

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 652 363**

51 Int. Cl.:

A01N 35/00	(2006.01)	A61P 25/00	(2006.01)
A61K 31/12	(2006.01)		
C07D 319/18	(2006.01)		
C07D 405/06	(2006.01)		
C07D 405/10	(2006.01)		
C07D 407/10	(2006.01)		
C07D 409/06	(2006.01)		
C07D 409/10	(2006.01)		
C07C 49/784	(2006.01)		
C07D 213/50	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.08.2011 PCT/US2011/048086**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **23.02.2012 WO12024404**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.08.2011 E 11818727 (7)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.11.2017 EP 2605652**

54 Título: **Dicetonas e hidroxicetonas como activadores de la vía de señalización de catenina**

30 Prioridad:

29.12.2010 US 201061427974 P
18.08.2010 US 374687 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.02.2018

73 Titular/es:

SAMUMED, LLC (100.0%)
9381 Judicial Drive Suite 160
San Diego, California 92121, US

72 Inventor/es:

KC, SUNIL, KUMAR;
WALLACE, DAVID, MARK;
HOOD, JOHN y
BARROGA, CHARLENE, F.

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 652 363 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

Dicetonas e hidroxicetonas como activadores de la vía de señalización de catenina

5 Solicitudes relacionadas

La presente solicitud reivindica el beneficio de la solicitud provisional estadounidense n.º 61/374.687, presentada el 18 de agosto de 2010 y la solicitud provisional estadounidense n.º 61/427.974, presentada el 29 de diciembre de 2010.

10

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

15 La presente invención se refiere a activadores de una o más proteínas de la vía de Wnt, incluyendo activadores de una o más proteínas Wnt, y composiciones que comprenden las mismas. Más particularmente, se refiere al uso de una β -dicetona, γ -dicetona o γ -hidroxicetona o sales o análogos de las mismas, en el tratamiento de la osteoporosis y la osteoartritis; osteogénesis imperfecta, defectos óseos, fracturas óseas, enfermedad periodontal, otosclerosis, cicatrización de heridas, defectos craneofaciales, enfermedad ósea oncolítica, lesiones cerebrales traumáticas
20 relacionadas con la diferenciación y el desarrollo del sistema nervioso central, que comprenden enfermedad de Parkinson, apoplejías, enfermedad cerebral isquémica, epilepsia, enfermedad de Alzheimer, depresión, trastorno bipolar, esquizofrenia; enfermedades oculares tales como degeneración macular relacionada con la edad, edema macular diabético o retinitis pigmentosa y enfermedades relacionadas con la diferenciación y el crecimiento de células madre, que comprenden la caída del cabello, enfermedades relacionadas con la hematopoyesis y las
25 enfermedades relacionadas con la regeneración de tejidos.

Descripción de la técnica relacionada

30 La vía de señalización de Wnt/ β -catenina es esencial en muchos procesos biológicos. Regula el destino de las células que aún no están desarrolladas en forma embrionaria. La vía de señalización de Wnt/ β -catenina es esencial para la auto-renovación y la proliferación de células madre, así como para el desarrollo de células madre en organismos adultos (p. ej., células de la piel, células óseas, células hepáticas, etc.) [*Science* (2002), 296(5573), 1644-1646]. La vía de señalización de Wnt/ β -catenina regula el desarrollo, la morfología, la proliferación, la motilidad y el destino de la célula [*Annual Review of Cell and Developmental Biology* (2004), 20, 781-810]. La vía de señalización
35 de Wnt/ β -catenina tiene un papel central en la tumorigénesis y la activación inapropiada de este sistema se observa en varios cánceres humanos [*Wnt Signaling in Human Cancer*, in *Signal Transduction in Cancer* (págs. 169-187). (2006) Springer]. Wnt/ β -catenina fue descrita por vez primera en seres humanos como una proteína que interactúa con el dominio citoplásmico de E-cadherina y con Wnt/ β -catenina, anclando el complejo cadherina al citoesqueleto de actina [*Science* (1991), 254(5036), 1359-1361]. Posteriormente, se descubrió un papel adicional para Wnt/ β -
40 catenina de mamíferos; a saber, como el mediador clave del mensajero de Wnt/ β -catenina.

En presencia de un ligando Wnt, en caso de no ser inhibido por antagonistas secretados, el ligando Wnt se une a un complejo de la proteína relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad (LRP)/frizzled (Fzd), activando la proteína citoplasmática dishevelled (Dsh en *Drosophila* y Dvl en vertebrados). Precisamente cómo se activa
45 Dsh/Dvl no se comprende en su totalidad, pero la fosforilación por caseína quinasa 1 (CK1) y caseína quinasa 2 (CK2) se ha sugerido por ser en parte responsable [*proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* (1999), 96(22), 12548-12552]. Dsh/Dvl inhibe a continuación la actividad del complejo multiproteico (β -catenina-axina-poliposis adenomatosa coli (PAC)-glicógeno sintasa quinasa (GSK)-3 β), que se dirige a β -catenina por la fosforilación de la degradación por el proteasoma. Se sugiere que Dsh/Dvl se une a CK1 e inhibe de ese modo el
50 cebado de β -catenina y evita indirectamente la fosforilación por GSK-3 β de β -catenina [*Genes & Development* (2002), 16(9), 1066-1076]. Tras la estimulación de Wnt, también se ha demostrado que Dvl recluta una proteína de unión a GSK-3 (GBP) al complejo multiproteico. GBP podría valorar GSK-3 β de axina y de esta manera inhibe la fosforilación de β -catenina. Por último, se ha descrito el secuestro de axina en la membrana celular por LRP [*Molecular Cell* (2001), 7(4), 801-809]. El resultado global es la acumulación de β -catenina citosólica. La β -catenina
55 estabilizada se translocará entonces en el núcleo y se une a los miembros de la familia del factor de linfocitos T (Tcf)/factor de potenciación linfoide (Lef) de proteínas de unión a ADN que conducen a la transcripción de genes diana Wnt.

En ausencia de un ligando Wnt, la axina recluta CK1 al complejo multiproteico causando un cebado de β -catenina y el inicio de la cascada de fosforilación de β -catenina realizado por GSK-3 β . Posteriormente, la β -catenina fosforilada es reconocida por la proteína que contiene una repetición de β -transducina (β -TrCP) y degradada por el proteosoma, reduciendo el nivel de β -catenina citosólica.

La activación aberrante de la vía Wnt/ β -catenina ha dado lugar a varios fenotipos, incluyendo el desarrollo de una
65 variedad de cánceres humanos, enfermedades que conducen a un desarrollo anormal y funcionamiento de las células madre [*Oncogene* (2009), 28(21), 2163-2172; *Cancer Cell* (2008), 14(6), 471-484; *American Journal of*

Pathology (2003), 162(5), 1495-1502]. La activación crónica de la vía de señalización de *Wnt/β*-catenina se ha implicado en el desarrollo de una variedad de neoplasias humanas, incluyendo el síndrome de alta masa ósea, esclerosteosis, carcinomas colorrectales, carcinomas hepatocelulares (CHCs), carcinomas de ovarios, de útero, pancreáticos, y melanomas [*BioEssays* (1999) 21(12), 1021-1030; *Cell* (2000), 103(2), 311-320; *Genes Dev.* (2000), 14(15), 1837-1851]. Puesto que la vía de *Wnt/β*-catenina está implicada en innumerables procesos de crecimiento y desarrollo, la mutación de las proteínas implicadas en el sistema de transducción de la señal de *Wnt/β*-catenina está estrechamente correlacionada con diversas enfermedades en seres humanos, tales como anomalías en el desarrollo, morfogénesis del folículo piloso, diferenciación de las células madre, formación ósea y proliferación celular.

