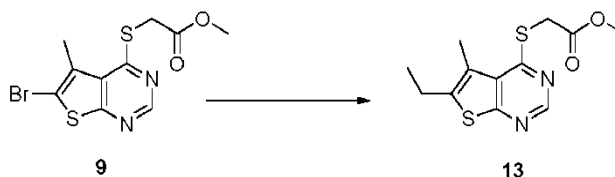
Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:



Un matraz de fondo de redondo de 100 ml se cargó con 2-(5-bromo-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acetato de metilo **11** (0,100 g, 0,3 mmol, 1 eq), ácido ciclopropilborónico (51 mg, 0,6 mmol) y triciclohexilfosfina (8,4 mg, 0,03 mmol) y K_3PO_4 (212 mg, 1,05 mmol) y se extrajeron en tolueno, mezcla acuosa (4 ml, 1:1). Esta mezcla se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de N_2 . A esta solución agitada se añadió diacetoxi paladio (4 mg, 0,015 mmol). A continuación, la mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 8 horas. La reacción se inactivó con la adición de HCl 1 N y la porción acuosa se extrajo tres veces con EtOAc. Las porciones orgánicas combinadas se secaron sobre $MgSO_4$, se filtró y se concentró para dar 2-(5-ciclopropil-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acetato de metilo (40 mg, rendimiento 45 %) **12** como un sólido de color amarillo claro.

6.8. Método general de síntesis de E: Preparación de 2-(6-etil-5-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acetato de metilo (13)

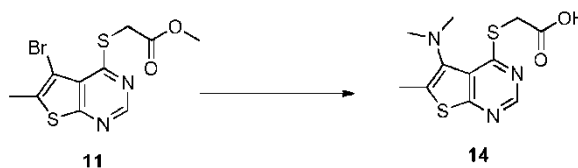
Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:



En un matraz de fondo redondo de 100 ml cargado con 2-(6-bromo-5-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acetato de metilo **9** (50 mg, 0,15 mmol), preparado de acuerdo con el Método general de síntesis C y dietilcinc (1,1 M en tolueno, 204 μ l, 0,23 mmol), $Pd(dba)_3$ (4 mg, 0,0075 mmol) y 2-diciclohexilfosfina-2',6'-isopropoxidifenil (13 mg, 0,03 mmol) se extrajeron en DMF seca (2,5 ml) en un recipiente de microondas y se calentó bajo irradiación por microondas a 160 °C durante 10 minutos. Después se enfrió a temperatura ambiente, se filtró a través de celite y se concentró. Este se recogió en EtOAc y se lavó con agua. La capa orgánica se lavó con salmuera y se secó sobre sulfato de magnesio y se concentró para proporcionar 2-(6-etil-5-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio) acetato de metilo **13** (17 mg, rendimiento 40 %).

6.9. Método general de síntesis F: Preparación del ácido 2-(5-(dimetilamino)-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acético (14)

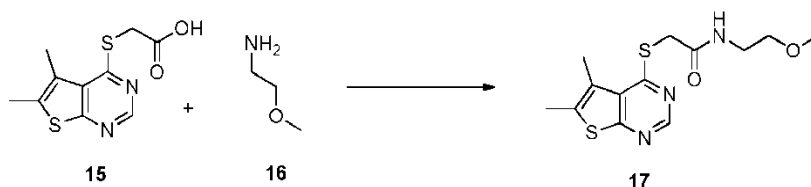
Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:



El 2-(5-bromo-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acetato de metilo **11** (100 mg, 0,3 mmol), preparado usando el procedimiento general de síntesis C, se extrajo en 1 ml (exceso, como disolvente) de dimetilamina al 40 % en agua. A continuación se añadió una cantidad catalítica de óxido de cobre y la reacción se calentó bajo irradiación de microondas a 140 °C durante 15 min. Una vez finalizada la reacción, se purificó mediante HPLC preparativa (acetato de amonio acuoso/acetonitrilo) y se aisló **14** como un sólido blanco (60 mg, rendimiento 71 %).

6.10. Método general de síntesis G: Preparación de 2-(5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)-N-(2-metoxietil)acetamida (17)

Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:



El ácido 2-(5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acético **15** (0,050 g, 0,2 mmol, 1 eq)), que está disponible comercialmente y también se puede preparar usando el Procedimiento general de síntesis **B**, se extrajo en DMF (2,2 ml). A esta mezcla se añadió 2-metoxietanamina **16** (0,019 g, 0,24 mmol, 1,2 eq), HATU (0,076 g, 0,2 mmol, 1 eq) y N,N-diisopropil etilamina (0,08 ml, 0,44 mmol, 2,2 eq) y se agitó la mezcla de reacción durante 8 horas a temperatura ambiente. Se añadió agua para inactivar y la porción acuosa se extrajo tres veces con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por HPLC preparativa usando condiciones neutras dando 2-(5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)-N-(2-metoxietil)acetamida **17** (56 mg, rendimiento 90 %) como un sólido blanco.

6.11. Método general de síntesis H: Preparación del 2-(5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acetato de isopropilo (19)

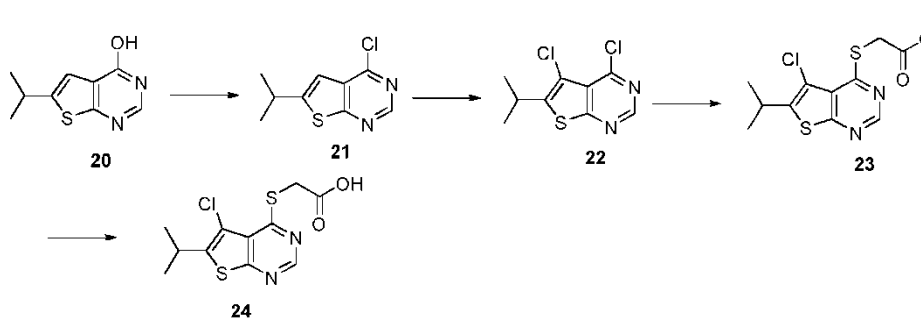
Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:



El compuesto **15** (100 mg, 0,4 mmol), que está disponible comercialmente y también se puede preparar usando el Método general de síntesis **B**, se disolvió en DCM seco y cloruro de tionilo (56 µl, 0,8 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. A continuación el exceso de propano-2-ol **18** se añadió y se agitó a temperatura ambiente durante otra hora. Después, la mezcla de reacción se concentró y se purificó usando HPLC preparativa en fase neutra (acetato de amonio acuoso/acetonitrilo) para dar **19** como un sólido (100 mg, rendimiento 85 %).

6.12. Método general de síntesis I: Preparación del ácido 2-(5-cloro-6-isopropiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acético (24)

Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:



Síntesis de 21: Pirimidona **20** (10 g, 51,4 mmol, 1 eq.), disponible comercialmente y que también se puede preparar por el Procedimiento general de síntesis **D**, se suspendió en POCl₃ (95 ml, 1,028 mmol, 20 eq.) y se calentó a 90 °C durante 4 horas. Después de enfriar la reacción se concentró y el residuo se enfrió a 0 °C. A continuación se añadió lentamente agua fría helada para asegurar el consumo completo de POCl₃. La solución de color negro se extrajo tres veces con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron dos veces con NaHCO₃ acuoso

saturado, una vez con salmuera, se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron, dando 4-cloro-6-isopropiltieno[2,3-d]pirimidina como un sólido marrón claro **21** (10,16 g, rendimiento 93 %), que se usó inmediatamente después del secado completo.

5 **Síntesis de 22:** Se extrajo 4-cloro-6-isopropiltieno[2,3-d]pirimidina **21** (9,2 g, 43,2 mmol, 1 eq.) sólida en ácido acético (75 ml) y NCS (8,65 g, 86,5 mmol, 2 eq.). La reacción se calentó a 55 °C durante 6 horas. La reacción se enfrió y se inactivó con agua y el compuesto se extrajo con cloruro de metileno (2 x 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera y se secaron sobre MgSO_4 , se filtraron y se concentraron, dando 4,5-dicloro-6-isopropiltieno[2,3-d]pirimidina en forma de un sólido **22** (6,2 g, rendimiento 58 %).

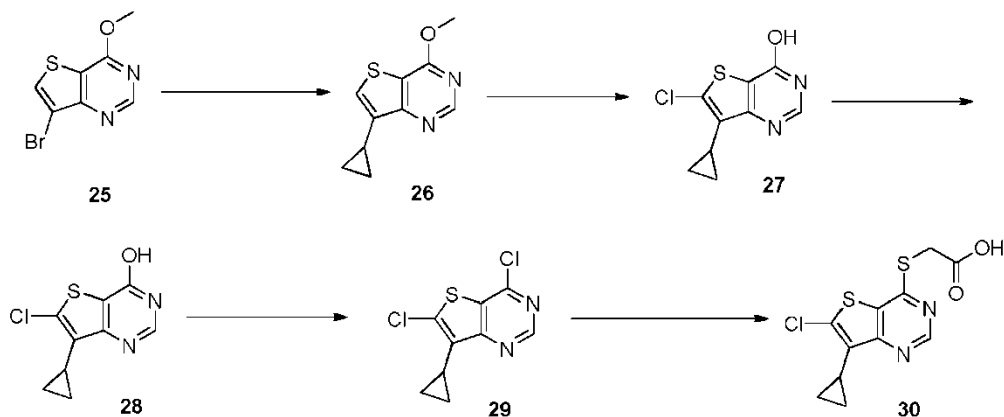
10 **Síntesis de 23:** Se suspendió 4,5-dicloro-6-isopropiltieno[2,3-d]pirimidina **22** (11,6 g, 47 mmol, 1 eq.) en metanol (125 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió lentamente 2-mercaptoacetato de metilo (6,86 ml, 49,35 mmol, 1,05 eq.), seguido lentamente de la adición de TEA (13,7 ml, 98,7 mmol, 2,1 eq.). Después de agitar durante 90 minutos, la reacción se concentró. El residuo se extrajo en acetato de etilo y se filtró a través de un tapón de gel de sílice para eliminar las sales y algo de color. El filtrado se concentró y se purificó usando cromatografía en gel de sílice con acetato de etilo 0-15 % en hexanos, dando 2-(5-cloro-6-isopropiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acetato de metilo **23** (13,6 g, rendimiento 92 %) como un sólido blanco.

20 **Síntesis de 24:** El compuesto **23** (5,0 g, 15,8 mmol, 1 eq.) se extrajo en THF (50 ml) y se añadió NaOH acuoso 1 N (32 ml, 32 mmol, 2 eq.) con agitación eficiente. Después de 40 minutos, la reacción se concentró y el residuo se extrajo en agua, se enfrió a 0 °C y se acidificó a pH bajo con HCl 1 N. El precipitado se recogió mediante filtración a vacío, se lavó con agua. El secado a vacío durante toda la noche, dio el ácido 2-(5-cloro-6-isopropiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acético puro **24** como un sólido blanco (4,5 g, rendimiento 94 %). **EM** m/z $\text{C}_{11}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}_2\text{S}_2$ $[\text{M} + 1]^+ = 303$ y $[\text{M} + 1]^{+3} = 305$. **RMN de ^1H** (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 12,83 (s, 1 H), 8,81 (s, 1 H), 4,12 (s, 2 H), 3,52-3,76 (m, 1 H), 1,32 (d, $J = 7,03$ Hz, 6 H). **RMN de C^{13}** (101 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm 170,0 (s, 1C), 162,8 (s, 1C), 162,2 (s, 1C), 152,6 (s, 1C), 146,9 (s, 1C), 125,1 (s, 1C), 112,3 (s, 1C), 32,2 (s, 1C), 28,6 (s, 1C), 23,4 (s, 1C), 23,1 (s, 1C).