Caída del cabello

El cabello forma una estructura similar a una bolsa bajo la piel llamada folículo piloso. El cabello visible, por ejemplo, el que se ve en un cuero cabelludo humano, es en realidad el tallo del cabello, que es el tejido queratinizado y endurecido que crece desde el folículo piloso. En particular, el tallo del cabello se compone en gran parte de queratina, que es producida por los queratinocitos.

Los folículos pilosos normales se producen en ciclos entre una etapa de crecimiento (anágena), una etapa degenerativa (catágena) y una etapa de reposo (telógena). Los cabellos del cuero cabelludo tienen un ciclo de vida relativamente largo: la fase anágena oscila de 2 a 6 años, la fase catágena oscila desde unos pocos días a unas pocas semanas y la etapa telógena dura aproximadamente tres meses. Los pelos más cortos que se encuentran en otros lugares del cuerpo humano tienen duraciones anágenas respectivas más cortas. La morfología del cabello y el folículo piloso cambian notablemente en el transcurso del ciclo de vida del cabello [*Dermatology in General Medicine* (Vol. I), McGraw-Hill, Inc., 1993, págs. 290-91; Sperling, L. C.; J. Amber. *Acad. Dermatology* (1991), 25(1, Parte 1), 1-17].

Durante la fase anágena, el folículo piloso es metabólicamente muy activo. El folículo comprende una papila dérmica en la base del folículo; y células de la matriz epidérmica que rodean la papila dérmica forman la base del tallo del cabello, que se extiende hacia arriba desde la papila por el canal del cabello. Las células de la matriz son la porción de crecimiento activo del cabello.

En la fase catágena, las células de la matriz se retraen de la papila, y se producen otros cambios degenerativos. Por ejemplo, los vasos y capilares que suministran sangre y nutrientes al folículo piloso se secan y dejan de funcionar. Una columna de células epiteliales empuja el tallo proximal queratinizado del cabello hacia arriba, y la muerte celular se produce en el folículo. El tallo del cabello se cae entonces del cuero cabelludo u otra parte del cuerpo y el folículo piloso entra en la fase telógena, la etapa de reposo del ciclo de crecimiento del cabello.

Aunque la regulación y el crecimiento del folículo piloso no se comprenden bien, éstos representan procesos dinámicos de proliferación, diferenciación e interacciones celulares durante la morfogénesis tisular. Se cree que los folículos pilosos se forman sólo en las primeras etapas de desarrollo y no se reemplazan. De este modo, un aumento en los folículos pilosos dañados o que no funcionan se asocia generalmente con la caída del cabello.

Los patrones de calvicie masculina o femenina requieren la presencia de hormonas masculinas o femeninas, p. ej., andrógenos, pero la causa es desconocida. El grado de caída del cabello en cualquier hombre depende en gran medida de los genes que hereda de su padre, madre, o ambos. La caída del cabello comienza en la sien o en la parte superior de la cabeza. Si el patrón masculino de caída del cabello comienza a mediados de la adolescencia, la caída del cabello posterior suele ser bastante extensa. La calvicie masculina llega en oleadas. La caída del cabello puede comenzar a principios de los 20, luego se detiene, sólo para empezar de nuevo en unos pocos años. A la edad de 20 a 30 años, el 30 % de los hombres tienen partes de calvicie. Esto continúa aumentando hasta los 50-60 años, cuando el 50 % de los hombres están completamente calvos.

La tasa de caída del cabello se ve afectada por la edad avanzada, la tendencia a quedarse calvo antes de tiempo debido a los genes heredados, y un exceso de la hormona masculina dihidrotestosterona (DHT) en el folículo piloso. DHT actúa sobre un receptor de la hormona en el folículo piloso, y disminuye así la producción de pelo y produce un cabello débil y más corto. A veces, la producción de DHT incluso detiene por completo el crecimiento del cabello. A pesar de que los hombres calvos tienen cantidades superiores a la media de DHT en sus folículos pilosos, por lo general no tienen niveles de testosterona circulante superiores a la media.

El patrón de calvicie femenina no es tan común como el patrón de calvicie masculina, pero está aumentando. Se limita predominantemente al cabello en la parte superior de la cabeza y la calvicie completa es rara en las mujeres.

La alopecia tóxica es temporal, pero por lo general dura de tres a cuatro meses, y con frecuencia es causada por una enfermedad infecciosa. Por ejemplo, la alopecia tóxica puede ocurrir como resultado de hipotiroidismo, diabetes, problemas hormonales, deficiencias de vitaminas, hipopituitarismo, parásitos, mala digestión, etapa temprana de sífilis, sobredosis de vitamina A o retinoides u otros fármacos citotóxicos.

La alopecia areata es una caída repentina del cabello en áreas delimitadas. Puede afectar a cualquier área con pelo, pero afecta con más frecuencia al cuero cabelludo y a la barba. La caída del cabello limitada a unas pocas áreas se invierte a menudo en unos pocos meses incluso sin tratamiento, pero la recurrencia es una posibilidad. La alopecia areata ocurre generalmente en personas sin enfermedad cutánea o enfermedad sistémica obvia, pero en casos raros, los ensayos de laboratorio pueden mostrar anticuerpos antimicrosomales contra tiroglobulina, células parietales gástricas y células suprarrenales.

La alopecia cicatricial es consecuencia de la inflamación y la destrucción del tejido. Puede ser debida a lesiones tales como quemaduras, traumatismo físico o destrucción tras exámenes radiográficos. En estos casos, se espera poca regeneración. Otras causas son lupus eritematoso cutáneo, liquen plano, infecciones bacterianas o fúngicas profundas crónicas, úlceras profundas, sarcoidosis, sífilis o tuberculosis. Los tumores de crecimiento lento del cuero cabelludo son una causa poco frecuente de caída del cabello.

Si bien ninguna de estas afecciones se entiende muy bien, cada afección es preocupante ya que el cabello es considerado a menudo un factor importante en las comunicaciones e interacciones sociales humanas.

Numerosos enfoques han sido sugeridos para el tratamiento de la caída del cabello. Dos de los compuestos más comúnmente utilizados y aceptados para la prevención de la caída del cabello son minoxidil, el principio activo en Rogaine® y el inhibidor de la 5 α -reductasa, finasterida, el principio activo en Propecia®. Sin embargo, un tratamiento cosmético de la caída del cabello relacionada con la edad en pacientes con solución tópica de minoxidil o finasterida ha dado como resultado solamente una regeneración moderada del cabello en menos del 40 % de tales pacientes. De hecho, menos del diez por ciento de los hombres que utilizan Rogaine® consiguen resultados satisfactorios. De este modo, existe una necesidad en la técnica de métodos más eficaces y composiciones para tratar la caída del cabello. Preferentemente, los nuevos métodos y composiciones requerirán menos aplicaciones de principios activos; proporcionarán una regeneración más rápida del cabello, con más abundancia, y más grueso, de lo que actualmente se observa con un tratamiento de minoxidil o finasterida.

Se ha descubierto que el desarrollo y la regeneración del folículo piloso están regulados por la vía de señalización de *Wnt*/ β -catenina canónica [*Investigative Dermatology* (2008), 128(5), 1081-1087]. En la epidermis, el desarrollo del folículo piloso se inicia cuando las células mesenquimales pueblan la piel. Durante este proceso, las señales que emanan de la dermis inducen engrosamiento del epitelio, alargamiento de las células epiteliales, y formación de placodas que contienen células sensibles a *Wnt*. En respuesta, las placodas indican a las células dérmicas que se condensan, formando de este modo el componente de papila dérmica del folículo piloso, que también es sensible a la señalización de *Wnt*. *Wnt3a* es secretada por el epitelio del cabello y actúa de una manera autocrina y paracrina, y se ha demostrado que *Wnt-3a* mantiene la expresión anágena del gen en las células de papila dérmica y media en la actividad inductiva del cabello en un cultivo de órganos. Este crecimiento del cabello mediado por *Wnt-3a* podría depender de la vía de señalización de *Wnt*/ β -catenina canónica puesto que la delección de β -catenina o el gen *Lef1* resultó en la caída de pelo en ratones. Por lo tanto, la activación de β -catenina por *Wnt* contribuye a la inhibición de la diferenciación de queratinocitos, a la inducción de la formación del folículo piloso y al mantenimiento de la proliferación de progenitores neuronales.

Enfermedades neurodegenerativas

Las enfermedades neurodegenerativas son el resultado de un deterioro de las neuronas o su vaina de mielina que, con el tiempo, conduce a la disfunción y a la discapacidad resultantes de esto. El cerebro de mamíferos adultos tiene una capacidad limitada para la regeneración. Esto hace que la reparación de cualquier lesión peligrosa y, en consecuencia, los traumas del SNC sean devastadores.

Las neuronas nuevas se generan a partir de células madre neuronales, en dos regiones del sistema nervioso central de mamíferos adultos: la zona subventricular del ventrículo lateral y la zona subgranular del giro dentado del hipocampo [*Current Opinion in Cell Biology* (2001), 13, 666-672]. Las señales proporcionadas por el microambiente contribuyen a la regulación del mantenimiento, a la proliferación y al compromiso del destino neuronal de las células madre locales. Muchas de estas señales y vías de señalización son desconocidas.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es la causa más común de demencia que destruye gradualmente las neuronas y afecta a más de 24 millones de personas en todo el mundo. Ocurre sobre todo en personas mayores y en pacientes aquejados con EA que pierden su capacidad de aprender, recordar, tomar decisiones, comunicarse y llevar a cabo las actividades diarias. La etiología y la progresión de la EA no se entienden bien, pero se asocia con placas beta amiloides (A β) y los ovillos neurofibrilares en el cerebro.

La enfermedad de Parkinson (EP) es un trastorno degenerativo del sistema nervioso central que afecta a más de 6 millones de personas en todo el mundo y que a menudo afecta a las habilidades motoras y al habla del enfermo. Los síntomas de la enfermedad de Parkinson son resultado de la pérdida de células secretoras de dopamina en la región de la sustancia nigra (literalmente "sustancia negra"). Estas neuronas se proyectan en el estriado y su pérdida conduce a alteraciones en la actividad de los circuitos neuronales dentro de los ganglios basales que regulan el movimiento.

La esclerosis lateral amiotrófica (ELA) es una enfermedad neurodegenerativa mortal que resulta de la muerte de las neuronas motoras. Una pérdida progresiva del control muscular perjudica la capacidad del individuo para la función independiente. ELA ataca a las células del cerebro y de la médula espinal (neuronas motoras), que envían señales para mover los músculos. En algunos casos, una mutación en el gen SOD1 da lugar a una proteína disfuncional, la proteína superóxido dismutasa (denominada SOD1), que normalmente "limpia" las partículas tóxicas dentro de una célula. Cuando SOD1 está mutada, las partículas tóxicas se acumulan en el interior de las neuronas motoras provocando un mal funcionamiento. Pero esta mutación sólo explica un pequeño porcentaje de los casos de ELA. La principal causa de ELA, que aqueja a cerca de 350.000 adultos en todo el mundo, es desconocida.

La apoplejía y la lesión cerebral traumática también pueden causar la pérdida neuronal y conducir a un deterioro cognitivo. La apoplejía puede clasificarse en dos categorías principales: isquémica y hemorrágica. La isquemia es debida a la interrupción del suministro de sangre, mientras que la hemorragia se debe a la ruptura de un vaso sanguíneo o a una estructura vascular anormal. La apoplejía puede causar daño neurológico permanente, complicaciones y muerte si no se diagnostica y se trata a tiempo. Es la tercera causa de muerte y la principal causa de discapacidad en los adultos en los Estados Unidos y Europa.

La demencia frontotemporal (DFT) representa el 18 % de las demencias en personas menores de 65 años. Con frecuencia se manifiesta como un trastorno conductual, y puede progresar poniendo en peligro la capacidad de un individuo para el pensamiento y la función independiente. Estudios recientes han descubierto factores genéticos que contribuyen a esta demencia; sin embargo, aún no existe un tratamiento que bloquee el deterioro cerebral que lo causa.

El sistema de transducción de señales de *Wnt*/β-catenina desempeña un papel crucial en la diferenciación y el desarrollo de las células nerviosas del sistema nervioso central, lo que sugiere una relación entre las proteínas *Wnt*/β-catenina y la incidencia de varias enfermedades del sistema nervioso central, incluyendo enfermedades neurodegenerativas [*Nature* (2005), 437(7063), 1370-1375]. En particular, también se descubre que la señalización de *Wnt*/β-catenina está relacionada con enfermedades resultantes de la anomalía de las células nerviosas, tales como daño cerebral, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (enfermedad de Lou Gehrig), apoplejía, epilepsia, enfermedad de Alzheimer (EA), depresión, trastorno bipolar y esquizofrenia.

La enfermedad de Alzheimer es el trastorno neurodegenerativo más común relacionado con la edad. De hecho, se ha observado una relación entre la neurotoxicidad inducida por el péptido β-amiloide (Aβ) y una disminución en los niveles citoplásmicos de β-catenina. Aparentemente Aβ se une al dominio extracelular rico en cisteína del receptor Frizzled (Fz) que inhibe la señalización de *Wnt*/β-catenina. La intercomunicación con otras cascadas de señalización que regulan la señalización de *Wnt*/β-catenina, incluyendo la activación del receptor muscarínico M1 y PKC, el uso de compuestos bifuncionales de ibuprofeno-ChE, PPAR α, y agonistas, nicotina y algunos antioxidantes, resulta en una neuroprotección contra Aβ. Estos estudios indican que una caída sostenida de la función de señalización de *Wnt* puede estar implicada en la neurodegeneración dependiente de Aβ observada en el cerebro con Alzheimer. Así, la activación de la vía de señalización de *Wnt*/β-catenina podría proponerse como diana terapéutica para el tratamiento de EA.

Enfermedades oculares

La degeneración macular relacionada con la edad (DMRE) es una afección médica que afecta generalmente a adultos mayores que se traduce en una pérdida de visión en el centro del campo visual (la mácula) debido al daño en la retina. Se produce en formas "secas" y "húmedas". Es una causa importante de discapacidad visual en los adultos de edad avanzada (> 50 años). La capa interior del ojo es la retina, que contiene nervios que se comunican con la vista, y detrás de la retina se encuentra la coroides, que contiene el suministro de sangre a la mácula (la parte central de la retina). En la forma seca (no exudativa), los residuos celulares denominados drusas se acumulan entre la retina y la coroides y la retina puede desprenderse. En la forma húmeda (exudativa), que es más grave, los vasos sanguíneos crecen desde la coroides detrás de la retina, y la retina también puede desprenderse. Puede tratarse con coagulación con láser, y con medicación que detiene y, a veces, invierte el crecimiento de los vasos sanguíneos.

La retinopatía diabética es una retinopatía (daño a la retina) causada por complicaciones de la diabetes mellitus, lo que eventualmente puede conducir a ceguera. Es una manifestación ocular de la enfermedad sistémica que afecta hasta el 80 % de todos los pacientes que han tenido diabetes durante 10 años o más. A medida que los nuevos vasos sanguíneos se forman en la parte posterior del ojo como una parte de la retinopatía diabética proliferativa (RDP), éstos pueden sangrar (hemorragia) y provocar una visión borrosa. Algunas personas desarrollan una afección llamada edema macular. Se produce cuando los vasos sanguíneos dañados drenan líquidos y lípidos en la mácula, la parte de la retina que nos permite ver los detalles. A medida que la enfermedad progresa, la retinopatía diabética no proliferativa severa entra en una fase avanzada o proliferativa. La falta de oxígeno en la retina provoca que crezcan nuevos vasos sanguíneos frágiles a lo largo de la retina y en el humor vítreo similar a un gel transparente que llena el interior del ojo. Sin tratamiento oportuno, estos nuevos vasos sanguíneos pueden sangrar, provocar una visión borrosa y destruir la retina.