30 **6.13. J método sintético general: Preparación del ácido 2-(6-cloro-7-ciclopropiltieno[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acético (31)**

Este enfoque general para la síntesis de compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:

35



40 **Síntesis de 26:** En un matraz de fondo redondo de 500 ml cargado con 7-bromo-4-metoxitieno[3,2-d]pirimidina **25** (4 g, 16,32 mmol, 1 eq) y ácido ciclopropilborónico (2,81 g, 32,6 mmol, 2 eq) y carbonato de potasio (6,76 g, 49 mmol, 3 eq) y el catalizador, $\text{PdCl}_2(\text{Ph}_3\text{P})_2$ 575 mg, 0,816 mmol, 0,05 eq) se extrajeron en una mezcla de tolueno (60 ml) y H_2O (16 ml). La mezcla de reacción se purgó fuertemente con N_2 durante cinco minutos y la mezcla de reacción se calentó a 100 °C durante 6 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se filtró y se dividió en ambas capas. La capa acuosa se lavó con tolueno y los disolventes orgánicos combinados se concentraron. El material bruto se purificó usando cromatografía en columna de gel de sílice usando disolventes EtOAc y heptano (10-30 %) proporcionando 7-ciclopropil-4-metoxitieno[3,2-d]pirimidina **26** como un sólido amarillo claro (3 g, rendimiento 90 %).

El compuesto **27** fue sintetizado utilizando el Método general de síntesis **A**.

50 **Síntesis de 28:** Se extrajo 6-cloro-7-ciclopropil-4-metoxitieno[3,2-d]pirimidina (2 g, 8,25 mmol) en HCl 12 N (6 ml, 72,5 mmol) y se calentó la mezcla de reacción a 70 °C durante 40 minutos. Después de enfriar a la temperatura ambiente, se añadió agua (15 ml) a esta suspensión de color marrón pálido y se mezcló correctamente. El

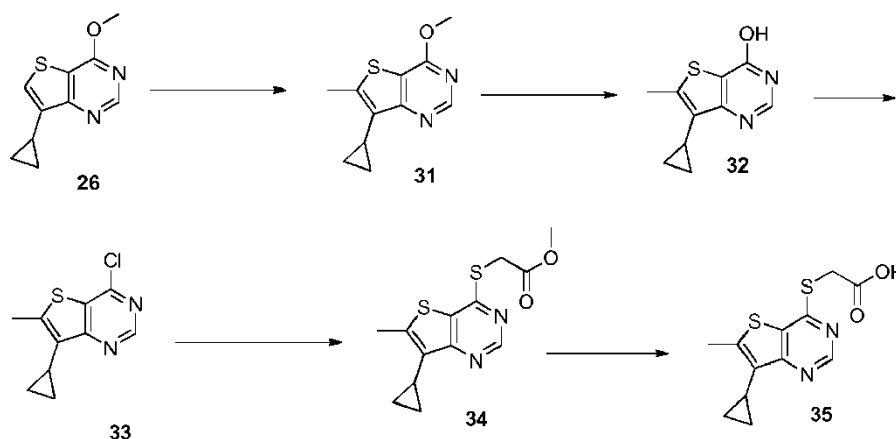
precipitado se separó por filtración y se lavó con agua y heptanos. Tras secado durante la noche a 40 ° C proporcionó un sólido amarillo claro (1,6 g, rendimiento 90 %)

El compuesto **29** fue sintetizado utilizando el Método general de síntesis **B**. el compuesto **30** fue sintetizado utilizando el Método general de síntesis **B**. **EM** m/z $C_{11}H_9ClN_2O_2S_2$ $[M + 1]^+ = 301$ y $[M + 1]^{+3} = 303$. **RMN de 1H** (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 8,92 (s, 1 H), 4,22 (s, 2 H), 2,10 a 2,20 (m, 1 H), 1,45-1,52 (m, 2 H), 0,96-1,06 (m, 2 H). **RMN de ^{13}C** (101 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 169,6 (s, 2C), 161,4 (s, 1C), 156,2 (s, 1C), 154,1 (s, 2C), 134,4 (s, 1C), 125,9 (s, 1C), 31,9 (s, 1C), 10,2 (s, 1 C), 6,3 (s, 2C).

10 **6.14. Método general de síntesis K: Preparación del ácido 2-(7-ciclopropil-6-metiltienof[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acético (35)**

Este enfoque general para la síntesis de compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:

15



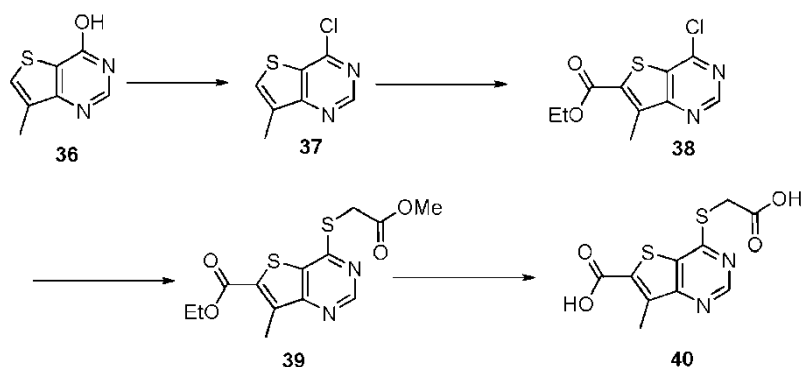
El Compuesto **26** se sintetizó utilizando el Método general de síntesis **J**.

20 **Síntesis de 31:** A la N,N-diisopropil etil amina (14 ml, 80 mmol) en THF (60 ml) se añadió gota a gota nBuLi (37,5 ml, 1,6 M, 60 mmol) a -60 ° C. Después de 15 minutos de agitación a la misma temperatura se añadió el compuesto **31** (4,14 g, 20 mmol) en una porción y se dejó calentar hasta -45 ° C en 45 minutos. Después se enfrió de nuevo a -60 ° C y MeI (5 m, 80 mmol) se inactivó mediante la adición lenta gota a gota y se agitó durante 2 horas calentando la mezcla de reacción a temperatura ambiente. Después de 2 horas se inactivó con una mezcla de salmuera y agua
25 (100 ml) y se separó la capa de THF. La capa acuosa se extrajo con diclorometano y los disolventes orgánicos combinados se lavaron de nuevo con salmuera y se pasaron a través de $MgSO_4$. El producto bruto se purificó usando cromatografía en gel de sílice usando una mezcla de acetato de etilo/hexanos (10 % - 30 %) proporcionando (2,64 g, rendimiento 60 %) el compuesto **32**.

30 Los compuestos **32-35** fueron sintetizados utilizando el Método general de síntesis **B**. **EM** m/z $C_{12}H_{12}N_2O_2S_2$ $[M + 1]^+ = 281$. **RMN de 1H** (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 12,86 (s a, 1 H), 8,85 (s, 1 H), 4,20 (s, 2 H), 2,65 (s, 3 H), 1,99 (tt, $J = 8,63, 5,43$ Hz, 1 H), 1,23 - 1,30 (m, 2 H), 0,88 - 0,97 (m, 2 H).

35 **6.15. Método general de síntesis L: Preparación del ácido 4-(carboximetiltio)-7-metiltienof[3,2-d]pirimidin-6-carboxílico (40)**

Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:



El compuesto **36** está disponible comercialmente. El compuesto **37** fue sintetizado utilizando el Método general de síntesis **B**.

5

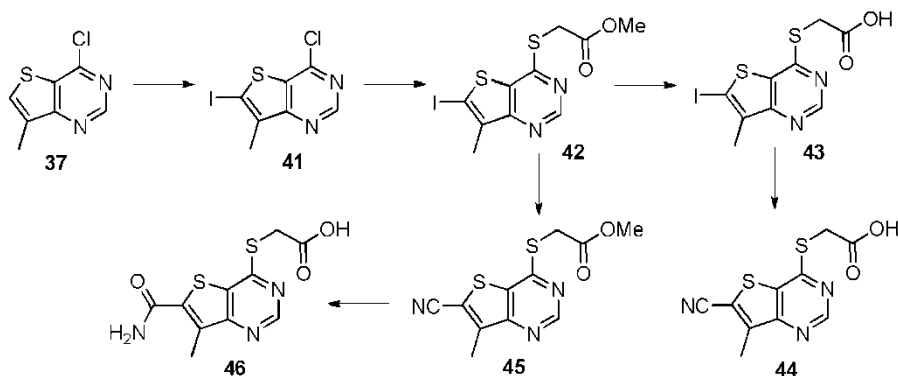
Síntesis de 38: A una solución agitada de tiofeno **37** (368 mg, 2 mmol, 1,0 eq.) en THF anhidro (5 ml) a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ se añadió una solución de LDA (2,2 mmol, 1,1 eq) en THF (recién preparado mezclando 0,34 ml de diisopropilamina y 0,96 ml de nBuLi 2,5 M a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ en 5 ml de THF). La reacción viró de claro a amarillo. Después de 20 minutos, se añadió gota a gota cloroformiato de etilo (0,28 ml, 3 mmol, 1,5 eq). La reacción se inactivó con agua después de que se calentó hasta temperatura ambiente en el baño frío. La mezcla se diluyó con 10 ml de acetato de etilo, se extrajo con acetato de etilo (10 ml x 2 veces). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. A continuación, la mezcla en bruto se absorbió sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (eluyendo con 10 % DCM/EA) para dar el éster **38** como un sólido blanco (127 mg, rendimiento 25 %).

10

15 Los compuestos **39** y **40** se sintetizaron utilizando el Método general de síntesis **B**.

6.16. Método general de síntesis M: Preparación del ácido 2-(6-ciano-7-metiltienof[3,2-d]pirimidin-4-iltio)acético (44) y ácido 2-(6-carbamoil-7-metiltienof[3,2-d]pirimidin-4-iltio)acético (46)

20 Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra mediante los ejemplos específicos que se describen a continuación:



25 **Síntesis de 41:** A una solución de **37** (368 mg, 2 mmol, 1,0 eq.), preparado usando el Procedimiento de síntesis general **B**, en THF anhidro (5 ml) a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ se añadió una solución de LDA (2,2 mmol, 1,1 eq) en THF (recién preparado mezclando 0,34 ml de diisopropilamina y 0,96 ml de nBuLi 2,5 M a $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ en 5 ml de THF). La reacción viró de claro a amarillo. Después de 20 minutos, se añadió gota a gota yodo (609 mg, 2,4 mmol, 1,2 eq). La reacción se inactivó con agua después de calentarse a temperatura ambiente, en el baño frío. La reacción se diluyó con 10 ml de acetato de etilo, se extrajo con acetato de etilo (10 ml x 2). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre Na_2SO_4 y se concentró. A continuación, la mezcla en bruto se absorbió sobre gel de sílice y se purificó por cromatografía ultrarrápida (eluyendo con 10 % de hexano/acetato de etilo) para dar el compuesto **41** como un sólido blanco (407 mg, rendimiento 65 %).

30

35 Los Compuestos **42** y **43** fueron sintetizados utilizando el Método general de síntesis **B**.

Síntesis de 44: Al compuesto **43** (70 mg, 0,19 mmol, 1 eq.) en DMF (1 ml) se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (44 mg, 0,038 mmol, 0,2 eq.) y $\text{Zn}(\text{CN})_2$ (30 mg, 0,25 mmol, 1,1 eq). El vial se desgasificó con N_2 durante 5 minutos antes de taparlo. Después, la reacción se calentó bajo irradiación de microondas a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 1,5 horas. Todo el disolvente se eliminó y el residuo se purificó por cromatografía en capa fina preparativa dando un sólido blanco (28 mg, rendimiento 42 %). **EM** m/z $\text{C}_{10}\text{H}_7\text{N}_3\text{O}_2\text{S}_2$ $[\text{M} + 1]^+ = 266,0$; **RMN de ^1H** (400 MHz, DMSO- d_6) δ ppm 9,09 (s, 1

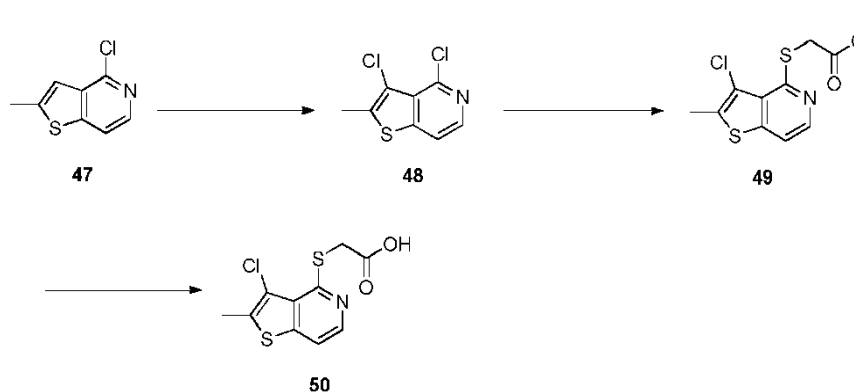
40

H), 4,12 (s a, 2 H) 2,60 (s, 3H).

Síntesis de 46: El compuesto **45** (40 mg, 0,142 mmol, 1 eq.), se preparó usando el Procedimiento general de síntesis **M**, se recogió en 1 ml de MeOH. A esta solución se añadió NaOH 1 N (2,1 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente antes de neutralizarse mediante la adición de HCl 1N. La reacción se purificó por HPLC preparativa para ofrecer el compuesto **46** como un sólido blanco (12 mg, rendimiento 29 %). **EM** m/z $C_{10}H_9N_3O_3S_2$ $[M + 1]^+ = 284,0$, observado 224. **RMN de 1H** (400 MHz, CLOROFORMO-d) δ ppm 8,83 (s, 1 H) 6,06-6,36 (m, 2 H) 4,20 (s, 2 H) 2,77 (s, 3 H).

6.17. **Método general de síntesis N: Preparación del ácido 2-(3-cloro-2-metiltieno[3,2-c]piridin-4-iltio)acético (50)**

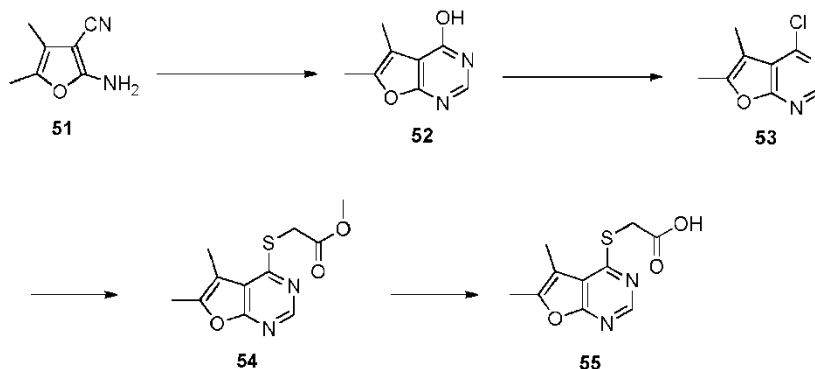
Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:



El Compuesto **47** está disponible comercialmente. El compuesto **48** se sintetizó usando el Procedimiento general A. Los compuestos **49** y **50** fueron sintetizados usando el procedimiento general B.

6.18. **Método general de síntesis O: Preparación del ácido 2-(5,6-dimetilfuro[2,3-d]piridin-4-iltio)acético (55)**

Este enfoque general para la síntesis de los compuestos abarcados por la invención se ilustra por el ejemplo específico descrito a continuación:



Síntesis de 52: En un matraz de fondo redondo de 50 ml, se extrajo 2-amino-4,5-dimetilfurano-3-carbonitrilo **51** (1 g, 7,4 mmol) en ácido fórmico (15 ml) como disolvente. Esta mezcla se calentó a temperatura de reflujo durante 6 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente y se concentró con una bomba de vacío. A continuación, se extrajo en diclorometano, se lavó con H_2O . A continuación, el producto bruto se pasó a través de Na_2SO_4 y se concentró para obtener el dimetilfuro pirimidinol bruto **52** como un producto bruto, que se usa directamente en la siguiente etapa.

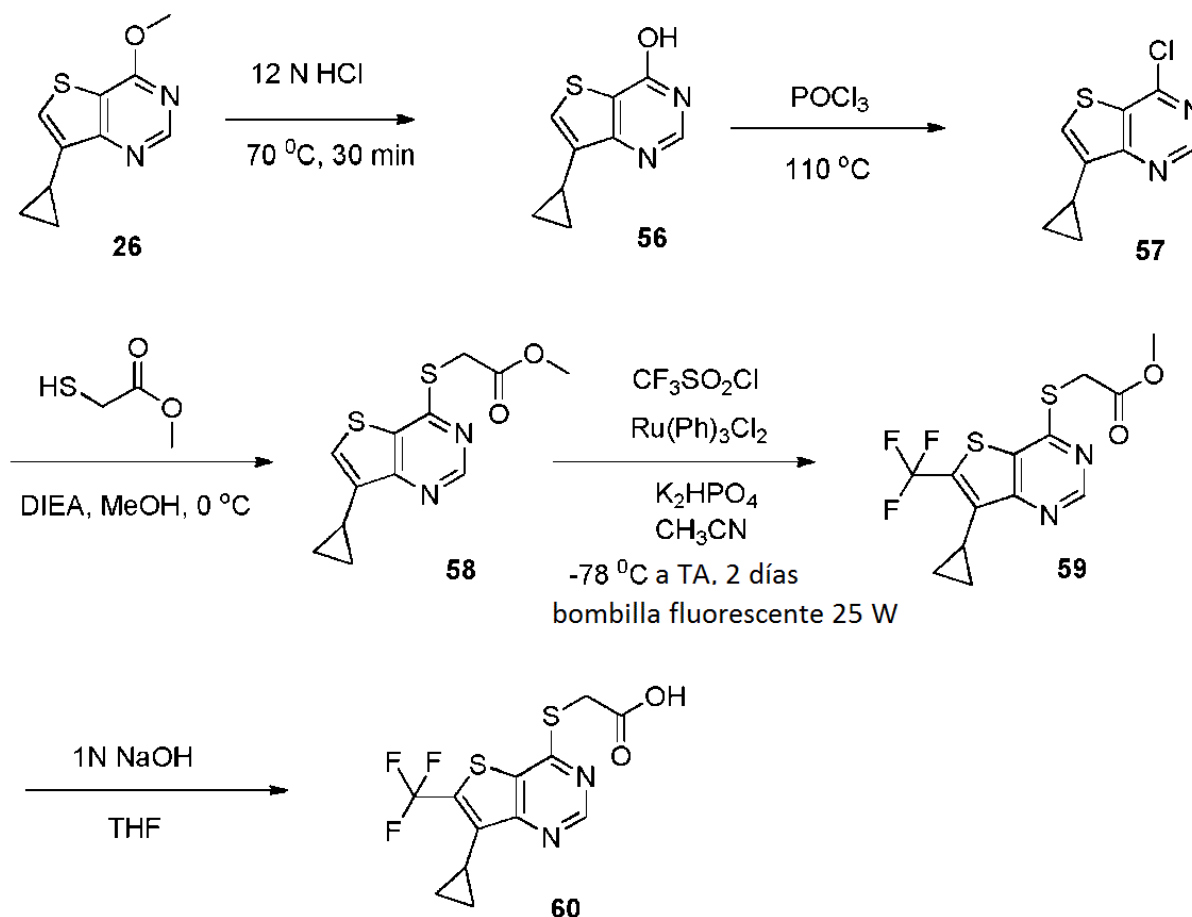
Síntesis de 53: Se suspendió el 5,6-dimetilfuro[2,3-d]pirimidin-4-ol **52** (700 mg, 4,3 mmol, 1 eq.) en $POCl_3$ (10 ml, 100 mmol, 23 eq.) y se calentó a $90\text{ }^\circ\text{C}$ durante 3 horas. Después de enfriar, la reacción se concentró y el residuo se enfrió a $0\text{ }^\circ\text{C}$. A continuación se añadió lentamente agua helada para asegurar el consumo completo de $POCl_3$. La solución de color negro se extrajo tres veces con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron dos veces con $NaHCO_3$ acuoso saturado, una vez con salmuera, se secaron sobre $MgSO_4$, se filtraron y se concentraron, dando un sólido marrón claro, 4-cloro-5,6-dimetilfuro[2,3-d]pirimidina **53** (350 mg, rendimiento 55 %),

que se usó inmediatamente después del secado completo.

Síntesis de 54: Se suspendió 4-cloro-5,6-dimetilfuro[2,3-d]pirimidina **53** (350 mg, 1,91 mmol, 1 eq.) en metanol (10 ml) y se enfrió a 0 °C. Se añadió lentamente 2-mercaptoacetato de metilo (0,13 ml, 2,0 mmol, 1,05 eq.), seguido de la adición lenta de TEA (0,39 ml, 3,84 mmol, 2,1 eq.). Después de agitar durante 90 minutos, se concentró la reacción. El residuo se recogió en acetato de etilo y se filtró a través de un tapón de gel de sílice para eliminar las sales y algo de color. El filtrado se concentró y se purificó usando cromatografía en gel de sílice con acetato de etilo 0-15 % en hexanos, obteniéndose 2-(5,6-dimetilfuro[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acetato de metilo **54** (420 mg, rendimiento 90 %) como un sólido.

Síntesis de 55: Se extrajo 2-(5,6-dimetilfuro[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acetato de metilo **54** (400 mg, 1,58 mmol, 1 eq.) Se extrajo en THF (10 ml) y se añadió NaOH acuoso 1 N (3,2 ml, 3,2 mmol, 2 eq), con agitación eficiente. Después de 40 minutos, la reacción se concentró y el residuo se extrajo en agua, se enfrió a 0 °C y se acidificó a pH bajo con HCl 1 N. El precipitado se recogió mediante filtración a vacío, se lavó con agua. El secado a vacío durante toda la noche dio el ácido 2-(5,6-dimetilfuro[2,3-d]pirimidin-4-iltio)acético puro **55** (353 mg, rendimiento 94 %) como un sólido.

6.19. Método general de síntesis P: Preparación del ácido 2-(7-ciclopropil-6-(trifluorometil)tieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético (60):



Los compuestos **26**, **56**, **57**, **58** y **60** fueron sintetizados usando el Método general de síntesis J.

Síntesis de 59: En un matraz de fondo redondo de 100 ml equipado con un Ru(phen)₃Cl₂ (14 mg, 0,01 equiv) y K₂HPO₄ (930 mg, 3 equiv) y la mezcla de reacción se desgasificó a través de la evacuación en vacío alternante y se rellenó con nitrógeno (x3) antes de añadir MeCN (20 ml, 0,125 M) y 2-(7-ciclopropiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acetato de etilo **58** (500 mg, 1 equiv) mediante una jeringa. La solución resultante se desgasificó mediante evacuación en vacío alternante y se rellenó con nitrógeno (x3) a -78 °C, permitiendo que la solución se calentase a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno entre cada iteración. Se añadió cloruro de trifililo (0,4 ml, 2 equivalentes) mediante una jeringa y el vial se selló con parafilm y se colocó a aproximadamente 2 cm de una bombilla fluorescente compacta de 25 W. Después de 48 horas, la reacción se inactivó con agua (2 ml) y se extrajo con CH₂Cl₂ y las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y se concentraron en vacío. El material bruto se purificó por HPLC preparativa usando condiciones neutras para dar 2-((trifluorometil)tieno[3,2-d]pirimidin-4-

il)tio)acetato de metilo **59** (62 mg) con un rendimiento del 10 %.