La retinitis pigmentosa (RP) es un grupo de afecciones oculares genéticas. En la progresión de los síntomas de RP, la ceguera nocturna precede generalmente a la visión de túnel durante años o incluso décadas. Muchas personas con RP no se vuelven legalmente ciegos hasta los 40 o 50 años y retienen parte de su visión durante toda su vida [American Journal of Ophthalmology (2003), 136(4), 678-68]. Otros se vuelven completamente ciegos como resultado de RP, en algunos casos, incluso en la niñez. La progresión de la RP es diferente en cada caso. RP es un tipo de distrofia retinal progresiva, un grupo de trastornos hereditarios en los que las anomalías de los fotorreceptores (conos y bastones) o del epitelio pigmentario de la retina (EPR) de la retina conducen a la pérdida visual progresiva. Los individuos afectados tienen una experiencia inicial de adaptación defectuosa a la oscuridad o nictalopía (ceguera nocturna), seguido por la reducción del campo visual periférico (conocido como visión de túnel), y, algunas veces, pérdida de visión central posteriormente en el curso de la enfermedad.

La glía de Müller, o células de Müller, son células gliales que se encuentran en la retina de los vertebrados, que sirven normalmente a las funciones de cualquiera de las células gliales normales. Sin embargo, después de una lesión en la retina, se ha observado que la glía de Müller se somete a la desdiferenciación en células progenitoras multipotentes. En este punto, la célula progenitora puede dividirse y diferenciarse en un número de tipos de células retinianas, incluyendo fotorreceptores, que pueden haber sido dañados durante la lesión. Adicionalmente, la investigación publicada recientemente ha demostrado que células de Müller actúan como un colector de luz en el ojo de un mamífero, análogo a una placa de fibra óptica, canalizando la luz a las células de conos y bastones.

Los progenitores retinianos multipotentes deben resolver dos problemas fundamentales. Primero, han de expandir inicialmente su número, pero más tarde limitar su proliferación de manera que el número correcto de células diferenciadas se produzca en el momento de desarrollo apropiado. En segundo lugar, los distintos procesos de división y diferenciación han de estar coordinados para que la diferenciación se pueda iniciar cuando las células dejen de dividirse [Current Opinion in Genetics & Development (1997), 7(5), 651-658; Nature Reviews Neuroscience (2001), (2), 109-118]. Wnt promueve la proliferación celular en múltiples tejidos [Cell and Tissue Research (2008), 331(1), 193-210], en particular en la retina en desarrollo [Stem Cells (2008), 26(8), 2063-2074; Development (2003), 130(3), 587-598; Development (2005), 132(12), 2759-2770; Development (2005), 132(13), 3027-3043]. La familia de genes SoxB1 (Sox1-3) puede ser efectores clave de la señalización de Wnt/ β -catenina en el sistema nervioso en desarrollo [Development (2006), 133(22), 4451-4461; Neuron (2005), 46(1), 23-36]. Durante la neurogénesis, Sox2 antagoniza genes proneurales y puede mantener progenitores [Nature Neuroscience (2003), (6), 1162-1168; Neuron (2003), 39(5), 749-765]. En la retina de la rana, la señalización de Wnt/ β -catenina a través de Fz5 es necesaria para la expresión de Sox2, que se requiere para la expresión génica proneural y la transición de progenitores a neuronas [Neuron (2005), 46(1), 23-36]. Se descubrió que estos factores son componentes básicos de una cascada jerárquica conservada y se propone que formen una red direccional potente que estimule células de un estado proliferativo a un destino glial o neuronal no proliferativo y no diferenciado [Development (2009), 136(19), 3289-3299].

La regeneración en el SNC de mamíferos es muy limitada. A diferencia de en el pollo, los modelos actuales sostienen que las neuronas de la retina nunca se regeneran. Se ha demostrado que, en la retina de mamíferos adultos, la glía de Müller se desdiferencia y produce células de la retina, incluyendo fotorreceptores, después de una lesión neurotóxica aguda *in vivo*. Sin embargo, el número de neuronas de la retina recién generadas es muy limitado. Se ha demostrado que la señalización de Wnt/ β -catenina promueve la proliferación de los progenitores de la retina derivados de la glía de Müller y la regeneración neural después del daño o durante la degeneración. El tratamiento con Wnt3a aumenta la proliferación de la glía de Müller desdiferenciada > 20 veces en la retina dañada por un fotorreceptor. También se ha demostrado que en la retina degenerada, Wnt3a aumentó la proliferación celular, y el tratamiento con RA o VPA promovió la diferenciación de estas células en células fotorreceptoras positivas por rodopsina [Journal of Neuroscience (2007), 27(15), 4210-4219].

Por lo tanto, se propone que la modulación de la vía Wnt/ β -catenina es una estrategia terapéutica posible para potenciar el reemplazo de neuronas perdidas mediante la generación de células derivadas de progenitores neuronales endógenos.

Formación ósea

Se ha demostrado que la señalización de Wnt/ β -catenina canónica aumenta la formación ósea, y componentes de la ruta de Wnt están siendo perseguidos como dianas de fármacos potenciales para la osteoporosis y otras enfermedades óseas metabólicas [Bone (2009), 44(6), 1063-1068]. En los tiempos modernos, las enfermedades óseas están aumentando debido a factores socio-ambientales y genéticos, particularmente debido al aumento de la población de personas de edad avanzada. En general, las enfermedades óseas se producen y se desarrollan sin síntomas especiales, y empeoran rápidamente con la edad. Aunque se han desarrollado hasta el momento muchos fármacos para el tratamiento de enfermedades óseas, la mayoría están principalmente destinados a aliviar el dolor o retardar la disminución de la densidad ósea. No son eficaces como medicina curativa que tiene como objetivo aumentar la densidad ósea de los pacientes que padecen osteoporosis. Algunos otros fármacos se encuentran por lo general en forma de inyecciones y se notifican para producir efectos secundarios después de la administración a largo plazo de los mismos.

La señalización a través de la vía de *Wnt*/β-catenina puede aumentar la masa ósea por medio de un número de mecanismos, incluyendo la renovación de las células madre, la estimulación de la replicación de pre-osteoblastos, la inducción de la osteoblastogénesis y la inhibición de osteoblastos y la apoptosis de los osteocitos. Un mecanismo molecular se produce a través de la estimulación de la vía de *Wnt* por la interacción de *Wnt-3a* de sus receptores LRP5 y Fzd [*Journal of Medicinal Chemistry* (2009), 52(22), 6962-6965]. Los osteoblastos que forman el hueso expresan las proteínas de LRP5 y Fzd en la membrana de la superficie, que sirve como co-receptores para el péptido agonista soluble *Wnt-3a*. Una vez estimuladas con *Wnt-3a*, las concentraciones internas de β-catenina libre aumentan y entran en el núcleo y reclutan el factor de linfocitos T (FLT). Los eventos transcripcionales siguen y dan lugar a la producción de productos génicos anabólicos adicionales. Una proteína extracelular soluble adicional, Dkk-1, antagoniza este proceso mediante la unión simultánea a los receptores de la superficie celular Kr2 y LRP5, inhibiendo eficazmente la unión de *Wnt-3a* a LRP5. Además, el complejo Kr2/LRP5/Dkk-1 se somete a endocitosis para eliminar LRP5 de la membrana celular, anulando así su función. Las mutaciones de pérdida de función de los antagonistas de *Wnt* secretada similar a Dkk-1, SOST/esclerostina y la proteína relacionada con Frizzled secretada (sFRP)-1 resultó en un aumento de la formación ósea debido a cambios en una variedad de parámetros de osteoblastos como la proliferación, la diferenciación, el reclutamiento/longevidad y la función [*Journal of Bone and Mineral Research* (2009), 21(6), 934-945], mientras que la delección del factor de transcripción activado por β-catenina TCF-1 causa osteopenia que surge de una reducción en la expresión de osteoprotegerina por el osteoblasto [*Developmental Cell* (2005), 8(5), 751-764].