6.20. Compuestos representativos

5 Se prepararon numerosos compuestos y se ensayaron para determinar su actividad en uno o más de los ensayos descritos en la presente memoria. Algunos de estos compuestos se enumeran a continuación en la Tabla 1, en la que la columna "Prep" indica el método sintético general usado para preparar el compuesto nombrado. La columna "Método de HPLC y tiempo (min)" se refiere a las siguientes condiciones de HPLC:

10 **A:** Sunfire C18 5u 4,6 x 50 mm, 10 % a 90 % de B, tiempo de gradiente = 2 min, velocidad = 3,5 ml/min, longitud de onda = 220 y 254 nm, disolvente A = acetato de amonio acuoso 10 mM, disolvente B = acetonitrilo.

B: Sunfire C18 5u 4,6 x 50 mm, 10 % a 90 % de B, tiempo de gradiente = 2 min, velocidad = 3,5 ml/min, longitud de onda = 254 y 280 nm, disolvente A = agua purificada, disolvente B = 95 % de metanol/5 % de agua con ácido trifluoroacético al 0,1 % (v/v).

15 La columna "Cl₅₀" proporciona la Cl₅₀ de los compuestos medida usando el ensayo de unión descrito en la presente memoria, en la que: **** significa un valor de menos de o igual a 0,025 µM; *** Significa un valor de menos de o igual a 0,05 µM; ** Significa un valor de menos de o igual a 0,1 µM; * Significa un valor de menos de o igual a 0,25 µM; y - significa que la Cl₅₀ no se determinó. La columna "CE₅₀" proporciona las CE₅₀ de los compuestos medidas utilizando el ensayo indicador descrito en la presente memoria, en el que: **** Significa un valor de menos de o igual a 1 µM; *** Significa un valor de menos de o igual a 5 µM; ** Significa un valor de menos de o igual a 10 µM; * Significa un valor de menos de o igual a 15 µM y – Significa que la CE₅₀ no se determinó.

Tabla 1

Compuesto	Prep	Método de HPLC y tiempo (min)	Pureza (%)	Cl ₅₀	CE ₅₀
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(furan-2-ilmetil)acetamida	G	A (1,742)	99	****	-
ácido 2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,047)	99	****	****
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(5-metilisoxazol-3-il)acetamida	G	A (1,763)	100	****	****
ácido 2-((6,7-dihidro-5H-ciclopenta[4,5]tieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,188)	100	****	***
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-fluorofenil)acetamida	G	-	90	****	-
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetato de metilo	H	A (1,927)	100	****	****
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-metilacetamida	G	A (1,493)	98	****	****
1-(2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetil) piperidin-4-carboxamida	G	A (1,397)	99	*	-
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetato de propilo	H	A (2,235)	100	****	****
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetato de butilo	H	A (2,370)	100	****	****
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetato de isopropilo	H	A (2,217)	100	****	****
ácido 2-((6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (0,915)	100	*	**
ácido 2-((7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (0,915)	100	*	*
ácido 2-((5-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (0,925)	100	**	-
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)N-(etilsulfonil)acetamida	G	A (1,218)	100	****	-
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetamida	G	A (1,440)	100	****	****
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-((tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi)acetamida	G	A (1,760)	100	****	****
N-(ciclopropilsulfonil)-2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetamida	G	A (1,235)	100	****	-

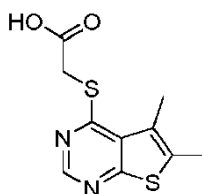
Compuesto	Prep	Método de HPLC y tiempo (min)	Pureza (%)	Cl ₅₀	CE ₅₀
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-hidroxiacetamida	G	A (1,970)	100	****	****
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-((5-metilpiridin-2-il) sulfonil)acetamida	G	A (1,273)	97	**	-
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-1- (isoindolin-2-il) etanona	G	A (1,917)	99	****	**
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-metoxi-N-metilacetamida	G	A (1,700)	97	****	****
2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(tiofen-2-ilmetil)acetamida	G	A (1,820)	99	**	-
1-(5,6-dimetoxiisindolin-2-il) -2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)etanona	G	A (1,745)	100	****	-
N-ciano-2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetamida	G	A (1,162)	98	****	****
N-(4-cloro-1H-indazol-3-il)-2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetamida	G	A (1,733)	100	****	-
N-(2-(dimetilamino)etil)-2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetamida	G	B (1,490)	99	-	-
N-(3-(dimetilamino)propil)-2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetamida	G	B (1,522)	99	-	-
ácido 2-((6-etil-5-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B, E	A (1,212)	100	****	-
ácido 2-((6-bromo-5-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B, C	A (1,145)	100	****	****
ácido 2-((5-bromo-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,213)	99	****	****
ácido 2-((6-isopropil-5-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B, D	A (1,305)	100	***	-
acetato de 2-((6-ciclopropil-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)metilo	B, D	A (2,137)	100	****	-
2-((6-ciclopropil-5-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetato de metilo	B, D	A (2,190)	100	****	-
ácido 2-((5-ciclopropil-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B, D	A (1,238)	100	****	***
ácido 2-((6-ciclopropil-5-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B, D	A (1,257)	99	-	***
ácido 2-((5-bromo-6-etiltieno [2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,408)	100	****	****
ácido 2-((6-bromo-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,267)	99	****	-
ácido 2-((5-bromo-6-isopropiltieno [2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,345)	100	****	****
ácido 2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,220)	92	****	****
ácido 2-((6-cloro-5-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,265)	100	****	-
ácido 2-((6,7-dimetiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B, D	A (1,127)	99	****	-
ácido 2-((6-ciclopropil-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B, D	A (1,357)	98	-	-
ácido 2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,138)	100	****	****
ácido 2-((7-cloro-6-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,052)	100	-	-
ácido 2-((5-(dimetilamino)-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B, F	A (1,088)	100	-	-

Compuesto	Prep	Método de HPLC y tiempo (min)	Pureza (%)	Cl ₅₀	CE ₅₀
acetato de 2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)metilo	B	A (1,983)	100	****	****
ácido 2-((7,9-dimetilpirido[3',2':4,5]tieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,320)	100	-	-
ácido 2-(pirido[3',2':4,5]tieno[3,2-d]pirimidin-4-iltio)acético	B	A (1,045)	100	-	-
2-(pirido [3',2':4,5]tieno[3,2-d]pirimidin-4-iltio)acetato de metilo	B	A (1,770)	100	-	-
ácido 2-((5-cloro-6-etiltieno [2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,220)	100	****	****
ácido 2-((5-cloro-6-isopropiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	I	A (1,325)	100	****	****
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-cianoetil)acetamida	G	A (1,893)	100	****	****
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-metoxietil)acetamida	G	A (1,937)	100	****	****
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-(piperidin-1-il)etil)acetamida	G	A (1,663)	100	-	****
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-metil-2-morfolinopropilo)acetamida	G	A (2,123)	100	-	-
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-metil-2-(pirrolidin-1-il)propil)acetamida	G	A (1,638)	99	-	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-metoxietil)acetamida	G	A (1,687)	96	-	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-(piperidin-1-il)etil)acetamida	G	A (1,658)	100	-	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-cianoetil)acetamida	G	A (1,805)	100	****	****
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N-etilacetamida	G	A (2,008)	100	****	****
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N, N-dimetilacetamida	G	A (2,020)	100	-	-
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-morfolinoetil)acetamida	G	A (1,818)	98	-	-
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N-propilacetamida	G	A (2,150)	99	-	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-etilacetamida	G	A (1,918)	100	****	****
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-metil-2-(piperidin-1-yl)propil)acetamida	G	A (1,580)	99	-	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-propilacetamida	G	A (2,105)	100	****	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-morfolinoetil)acetamida	G	A (1,778)	99	****	****
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N N-dimetilacetamida	G	A (2,523)	100	****	****
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(4-metoxibencil)acetamida	G	A (2,172)	100	-	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(piridin-4-ilmetil)acetamida	G	A (1,768)	99	****	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(tiofen-2-ilmetil)acetamida	G	A (2,155)	100	****	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(2-(4-metiltiazol-2-il)etil)acetamida	G	A (1,968)	99	****	-

Compuesto	Prep	Método de HPLC y tiempo (min)	Pureza (%)	Cl ₅₀	CE ₅₀
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-1-(4,4-difluoropiperidin-1-il)etanona	G	A (2,320)	100	-	-
N-(2-(1H-pirazol-4-il)etil)-2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetamida	G	A (1,712)	100	***	****
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(4-cianobencil)acetamida	G	A (2,107)	100	-	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(4-fluorobencil)acetamida	G	A (2,203)	100	-	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(furan-2-ilmetil)acetamida	G	A (2,083)	100	****	****
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(4-metoxibencil)acetamida	G	A (2,257)	99	-	-
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(4-fluorobencil)acetamida	G	A (1,970)	97	-	-
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(tiofen-2-ilmetil)acetamida	G	A (2,247)	100	-	****
2-(2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acetil)isoindolin-4-carboxilato de metilo	G	A (2,420)	100	-	-
N-(2-(1H-imidazol-4-il)etil)-2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetamida	G	A (1,532)	100	****	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)N-(cianometil)acetamida	G	A (1,930)	100	****	****
2-((6-(terc-butil) tieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acetato de metilo	B	A (2,375)	100	-	-
2-((6-ciano-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acetato de metilo		B (2,498)	97	-	****
ácido 2-((6-ciano-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético	M	A (1,330)	96	-	****
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)N-(cianometil)acetamida	G	A (2,003)	99	****	****
acetato de 2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)isopropilo	H	A (2,587)	100	****	****
2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(1-metilpiperidin-4-il)acetamida	G	A (1,605)	100	-	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-1-(4-isopropilpiperazin-1-il)etanona	G	A (1,947)	100	-	-
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(1-metilpiperidin-4-il)acetamida	G	A (1,557)	99	-	-
ácido 2-(2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-metilacetamido)acético	G, B	A (1,648)	100	-	****
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(metilsulfonil)acetamida	G	A (1,522)	100	-	****
ácido 2-((6-cloro-7-ciclopropiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético	J	A (1,927)	97	****	****
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(1-hidroxipropan-2-il)acetamida	G	B (2,543)	100	-	***
2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)-N-(1,3-dihidroxipropan-2-il)acetamida	G	A (1,623)	99	-	-
carboxilato de (S)-1-(2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acetil)pirrolidina-2-metilo	G	A (2,173)	99	-	-

Compuesto	Prep	Método de HPLC y tiempo (min)	Pureza (%)	Cl ₅₀	CE ₅₀
ácido 2-((5-cloro-6-propiltieno [2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético	B	A (1,452)	97	****	****
acetato de 2-((6-cloro-7-ciclopropiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)metilo	J	A (2,858)	100	****	-
ácido 2-((7-ciclopropil-6-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético	K	A (1,305)	100	****	****
ácido 2-((3-cloro-2-metiltieno[3,2-c]piridin-4-il)tio)acético	-	-	-	-	***
ácido 2-(7-ciclopropil-6-(trifluorometil)tieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético	J, P	A (1,665)	96	****	****
2-(7-ciclopropil-6-(trifluorometil)tieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acetato	J, P	A (2,495)	95	****	****

6.21. Farmacología del ácido 2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético

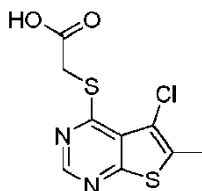


5 En un primer estudio, el efecto *in vivo* del ácido 2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético se determinó mediante el tratamiento de ratones híbridos macho F1 (129 x C57) durante 25 días con el compuesto, comenzando desde las 10,7 semanas de edad. El compuesto se administró en la dieta de los animales. Se utilizaron cuatro grupos de ratones: control (N = 12); 25 mg/kg de compuesto (N = 9); 83 mg/kg de compuesto (N = 9); y un grupo adicional en el que se administró en la dieta Li₂CO₃ (0,1 %) (N = 9).

10 Se midió el espesor cortical de la diáfisis media del fémur utilizando un Scanco μ CT40. En comparación con el grupo de control, se observó un aumento en el espesor del hueso cortical con ambas dosis del compuesto: 9 % (p = 0,04) a 25 mg/kg; y 8 % (p = 0,07) a 83 mg/kg. Para el grupo de Li₂CO₃ se observó una disminución en el espesor del hueso cortical del 2 % (p = 0,90).

15 En un segundo estudio se determinó el efecto *in vivo* del ácido 2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético mediante el tratamiento de ratones híbridos macho F1 (129 x C57) durante 25 días con el compuesto, de nuevo a partir de las 10,7 semanas de edad. El compuesto se administró en la dieta de los animales. Se utilizaron cuatro grupos de ratones: control (N = 12); 1 mg/kg de compuesto (N = 9); 8 mg/kg de compuesto (N = 9); y 24 mg/kg de compuesto (N = 9). Como se muestra en la Figura 5, los ratones tratados con 8 mg/kg mostraron un aumento del 4 % (p = 0,19) en el espesor cortical de la diáfisis media del fémur y los ratones tratados con 24 mg/kg presentaban un aumento del 6 % (p = 0,05).

25 6.22. Farmacología del ácido 2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético



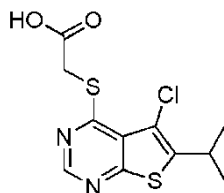
30 La farmacología del ácido 2-((5-cloro-6-metiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético se estudió en ratas Fischer 344 ovariectomizadas. Las ratas se sometieron a ovariectomía o cirugía simulada a las 43 o 46 semanas de edad y el tratamiento con el compuesto se inició a las 37 o 40 semanas después, a las 83 semanas de edad.

35 Se utilizaron cuatro grupos de tratamiento: cirugía simulada con administración de dieta control (N = 14); cirugía simulada con administración del compuesto (N = 12); cirugía OVX con administración de dieta control (N = 14) y cirugía OVX con administración del compuesto (N = 12). El compuesto se administró mediante su incorporación en la dieta de las ratas: 0,46 gramos de compuesto por kg de dieta. La dosis diana fue 30 mg/kg. La administración se produjo durante cinco semanas.

La masa ósea y la arquitectura se determinó por microCT, utilizando un Scanco μ CT40. Como se muestra en la Figura 6, el tratamiento aumentó el espesor cortical óseo de la diáfisis media del fémur tanto del grupo de cirugía simulada como OVX: 3 % en ratas intactas y 5 % en ratas ovariectomizadas. La diferencia entre los espesores de hueso cortical del control simulado y del control OVX era -13 %. Los valores ANOVA de dos factores fueron: p < 0,001 para la cirugía OVX; p = 0,05 para el tratamiento y p = 0,65 para la interacción.

Como se muestra en la Figura 7, el tratamiento también aumentó el espesor cortical de la diáfisis media en los grupos simulado y OVX: 2 % en ratas intactas y 5 % en ratas ovariectomizadas. Los valores ANOVA de dos factores fueron: p = 0,79 para la cirugía OVX; p = 0,05 para el tratamiento y p = 0,52 para la interacción.

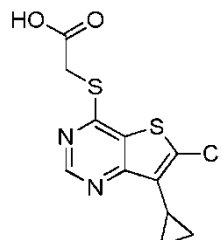
6.23. Farmacología del ácido 2-((5-cloro-6-isopropiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético



El efecto *in vivo* del ácido 2-((5-cloro-6-isopropiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético se determinó mediante el tratamiento de ratones híbridos macho F1 (129 x C57) durante 25 días con el compuesto, a partir de las 8,7 semanas de edad. El compuesto se administró dos veces al día por sonda oral (vehículo = Tween 80 0,1 % en agua). Se utilizaron cuatro grupos de ratones: control (N = 13); 5 mg/kg de compuesto (N = 13); 10 mg/kg de compuesto (N = 13); 15 mg/kg de compuesto (N = 13).

El espesor cortical de la diáfisis media del fémur se midió por microCT (Scanco μ CT40). En comparación con el grupo de control, se observó un aumento en el espesor del hueso cortical en todas las dosis: 6 % (p = 0,002) a 5 mg/kg; 5 % (p = 0,007) a 10 mg/kg y 6 % (p = 0,001) a 15 mg/kg.

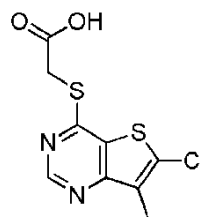
6.24. Farmacología del ácido 2-((6-cloro-7-ciclopropiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético



El efecto *in vivo* del ácido 2-((6-cloro-7-ciclopropiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético se determinó mediante el tratamiento de ratones híbridos macho F1 (129 x C57) durante 25 días con el compuesto, a partir de las 8,7 semanas de edad. El compuesto se administró por sonda oral diaria (vehículo = Tween 80 0,1 % en agua). Se utilizaron cuatro grupos de ratones: control (N = 13); 3 mg/kg de compuesto (N = 13); 10 mg/kg de compuesto (N = 13); 30 mg/kg de compuesto (N = 13).

El espesor cortical de la diáfisis media del fémur se midió por microCT (Scanco μ CT40). Como se muestra en la Figura 8, se observó un aumento en el espesor cortical óseo en todas las dosis en comparación con el control: 7 % (p = 0,003) a 3 mg/kg; 10 % (p < 0,001) a 10 mg/kg y 13 % (p < 0,001) a 30 mg/kg.

6.25. Farmacología del ácido 2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético



En un primer experimento, el efecto *in vivo* del ácido 2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético se determinó mediante el tratamiento de ratones híbrido macho F1 (129 x C57) durante 25 días con el compuesto, a partir de las 54 semanas de edad. El compuesto se administró por sonda oral diaria (vehículo = Tween 80 0,1 % en agua). Se utilizaron tres grupos de ratones: control (N = 10); 10 mg/kg de compuesto (N = 10); y 100 mg/kg de

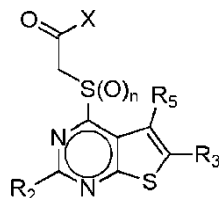
compuesto (N = 10). Se observó un aumento en el espesor del hueso cortical de la diáfisis media del fémur, medido por microCT (Scanco μ CT40) con ambas dosis en comparación con el control: 6 % (p = 0,06) con 10 mg/kg y 7 % (p = 0,03) con 100 mg/kg. En este experimento, como era generalmente el caso, los datos del espesor cortical de la diáfisis media del fémur se obtuvieron utilizando el fémur derecho de cada ratón. En este experimento, los resultados para el grupo de dosis de 10 mg/kg incluyen una medición del fémur izquierdo para uno de los ratones, cuyas medidas del fémur derecho eran aberrantes.

En un segundo experimento, el efecto *in vivo* del ácido 2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético se determinó mediante el tratamiento de ratones híbridos macho F1 (129 x C57) durante siete y 18 días con el compuesto, a partir de las 8,1 semanas de edad. El compuesto se administró en la dieta de los animales. Se utilizaron tres grupos de ratones: control (N = 9); 34 mg/kg de compuesto durante siete días (N = 9) y 34 mg/kg de compuesto durante 18 días (N = 9). Como se muestra en la Figura 9, se observó un incremento en el espesor del hueso cortical de la diáfisis media del fémur en comparación con el control: 6 % (p = 0,13) después de siete días de tratamiento y 10 % (p <0,01) después de 18 días de tratamiento.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula:

5

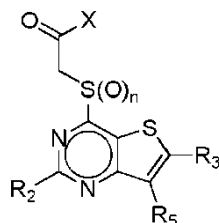


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

- 10 X es OR_{1B} o $N(R_{1B})_2$;
 cada R_{1B} es independientemente hidrógeno, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 R_2 es hidrógeno, halo, $-CO_2R_{2A}$, $-C(O)N(R_{2A})_2$, $-SR_{2A}$, $-OR_{2A}$, $-N(R_{2A})_2$, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 15 cada R_{2A} es independientemente hidrógeno, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 R_3 es hidrógeno, halo, ciano, $-CO_2R_{3A}$, $-C(O)N(R_{3A})_2$, $-SR_{3A}$, $-OR_{3A}$, $-N(R_{3A})_2$, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 20 cada R_{3A} es independientemente hidrógeno, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 R_5 es hidrógeno, halo, $-CO_2R_{5A}$, $-C(O)N(R_{5A})_2$, $-SR_{5A}$, $-OR_{5A}$, $-N(R_{5A})_2$, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 cada R_{5A} es independientemente hidrógeno, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; y
 25 n es 1 o 2;

en el que "opcionalmente sustituidos" significa opcionalmente sustituidos con uno o más de alcoxi, alquilo, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino), arilo, ácido carboxílico, ciano, halo, haloalquilo, heterociclo o hidroxilo.

30 2. Un compuesto de la fórmula:

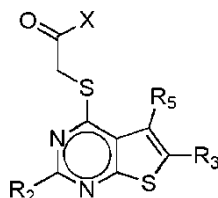


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

- 35 X es OR_{1B} o $N(R_{1B})_2$;
 cada R_{1B} es independientemente hidrógeno, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 R_2 es hidrógeno, halo, $-CO_2R_{2A}$, $-C(O)N(R_{2A})_2$, $-SR_{2A}$, $-OR_{2A}$, $-N(R_{2A})_2$, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 40 cada R_{2A} es independientemente hidrógeno, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 R_3 es hidrógeno, halo, ciano, $-CO_2R_{3A}$, $-C(O)N(R_{3A})_2$, $-SR_{3A}$, $-OR_{3A}$, $-N(R_{3A})_2$, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 45 cada R_{3A} es independientemente hidrógeno, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 R_4 es hidrógeno, halo, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 R_5 es hidrógeno, halo, $-CO_2R_{5A}$, $-C(O)N(R_{5A})_2$, $-SR_{5A}$, $-OR_{5A}$, $-N(R_{5A})_2$, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 50 cada R_{5A} es independientemente hidrógeno, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; y
 n es 1 o 2;

en el que "opcionalmente sustituidos" significa opcionalmente sustituidos con uno o más de alcoxi, alquilo, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino), arilo, ácido carboxílico, ciano, halo, haloalquilo, heterociclo o hidroxilo.