20 Enfermedades Intestinales

El epitelio intestinal adulto se caracteriza por el reemplazo continuo de las células epiteliales a través de un ciclo estereotipado de división, diferenciación, migración y exfoliación celular, que ocurre durante un tiempo de tránsito de cripta/vellosidad de 5-7 días. La proliferación que regula los factores de crecimiento putativos en el nicho de células madre intestinales de adulto aún no ha sido identificada, aunque los estudios han implicado la acción intrínseca de células de la señalización de β-catenina/Lef/Tcf en el compartimento de cripta proliferativa.

Un número de afecciones patológicas afecta a las células de los intestinos. La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) puede implicar uno o ambos del intestino delgado y grueso. La enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa son las formas más conocidas de EII, y ambos entran en la categoría de la enfermedad intestinal inflamatoria "idiopática" debido a que la etiología para ellas es desconocida. La EII "activa" se caracteriza por la inflamación aguda. La EII "crónica" se caracteriza por cambios en la arquitectura de la distorsión de la cripta y la cicatrización. Los abscesos en las criptas pueden ocurrir de muchas formas de EII.

La colitis ulcerosa (CU) implica el colon como una enfermedad de la mucosa difusa con predominio distal. El recto está prácticamente siempre involucrado, y porciones adicionales de colon pueden estar implicadas al extenderse proximalmente desde el recto en un patrón continuo. La etiología es desconocida para la CU. Los pacientes con CU prolongada tienen mayor riesgo de desarrollar cáncer de colon.

Los pacientes con CU también corren el riesgo de desarrollar enfermedades hepáticas incluyendo colangitis esclerosante y carcinoma de conducto biliar.

La enfermedad de Crohn puede afectar a cualquier parte del sistema digestivo, pero afecta más frecuentemente al intestino delgado distal y al colon. La inflamación es normalmente transmural y puede producir cualquier cosa desde una pequeña úlcera en un folículo linfoide (úlceras aftoides) a una úlcera de fisura profunda a cicatrización transmural e inflamación crónica. Un tercio de los casos tienen granulomas, y sitios extracolónicos como los ganglios linfáticos, hígado, y las articulaciones también puede tener granulomas. La inflamación transmural conduce al desarrollo de fístulas entre las asas intestinales y otras estructuras. La inflamación es normalmente segmentaria con zonas que separan el intestino involucrado del intestino afectado. La etiología es desconocida, aunque se han propuesto mecanismos infecciosos e inmunológicos.

El gluten, una proteína de la dieta común presente en el trigo, cebada y centeno causa una enfermedad llamada enfermedad celíaca en personas sensibles. La ingestión de tales proteínas por individuos sensibles produce aplanamiento normalmente del revestimiento epitelial similar a una alfombra opulenta del intestino delgado.

Otros síntomas clínicos de la enfermedad celíaca incluyen fatiga, diarrea crónica, mala absorción de nutrientes, pérdida de peso, distensión abdominal, anemia, así como un riesgo esencialmente mayor para el desarrollo de la osteoporosis y neoplasias intestinales tales como linfoma y carcinoma. La enfermedad celíaca se considera que es generalmente una enfermedad autoinmune y los anticuerpos que se encuentran en el suero de los pacientes apoyan la teoría de que la enfermedad es de naturaleza inmunológica.

Los ratones transgénicos que tienen una exclusión génica del locus Tcf muestran una pérdida de compartimentos de células madre proliferativas en el intestino delgado durante la embriogénesis tardía [*Oncogene* (2006) 25(57), 7512-7521]. Sin embargo, la exclusión génica es mortal, por lo que no ha sido estudiado en adultos. En los ratones transgénicos quiméricos que permiten el análisis de los adultos, la expresión de la proliferación constitutivamente estimulada por p-catenina truncada de NH₂ activa en criptas del intestino delgado, aunque también las fusiones de p-

catenina truncada de NH₂ o Lef-1/-catenina indujeron un aumento de la apoptosis en la cripta [*The Journal of Cell Biology* (1998), 141(3), 765-777; *The Journal of Biological Chemistry* (2002), 277(18), 15843-15850]. Debido a diversos factores que regulan la transcripción dependiente de P-catenina/Lef/Tcf, incluyendo GPCRs sin frizzled y PTEN/PI-3-quinasa, la causa del defecto de las células madre intestinales no se conoce. Los genes expresados en el sistema digestivo que son controlados por *Wnt/β*-catenina incluyen CD44 y EphB2.

Medicina regenerativa

Debido a los notables avances realizados en el campo de la medicina en los últimos años, las oportunidades para salvar vidas continúan aumentando en el ámbito de las técnicas de trasplante de donantes vivos de órganos y tejidos. Sin embargo, existen limitaciones sobre el tratamiento que dependen de trasplantes de donantes vivos debido a factores tales como la escasez de donantes de trasplante y la aparición de rechazo. Si fuera posible regenerar un tejido u órgano que se ha perdido debido al tratamiento quirúrgico o a un accidente imprevisto, entonces sería posible mejorar considerablemente la calidad de vida de los pacientes. Además, la medicina regenerativa también hace que sea posible resolver los problemas que se enfrentan con los trasplantes de donantes vivos. Desde este punto de vista, el grado de expectativas que se tiene en la medicina regenerativa es alto.

Las tecnologías en las que la medicina regenerativa ha tenido éxito se relacionan principalmente con tejido relativamente simple en términos de morfología o función en forma de piel artificial, hueso artificial y dientes artificiales. La piel artificial y el hueso artificial reconstruidos se incorporan en las células que permiten proporcionar señales requeridas para la construcción de tejido. Sin embargo, ha habido limitaciones en el repertorio de la diferenciación de la piel artificial y el hueso artificial por técnicas de medicina regenerativa. Por ejemplo, aunque los queratinocitos alogénicos o fibroblastos de la piel y el diferenciado similar en estructuras en forma de la epidermis, se incorporan por medio de órganos circundantes para tener finalmente una capa córnea o una capa basal que tiene propiedades de barrera, se ha notificado que no existe derivación de derivados secundarios tales como folículos pilosos, glándulas sebáceas o glándulas sudoríparas.

El tejido corporal contiene normalmente células que son capaces de auto-replicarse y que poseen propiedades de células madre para el mantenimiento de la homeostasis del tejido mediante el envío de señales a las células diferenciadas o el suministro de células diferenciadas, y las células que tienen propiedades de células somáticas que ya se han diferenciado que reciben varias señales u órdenes a partir de tales células, y es capaz de funcionar a través de la interacción entre estos dos tipos de células. En el caso de los vertebrados, por ejemplo, la interacción entre las células mesenquimales y las células epiteliales es esencial para casi la formación de tejidos y órganos. En el caso de los folículos pilosos, las células mesenquimales en forma de células de la papila capilar son responsables de propiedades similares a células madre, mientras las células epiteliales en forma de queratinocitos son equivalentes a células que tienen propiedades similares a células somáticas en su capacidad para diferenciarse en tallos del cabello (el propio cabello).

La dificultad encontrada al formar los órganos por medicina regenerativa reside en alcanzar un estado de coexistencia entre las células que tienen propiedades similares a las células madre que se mantienen en un estado no diferenciado y células que ya se han diferenciado como en el tejido corporal real. En la técnica anterior, incluso si las células epiteliales y las células mesenquimales fueron capaces de ser co-cultivadas, ambas terminaron diferenciándose o ambas mantienen un estado no diferenciado, evitando de este modo la reproducción de la coexistencia de células no diferenciadas y células diferenciadas con el fin de imitar tejido corporal real.