- 5 3. El compuesto de la reivindicación 1 o 2, en el que X es OR_{1B}.
4. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que R_{1B} es hidrógeno, o alquilo o arilo opcionalmente sustituidos.
- 10 5. El compuesto de la reivindicación 4, en el que R_{1B} es hidrógeno o alquilo.
6. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que R₂ es hidrógeno o alquilo opcionalmente sustituido.
- 15 7. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que R₃ es alquilo o halo.
8. El compuesto de la reivindicación 7, en el que R₃ es cloro.
9. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que R₅ es alquilo o halo.
- 20 10. El compuesto de la reivindicación 9, en el que R₅ es alquilo C₁₋₄.
11. Un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, compuesto que es el ácido 2-((5,6-dimetiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético, el ácido 2-((5-cloro-6-isopropiltieno[2,3-d]pirimidin-4-il)tio)acético, el ácido 2-((6-cloro-7-ciclopropiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético) o el ácido 2-((6-cloro-7-metiltieno[3,2-d]pirimidin-4-il)tio)acético.
- 25 12. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-11 y un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptables.
- 30 13. El compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1-11 para su uso como un medicamento para el tratamiento o manejo de una enfermedad o trastorno **caracterizado por** pérdida ósea.
14. Un compuesto de la fórmula:



- 35 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como un medicamento para el tratamiento o manejo de una enfermedad o trastorno **caracterizado por** pérdida ósea, en la que:

- 40 X es OR_{1B} o N(R_{1B})₂;
 cada R_{1B} es independientemente hidrógeno, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 R₂ es hidrógeno, halo, -CO₂R_{2A}, -C(O)N(R_{2A})₂, -SR_{2A}, -OR_{2A}, -N(R_{2A})₂, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 45 cada R_{2A} es independientemente hidrógeno, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 R₃ es hidrógeno, halo, ciano, -CO₂R_{3A}, -C(O)N(R_{3A})₂, -SR_{3A}, -OR_{3A}, -N(R_{3A})₂, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 cada R_{3A} es independientemente hidrógeno, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 50 R₅ es hidrógeno, halo, -CO₂R_{5A}, -C(O)N(R_{5A})₂, -SR_{5A}, -OR_{5A}, -N(R_{5A})₂, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos;
 cada R_{5A} es independientemente hidrógeno, o alquilo, arilo, heteroalquilo o heterociclo opcionalmente sustituidos; y
 55 n es 1 o 2;

en el que "opcionalmente sustituidos" significa opcionalmente sustituidos con uno o más de alcoxi, alquilo, amino (incluyendo alquilamino, dialquilamino), arilo, ácido carboxílico, ciano, halo, haloalquilo, heterociclo o hidroxilo.

EFFECTO DE LA DESACTIVACIÓN GÉNICA EN VARIOS SITOS ÓSEOS

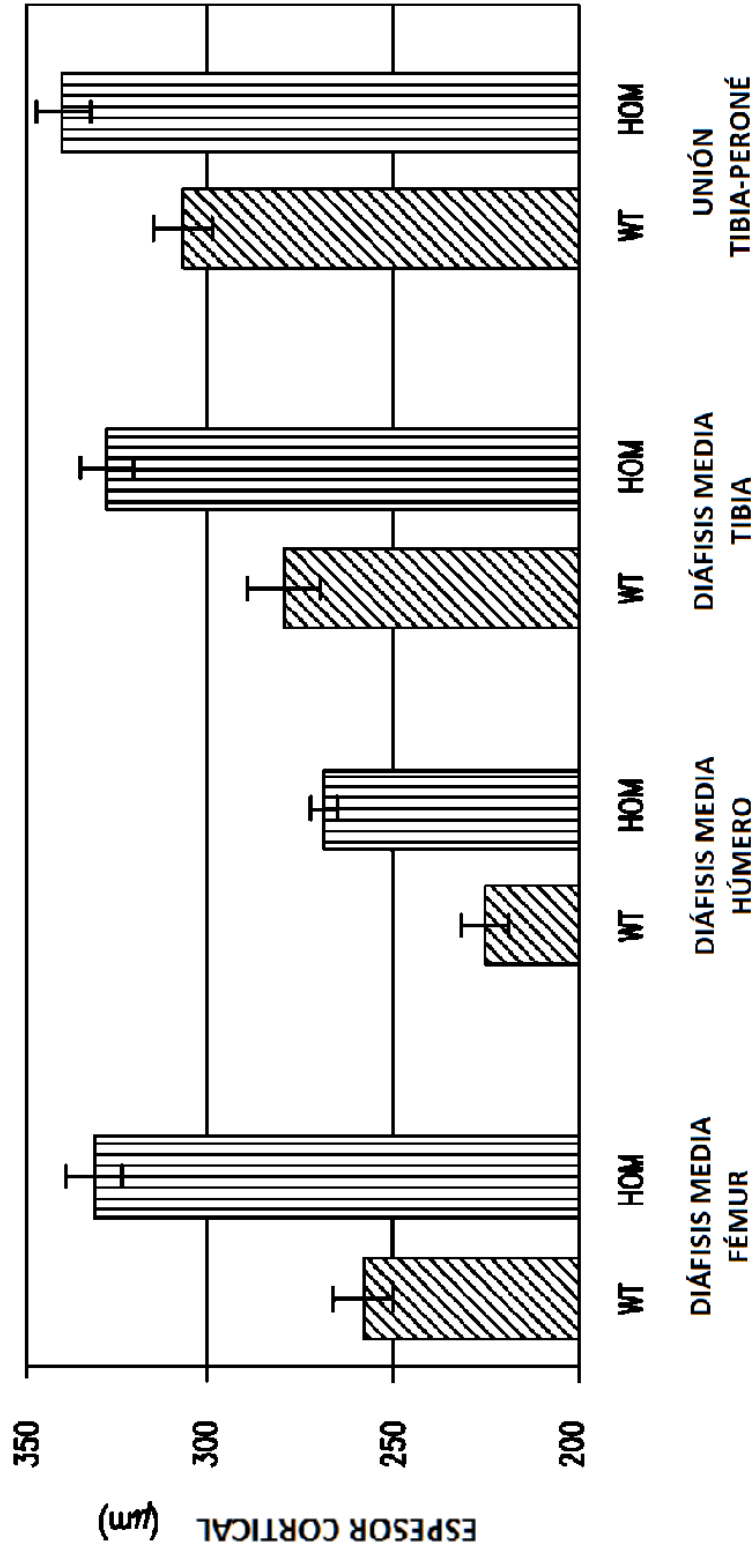


FIG. 1

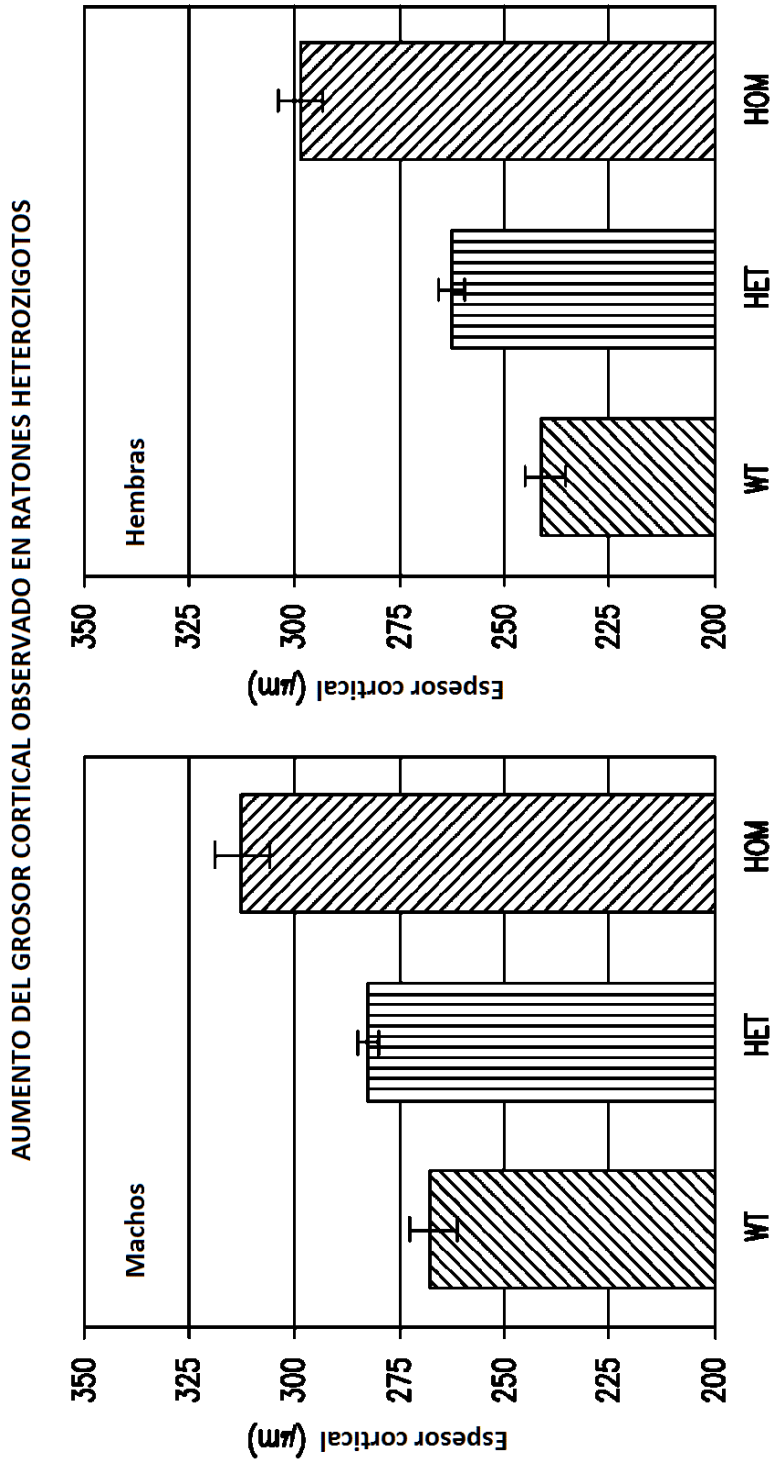


FIG. 2

LOS RATONES MACHO PRESENTAN UNA MAYOR RESISTENCIA A LA FRACTURA DEL FÉMUR

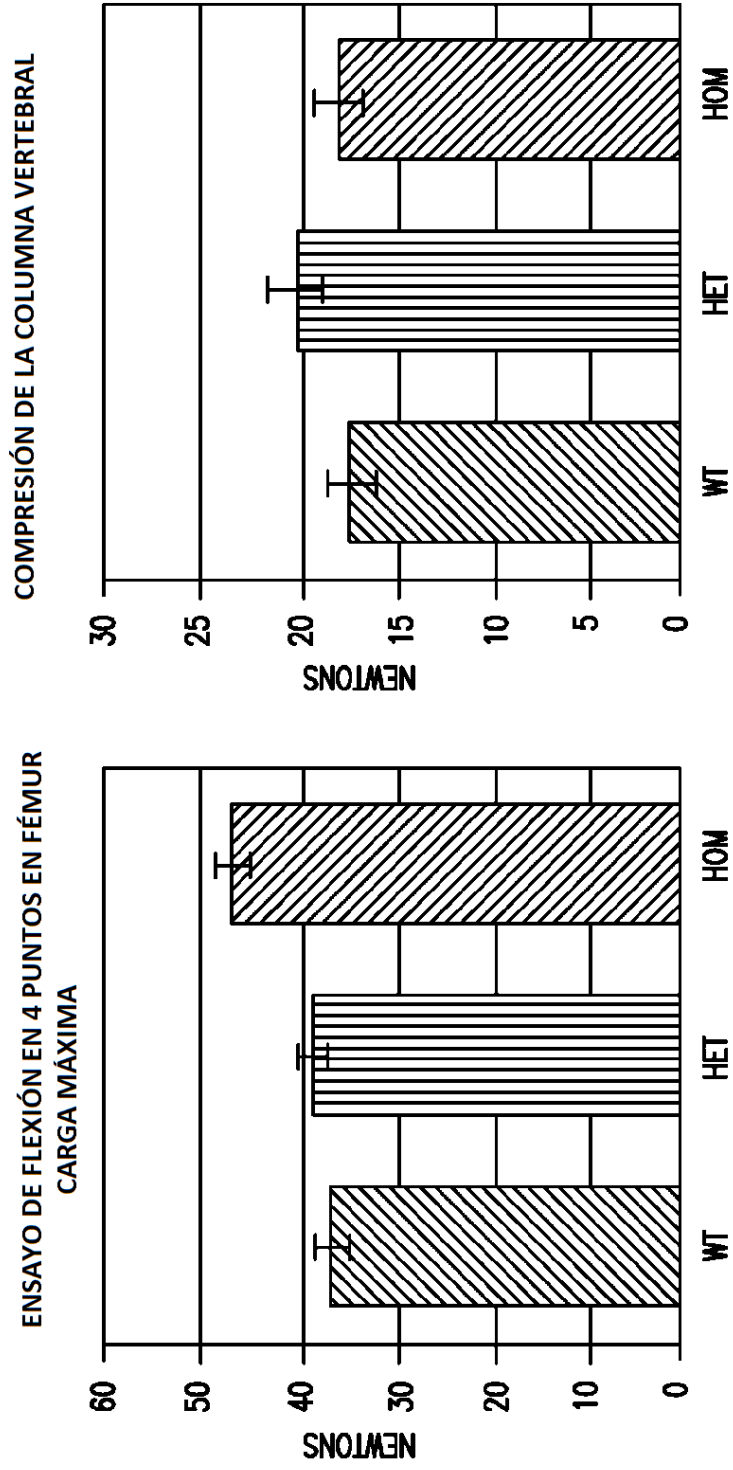


FIG. 3

LOS RATONES HEMBRA PRESENTAN UNA MAYOR RESISTENCIA A LA FRACTURA DEL FÉMUR