Guiar las células multipotentes en linajes distintos y controlar su expansión siguen siendo retos fundamentales en el desarrollo y en la biología de células madre. Los miembros de la vía de *Wnt* controlan muchos eventos embrionarios pivotaes, incluyendo la auto-renovación o la expansión de células progenitoras.

Las observaciones publicadas sugieren que las señales de *Wnt* canónicas desempeñan papeles distintos durante las ventanas de desarrollo discretas, primero con un compromiso mesodermo con regulación positiva y luego, posiblemente, desempeñando un papel negativo en la inducción inicial de progenitores cardíacos [*Genes & Development* (2001), 15(3), 316-327; *Ibid.*, 304-315; *Proc Natl Acad Sci EE.UU.* (2006), 103(52), 19812-19817; *Development* (Cambridge, R.U.) (2006), 133(19), 3787-3796]. Los estudios de pérdida y de ganancia de función de la señalización de *Wnt* canónica restringida de una manera espaciotemporalmente descritos en este caso proporcionan pruebas convincentes de que se requiere la señalización de *Wnt/β*-catenina de una manera autónoma celular para la expansión y el desarrollo del mesodermo pre-cardíaco y mesodermo cardíaco en ratón. Así, pueden existir ventanas estrechas de desarrollo durante el cual la señalización de *Wnt* canónica se inhibe de forma secuencial y a continuación promueve el desarrollo cardíaco. De este modo, se demostró que la señalización de *Wnt* canónica puede ser manipulada para regular la expansión y la diferenciación de células progenitoras.

En contraste con las células progenitoras, sin embargo, las células madre son mucho menos específicas. La diferencia más importante entre las células madre y las células progenitoras es que las células madre pueden replicarse indefinidamente, mientras que las células progenitoras sólo pueden dividirse un número limitado de veces. La expresión célula madre adulta, también conocida como somática y gametos, se refiere a cualquier célula que se encuentra en un organismo desarrollado que tiene dos propiedades: la capacidad de dividir y crear otra célula como

sí misma y también dividir y crear una célula más diferenciada que la propia. Se pueden encontrar en niños, así como adultos [*Nature* (2002), 418(6893), 41-49]. Todas las células somáticas de un individuo son genéticamente idénticas en principio, evolucionan en una variedad de características específicas de tejido durante el proceso de diferenciación, a través de alteraciones epigenéticas y reguladoras. Las células madre somáticas pluripotentes son raras y generalmente son pocas pero se pueden encontrar en una serie de tejidos, incluyendo sangre del cordón umbilical. Una gran parte de la investigación con células madre somáticas se ha centrado en aclarar su capacidad de dividirse o auto-renovarse indefinidamente y su potencial de diferenciación. En los ratones, las células madre pluripotentes se generan directamente a partir de cultivos de fibroblastos adultos. Por desgracia, muchos ratones no viven mucho tiempo con órganos de células madre.

Las células somáticas pueden ser reprogramadas en células madre pluripotentes inducidas (CMPi) por transducción retroviral de cuatro factores de transcripción [*Cell* (2008), 132(4), 567-582]. Si bien se cree que las células pluripotentes reprogramadas tienen un gran potencial para la medicina regenerativa [*Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* (2008), 105(15), 5856-5861], las integraciones genómicas de los retrovirus, especialmente c-Myc, aumentan el riesgo de tumorigénesis [*Nature* (2007), 448(7151), 313-317]. La generación de CMPis para su uso en el entorno clínico se beneficiaría de la identificación de estímulos iniciadores alternativos, en última instancia, más seguros, en preferencia a la modificación genética. Esto podría ser el tratamiento transitorio con factores definidos, productos químicos de baja toxicidad, o moléculas pequeñas sintéticas. Puesto que la vía de Wnt está íntimamente conectada al circuito central de la pluripotencia, se ha demostrado que la estimulación de la vía utilizando Wnt3a soluble promueve la generación de CMPis en ausencia de retrovirus c-Myc. Estos datos demuestran que las vías de transducción de señales y factores de transcripción pueden actuar de manera coordinada para reprogramar células diferenciadas en un estado pluripotente [*Cell Stem Cell* (2008), 3(2), 132-135; *Cell Stem Cell* (2008), 3(5), 465-466].

Como se ha discutido anteriormente, se espera que los activadores de la vía de señalización de Wnt/ β -catenina sean medicamentos útiles contra trastornos de la proliferación celular, trastornos óseos, enfermedades oculares, enfermedad de Alzheimer e incluso la generación de tejidos. De este modo, sería ventajoso disponer de activadores innovadores de la vía de señalización de Wnt/ β -catenina como posibles regímenes de tratamiento para trastornos relacionados con la vía de señalización de Wnt/ β -catenina. La presente invención se dirige a estos y otros fines importantes.

El documento 2010/075551 describe una composición que comprende un modulador de la vía de Wnt/ β -catenina, tal como un inhibidor de GSK-3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con un derivado de benzamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o con un ácido hidroxámico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Sumario de la invención

La presente invención se refiere a un compuesto para su uso en el aumento de la regeneración celular o tisular en un sujeto vertebrado. La invención se refiere a compuestos para su uso en el aumento de la actividad con éxito de células madre embrionarias y/o adulto, células progenitoras, células progenitoras mesenquimales/madre y/o células diferenciadas *in vivo* en un sujeto vertebrado. La invención se refiere además a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso en el aumento de la regeneración celular o tisular en un sujeto vertebrado y en el aumento en una célula madre *in vivo*, células progenitoras, y/o población de células diferenciadas en el sujeto vertebrado en comparación con las células madre, células progenitoras, y/o población de células diferenciadas en el sujeto vertebrado antes del tratamiento, para aumentar la regeneración celular o tisular en el sujeto vertebrado. El aumento de las células madres, células progenitoras, o población de células diferenciadas en el sujeto vertebrado puede ser un resultado de la proliferación celular, migración celular, disminución de la apoptosis, auto-renovación o aumento de la supervivencia celular.

En una realización, la regeneración celular o tisular puede ocurrir en tejidos que incluyen, entre otros, hueso, condrocitos/cartílago, músculo, músculo esquelético, músculo cardíaco, células pancreáticas, células endoteliales, células endoteliales vasculares, células adiposas, hígado, piel, tejido conectivo, células madre hematopoyéticas, células neonatales, células de sangre del cordón umbilical, células de hígado fetal, células adultas, células de médula ósea, células de sangre periférica, células eritroides, células de granulocitos, células de macrófagos, células de granulocitos-macrófagos, linfocitos B, linfocitos T, tipos de colonias de linaje mixto multipotentes, células madre embrionarias, células progenitoras mesenquimales/madre, células progenitoras mesodérmicas/madre, células progenitoras neurales/madre o células nerviosas. El vertebrado puede ser mamífero, aviar, reptil, anfibio, osteictios o condictios.

En una realización, la presente invención es una composición para prevenir o reducir la caída del cabello y/o para estimular o aumentar el crecimiento o regeneración del cabello, en la que la composición comprende un compuesto de acuerdo con la Fórmula I.

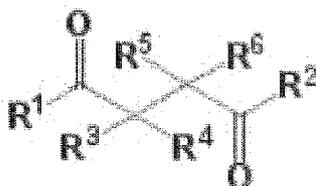
Una realización de la presente invención proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa.