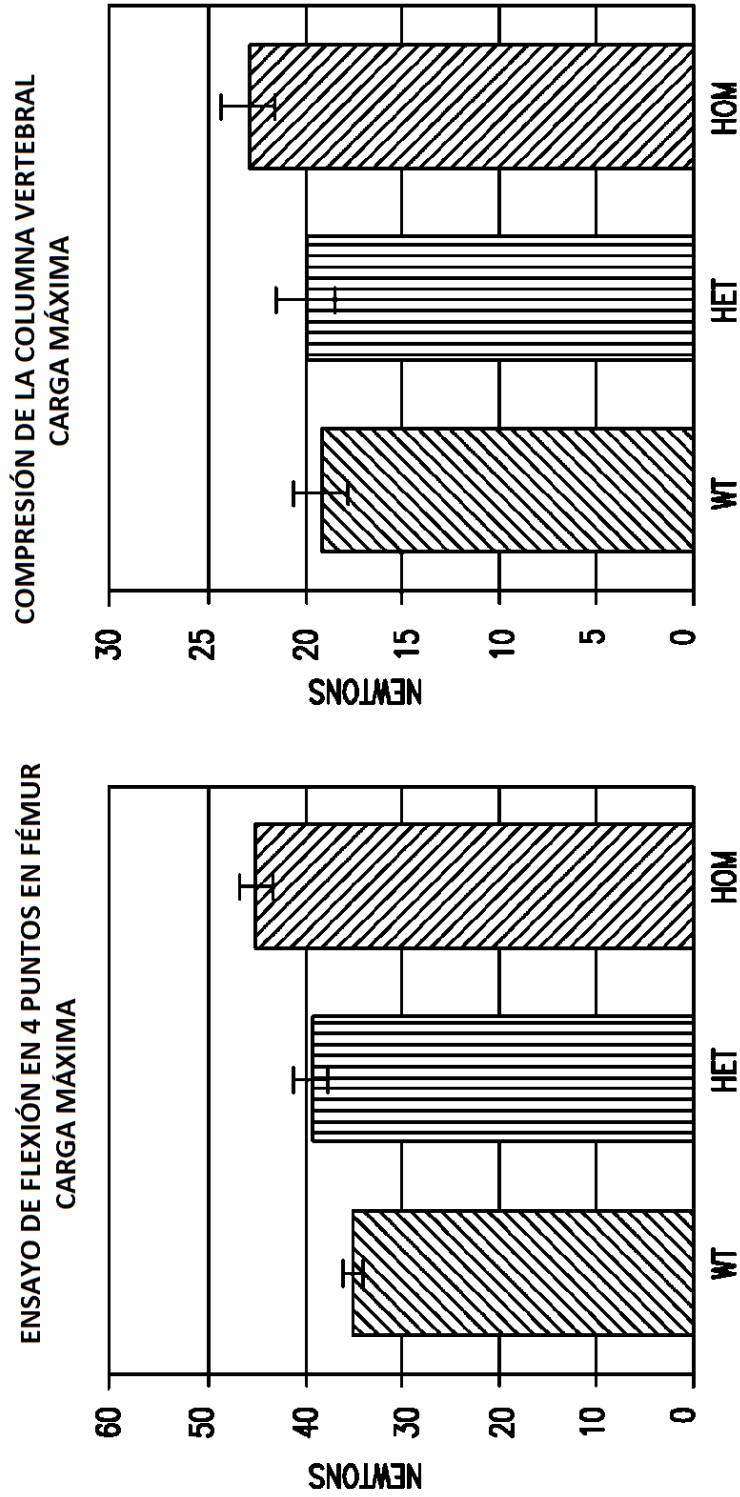


FIG. 4

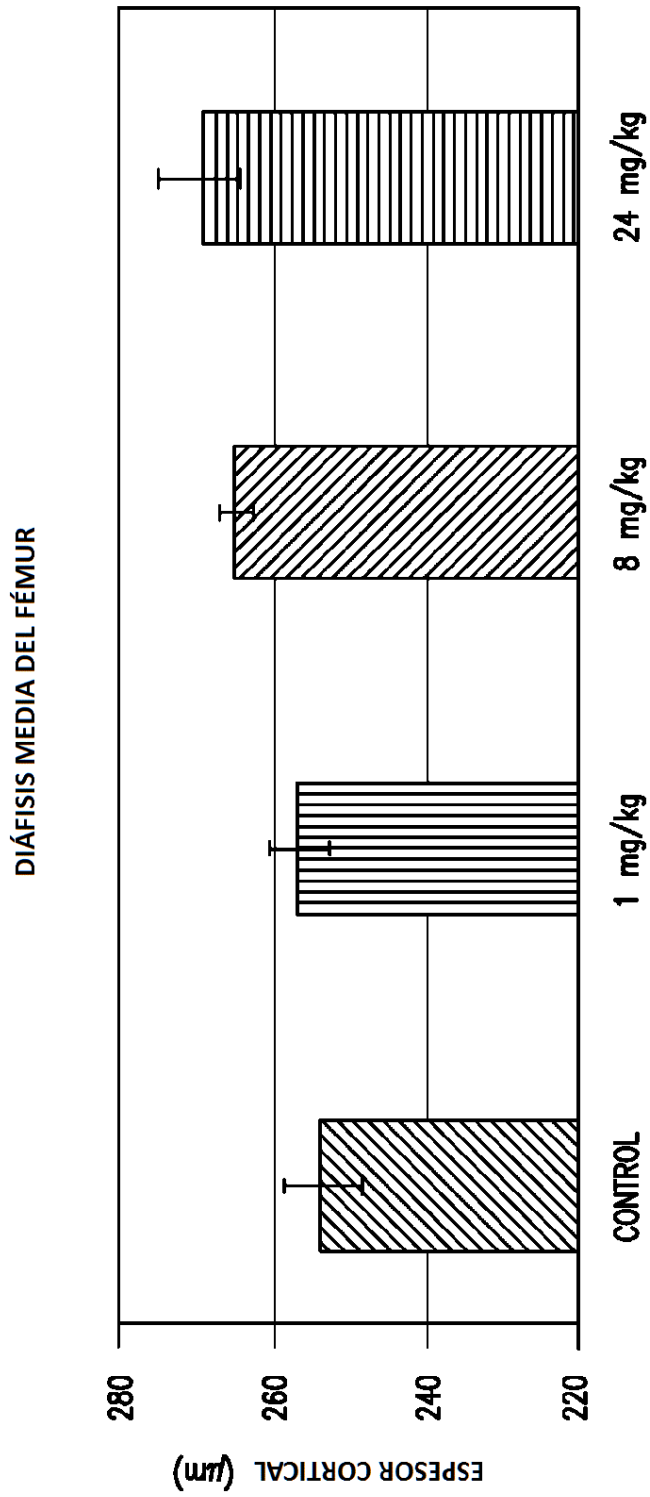


FIG. 5

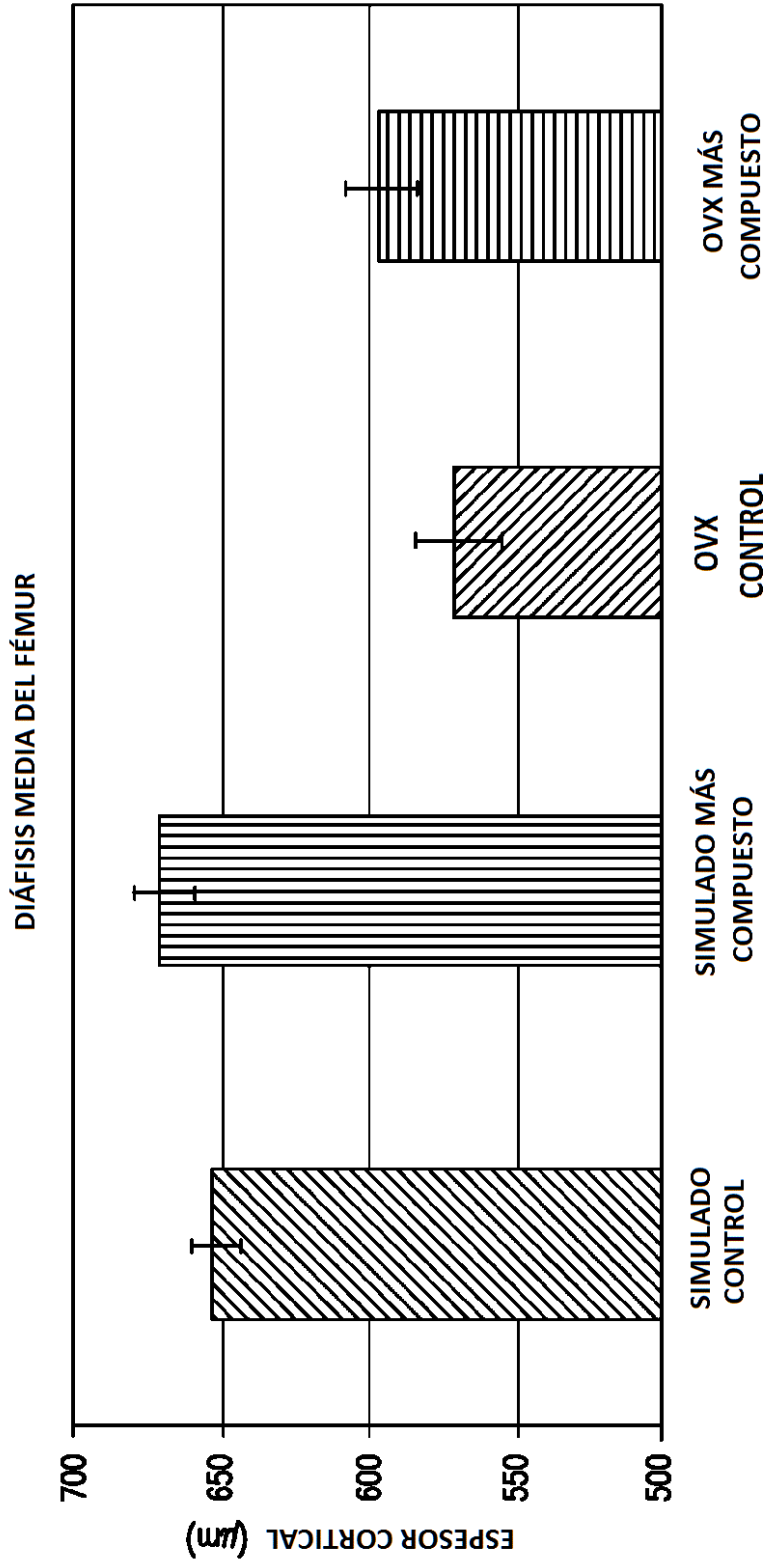


FIG. 6

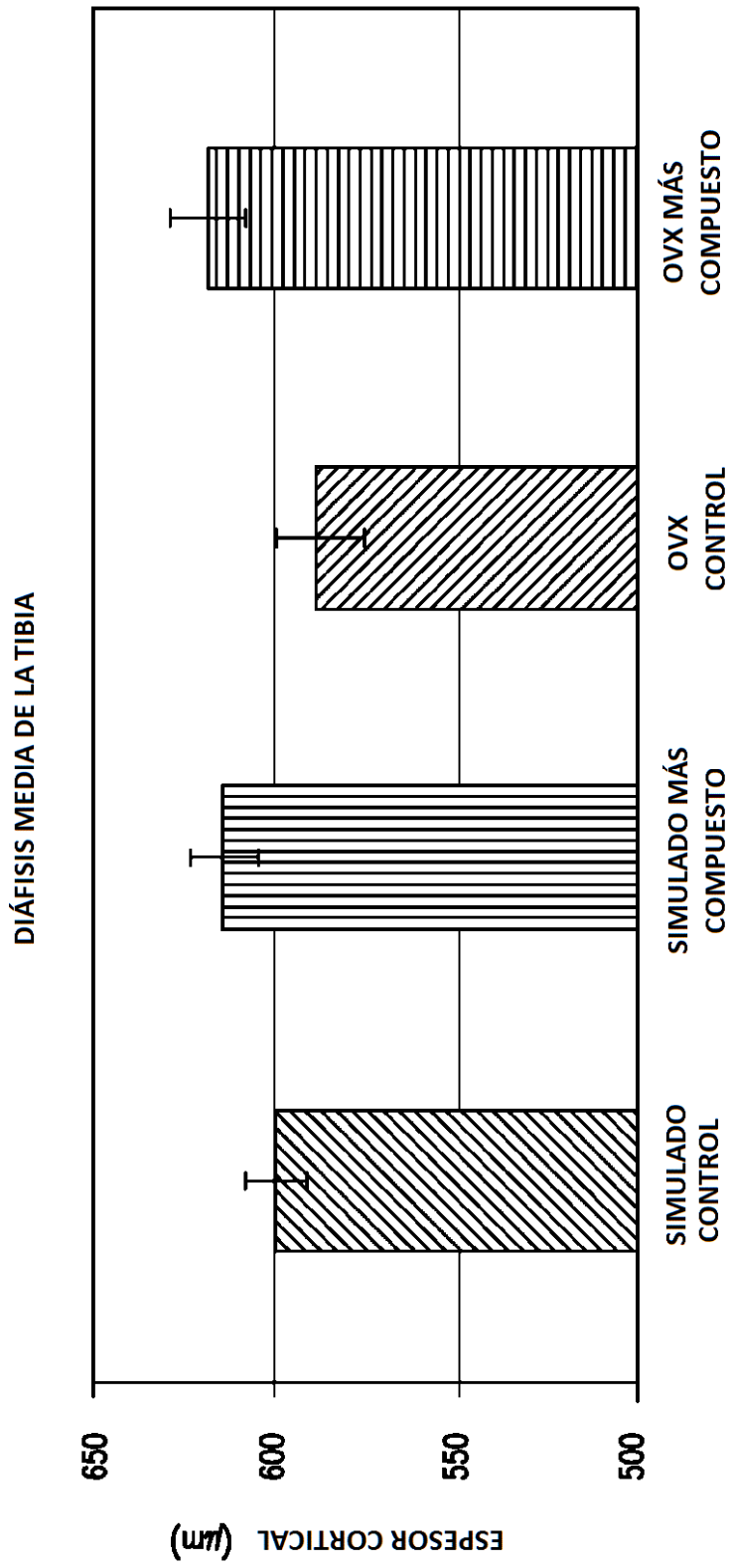


FIG. 7

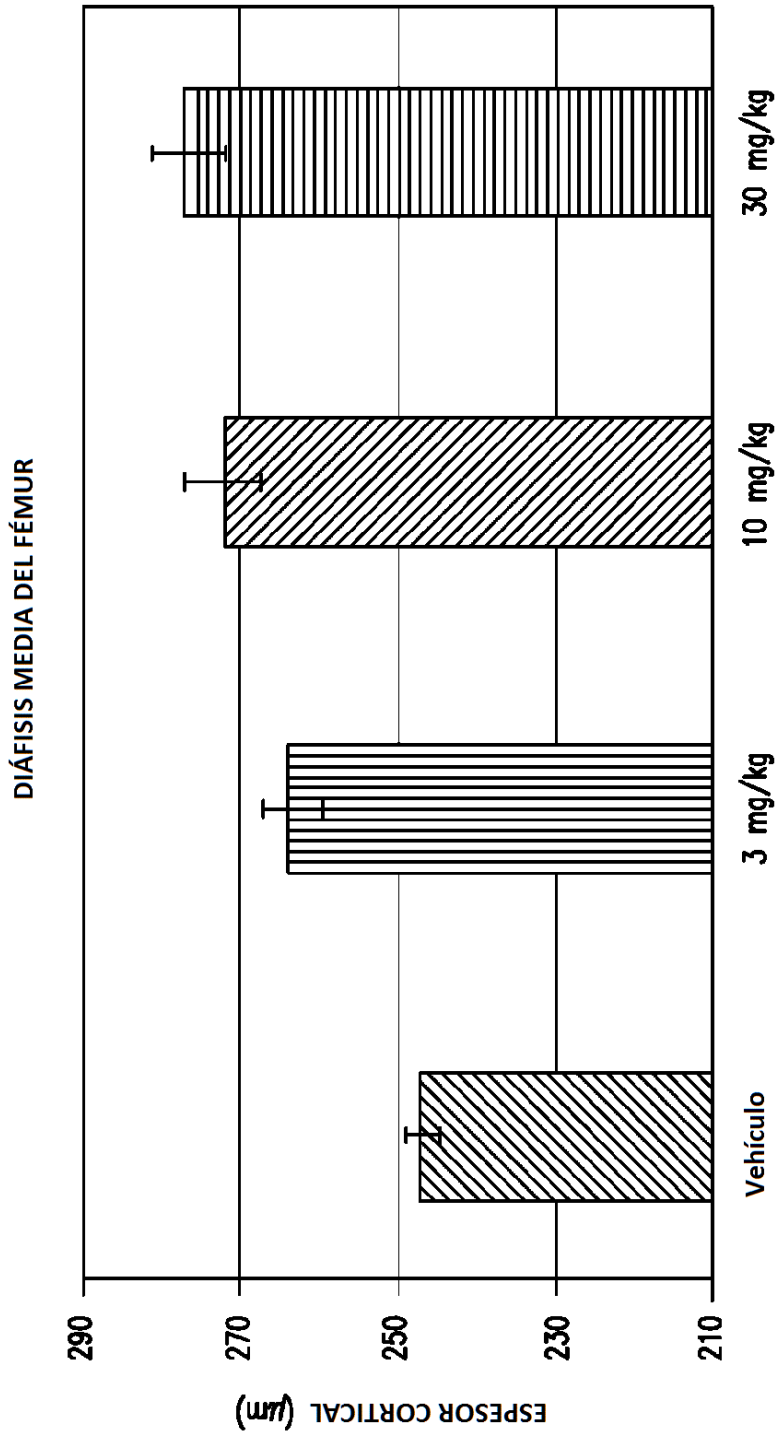


FIG. 8

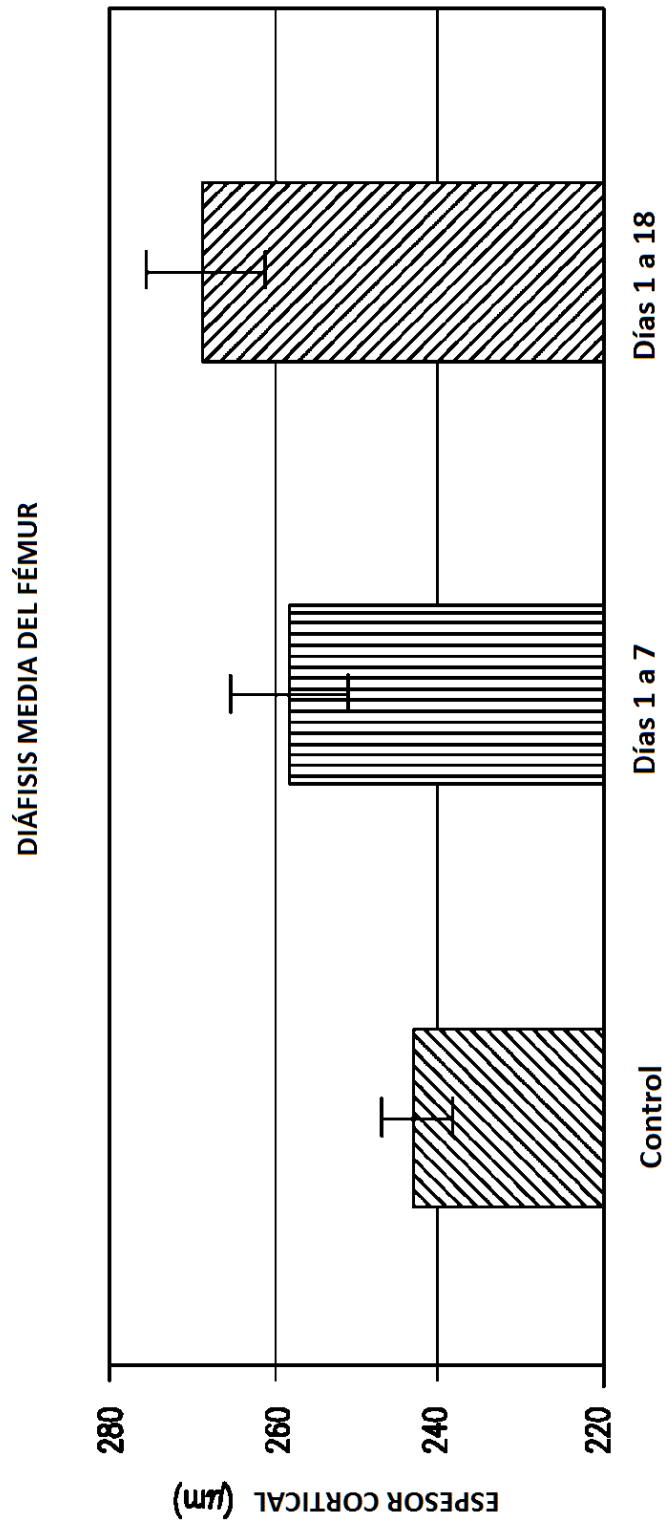


FIG. 9