- 5 En otras realizaciones, el trastorno neurológico es la enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo, trastorno bipolar o trastorno unipolar, depresión, abuso de sustancias, enfermedad neurodegenerativa, autismo o trastorno de espectro autista o un trastorno que resulta del daño neural tal como lesiones cerebrales o lesiones de la médula. La enfermedad neurodegenerativa puede ser por ejemplo, esclerosis lateral amiotrófica (enfermedad de Lou Gehrig) o enfermedad de Parkinson. En algunas realizaciones, la invención proporciona compuestos para su uso en el tratamiento de lesión cerebral que resulta de una lesión traumática o apoplejía.
- 10 En otras realizaciones, el trastorno neurológico es una enfermedad ocular, tal como degeneración macular relacionada con la edad, edema macular diabético o retinitis pigmentosa.
- 15 En una realización, la invención se refiere a un compuesto para su uso en (i) la reducción de la pérdida de masa ósea o densidad ósea, (ii) el aumento de la masa ósea o la densidad ósea, (iii) el mantenimiento de la masa ósea o la densidad ósea y/o (iv) la reducción de la pérdida de calcio de los huesos, en el que el compuesto es un compuesto de acuerdo con la Fórmula I. Como se utiliza en la presente memoria descriptiva de la patente, la expresión "masa ósea" y "densidad ósea" se utilizan indistintamente.
- 20 En una realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso en la regulación de la actividad de osteoblastos o la actividad de los osteoclastos. La actividad de los osteoblastos se puede regular mediante la regulación de la proliferación o la función de los osteoblastos. La función de los osteoblastos y/u osteoclastos se puede regular directa o indirectamente.
- 25 En una realización, el método es para su uso en el tratamiento de una afección ósea o un defecto óseo.
- 30 En otra realización, la afección ósea que está siendo tratada es la fragilidad, una fractura osteoporótica, un defecto óseo, pérdida ósea idiopática de la infancia, pérdida ósea alveolar, pérdida ósea mandibular, fractura ósea, osteotomía, pérdida ósea asociada con periodontitis o recrecimiento protésico.
- 35 En otra realización, la afección ósea que está siendo tratada es la enfermedad de Paget.
- 40 En otra realización, la afección ósea que está siendo tratada es la enfermedad ósea oncolítica.
- 45 En otra realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso en la promoción de la curación de fracturas óseas, defectos óseos, defectos craneofaciales, otosclerosis u osteogénesis imperfecta.
- 50 En otra realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso en la modificación por ingeniería genética de tejido óseo. En una realización, las células utilizadas para modificación por ingeniería genética de tejido óseo se tratan con un compuesto de acuerdo con la Fórmula I.
- 55 En otra realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso como medicamento para (i) reducir la pérdida de masa ósea, (ii) aumentar la masa ósea, (iii) mantener la masa ósea y/o (iv) reducir la pérdida de calcio de los huesos en un sujeto en necesidad del mismo. En otra realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso como un medicamento para la curación de fracturas óseas o la reparación de defectos óseos en un mamífero.
- 60 En una realización, la afección ósea que está siendo tratada es la osteoporosis. En una realización, la osteoporosis que se está tratando se selecciona entre el grupo que consiste en: osteoporosis inducida por glucocorticoides, osteoporosis inducida por hipertiroidismo, osteoporosis inducida por inmovilización, osteoporosis inducida por heparina y osteoporosis inducida por inmunosupresión.
- En una realización, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I se administra conjuntamente con un agente que aumenta la masa ósea o previene la pérdida de masa ósea. En una realización, el agente que aumenta la masa ósea es un factor de crecimiento, un mineral, una vitamina, una hormona, una prostaglandina, un inhibidor de 15-lipoxigenasa, una proteína morfogénica ósea u otro miembro de la superfamilia de TGF-beta que aumenta la formación ósea, un inhibidor de la ACE, una proteína Hedgehog, una exametasona, una calcitonina o un fragmento activo de los mismos. En una realización, el agente que previene la pérdida de masa ósea es progestina, estrógeno, combinaciones de estrógeno/progestina, estrona, estriol, 17 α - o 17 β -etilil estradiol, SB242784, polifosfonatos, bisfosfonatos o un fragmento activo de los mismos.
- En una realización de la invención, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I se administra para potenciar la proliferación del epitelio intestinal, para el tratamiento, o como un complemento terapéutico en el tratamiento, de enfermedades que comprometen el epitelio intestinal, incluyendo enfermedades intestinales inflamatorias y enfermedad celíaca.

En otra realización, la invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso en la modificación por ingeniería genética de tejidos de órganos. En una realización, las células utilizadas para la modificación por ingeniería genética de tejidos de órganos se tratan con un compuesto de acuerdo con la Fórmula I.

5 Algunas realizaciones desveladas en la presente memoria incluyen un activador de la vía de señalización de *Wnt*/β-catenina que contiene un núcleo β-dicetona, γ-dicetona o γ-hidroxicetona. Otras realizaciones desveladas en la presente memoria incluyen composiciones farmacéuticas y estos compuestos para su uso en el tratamiento médico.

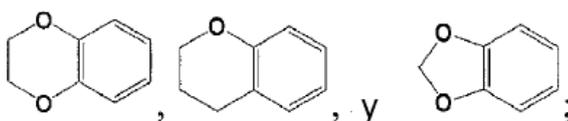
10 Una realización de un activador de la vía de señalización de *Wnt*/β-catenina desvelado en la presente memoria incluye un compuesto que tiene la estructura de Fórmula I:



I

en la que:

15 R¹ es un heteroarilo sustituido o no sustituido, en el que el heteroarilo se selecciona entre el grupo que consiste en:



20 con la condición de que un átomo de carbono del heteroarilo de R¹ está unido al carbonilo;
R² es un arilo sustituido o no sustituido, en el que el arilo se selecciona entre fenilo o naftilo; y
R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son H.

25 Algunas realizaciones incluyen estereoisómeros y sales farmacéuticamente aceptables de un compuesto de Fórmula I.

Algunas realizaciones de la presente invención incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de Fórmula I y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 Otra realización desvelada en la presente memoria incluye una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la Fórmula I y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Algunas realizaciones de la presente invención incluyen métodos para preparar compuestos de Fórmula I.

35 Queda entendido que tanto la descripción general anterior como la siguiente descripción detallada son meramente ejemplares y explicativas y no son restrictivas de la invención, como se reivindica.

Descripción detallada de la invención

40 Se ha descubierto que β-dicetonas, γ-dicetonas y γ-hidroxicetonas son capaces de activar la vía de señalización de *Wnt*/β-catenina. Se ha descubierto que la vía de señalización de *Wnt*/β-catenina desempeña un papel crucial en la diferenciación y el desarrollo de las células nerviosas del sistema nervioso central, formación ósea, desarrollo y regeneración del folículo piloso, y la estimulación, mantenimiento y diferenciación del crecimiento de células madre.

45 La presente invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso en el aumento de la regeneración celular o tisular en un sujeto vertebrado. La invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso en el aumento con éxito de la actividad de células madre embrionarias y/o adulto, células progenitoras, células progenitoras mesenquimales/madre, o células diferenciadas *in vivo* en un sujeto vertebrado. La invención se refiere además a un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso en el aumento de la regeneración celular o tisular en un sujeto vertebrado, y el aumento *in vivo* de una célula madre, población de células progenitoras, o células diferenciadas en el sujeto vertebrado en comparación con las células madre o células progenitoras, o población de células diferenciadas en el sujeto vertebrado antes del tratamiento, para aumentar la

50

regeneración celular o tisular en el sujeto vertebrado. Se proporciona un compuesto para su uso en el aumento de la población de células progenitoras o células madre para reparar o reemplazar tejido dañado en un sujeto vertebrado, en el que la regeneración celular o tisular se produce en hueso, condrocitos/cartilago, músculo, músculo esquelético, músculo cardíaco, células pancreáticas, células endoteliales, células endoteliales vasculares, células adiposas, hígado, piel, tejido conectivo, células madre hematopoyéticas, células neonatales, células sanguíneas del cordón umbilical, células hepáticas fetales, células adultas, células de la médula ósea, células sanguíneas periféricas, células eritroides, células de granulocitos, células de macrófagos, células de granulocitos-macrófagos, linfocitos B, linfocitos T, tipos de colonias de linaje mixto multipotentes, células madre embrionarias, células progenitoras mesenquimales/madre, células progenitoras mesodérmicas/madre, células progenitoras neurales/madre o células nerviosas.

Crecimiento del cabello

Las composiciones que comprenden compuestos de acuerdo con la Fórmula I se pueden utilizar para promover el crecimiento del cabello.

"Promover el crecimiento del cabello" se refiere a mantener, inducir, estimular, acelerar o revitalizar la germinación de cabello.

El compuesto de la presente invención es útil en el tratamiento de la alopecia en mamíferos, y como tal puede utilizarse para promover, aumentar, o ayudar al crecimiento del cabello. Los sujetos pueden ser machos o hembras. El término alopecia se refiere tanto a la ausencia completa de cabello en la piel que exhibe normalmente el crecimiento del cabello, así como a una caída o disminución en la cantidad de cabello. Múltiples tipos y causas de alopecia se reconocen en los seres humanos, incluyendo el patrón de calvicie masculina, caída de cabello inducida por quimioterapia, alopecia congénita y alopecia areata. La expresión tratamiento de la alopecia se refiere tanto al tratamiento de la piel con una total ausencia de crecimiento del cabello, así como al tratamiento de la piel que tiene un crecimiento del cabello reducido o en parches. El tratamiento con éxito da como resultado un mayor número de cabellos.

Los sujetos a tratar de acuerdo con la invención incluyen sujetos humanos, así como otros sujetos mamíferos, tales como perros, gatos, ratones, ratas, cabras, llamas, visones, focas, castores, armiños y ovejas. Estos pueden ser tratados para la caída de cabello o simplemente para mejorar la lana o la producción de piel.

"Tratar la alopecia" se refiere a (i) prevenir la alopecia en un animal que pueda estar predispuesto a la alopecia, (ii) inhibir, retrasar o reducir la alopecia, (iii) promover el crecimiento del cabello y/o (iv) prolongar la fase anágena del ciclo del cabello.

Un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso en la promoción del crecimiento del cabello de acuerdo con la presente invención se caracteriza por aplicar una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I o una sal farmacológicamente aceptable del mismo en la piel de los mamíferos y, en particular, en el cuero cabelludo humano.

Trastorno neurológico

Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden modular el destino celular de las células madre neurales y promover la diferenciación de estos precursores neuronales con neuronas funcionales y células gliales.

Las composiciones que comprenden compuestos de acuerdo con la Fórmula I se pueden utilizar para tratar enfermedades neurodegenerativas.

Los ejemplos no limitantes de enfermedades neurodegenerativas son enfermedad de Alzheimer, esquizofrenia o trastorno esquizoafectivo, trastorno bipolar o trastorno unipolar, depresión, abuso de sustancias, enfermedad neurodegenerativa, autismo o trastorno de espectro autista o un trastorno como resultado del daño neural tal como lesiones cerebrales o lesiones de la médula. La enfermedad neurodegenerativa puede ser por ejemplo, esclerosis lateral amiotrófica (enfermedad de Lou Gehrig) o enfermedad de Parkinson.

Otros ejemplos no limitantes de enfermedades neurodegenerativas son enfermedades oculares tales como degeneración macular relacionada con la edad, edema macular diabético o retinitis pigmentosa.

La invención también proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso en el tratamiento de lesión cerebral como resultado de una lesión traumática o apoplejía.

Otro aspecto de la invención es un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso para potenciar la proliferación y diferenciación de progenitores neurales al poner en contacto una célula progenitora neural con un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en una cantidad eficaz para potenciar la proliferación y diferenciación de progenitores neurales.

En un aspecto, la invención proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso para mejorar la generación de nervios, al poner en contacto un nervio con un compuesto de acuerdo con la Fórmula I en una cantidad eficaz para mejorar la generación de nervios.

5 En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso en el tratamiento de una enfermedad neurodegenerativa en un paciente que requiere un tratamiento o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo como se ha definido anteriormente en la presente memoria.

10 Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden administrarse solos o co-administrarse con compuestos de trabajo por un mecanismo diferente, por ejemplo agentes neuroprotectores. En una realización, los compuestos son compuestos co-administrados con un inhibidor de la acetilcolinesterasa (p. ej., Aricept) para la enfermedad de Alzheimer o L-DOPA para la enfermedad de Parkinson.

15 Formación ósea

Las composiciones que comprenden compuestos de Fórmula I se pueden utilizar para tratar, prevenir y aliviar las afecciones óseas. La presente invención proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso para (i) reducir la pérdida de masa ósea, (ii) aumentar la masa ósea, (iii) mantener la masa ósea y/o (iv) reducir la pérdida de calcio de los huesos. El compuesto podría ser utilizado para tratar, prevenir o retrasar una afección ósea. La invención proporciona además un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso para promover la curación de fracturas óseas o defectos óseos. Cualquiera de los usos mencionados anteriormente puede implicar la administración conjunta de un agente que aumenta la masa ósea o previene la pérdida de masa ósea.

20 La invención también proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso como un medicamento para tratar, prevenir o retrasar una afección ósea.

25 Como se utiliza en la presente memoria, la expresión "afección ósea" incluye cualquier afección en la que es deseable aumentar la masa ósea o densidad ósea y/o prevenir la pérdida de masa ósea o densidad ósea. Una afección ósea incluye cualquier afección que aumenta el número de osteoclastos, aumenta la actividad de osteoclastos, aumenta la resorción ósea, aumenta la fibrosis de la médula o altera el contenido de calcio del hueso.

30 Los ejemplos no limitantes de afecciones óseas incluyen afecciones metabólicas óseas tales como osteodistrofia renal, formas primarias de osteoporosis (p. ej., osteoporosis post-menopáusica y senil), y formas secundarias de osteoporosis que se desarrollan como resultado de un estado de la enfermedad subyacente. Por ejemplo, la osteoporosis puede desarrollarse en pacientes que tienen trastornos endocrinos, tales como hiperparatiroidismo, hipo e hipertiroidismo, hipogonadismo, hipercalcemia debida a neoplasias, tumores de la pituitaria, diabetes tipo I o enfermedad de Addison. Las neoplasias tales como el mieloma múltiple y carcinomatosis también pueden conducir al desarrollo de osteoporosis. Además, los problemas gastrointestinales tales como malnutrición, mala absorción, insuficiencia hepática, y deficiencias de vitamina C o D y la administración crónica de fármacos tales como anticoagulantes, agentes quimioterapéuticos, corticoesteroides, anticonvulsivos, y el alcohol pueden conducir al desarrollo de osteoporosis.

35 Los ejemplos no limitantes de afecciones óseas también incluyen osteonecrosis, osteoartritis, artritis reumatoide, enfermedad de Paget, osteogénesis imperfecta, hiperparatiroidismo crónico, hipertiroidismo, enfermedad de Gorham-Stout, síndrome de McCune-Albright y pérdida ósea de la cresta alveolar.

40 La expresión "afección ósea" incluye, sin limitación, todas las afecciones que resultan en la pérdida ósea, incluyendo, cánceres y tumores (tales como osteosarcoma y mieloma múltiple), enfermedad renal (incluyendo insuficiencia renal aguda, insuficiencia renal crónica, distrofia ósea renal y lesión por reperfusión renal), enfermedad renal, insuficiencia ovárica prematura y otras afecciones.

45 Los trastornos endocrinos, deficiencias de vitaminas y las infecciones virales también pueden conducir al desarrollo de afecciones óseas que pueden ser tratadas con los métodos de la invención. Un ejemplo de una afección ósea causada por un trastorno nutricional es osteomalacia, un trastorno nutricional causado por una deficiencia de vitamina D y calcio. Se conoce como "raquitismo" en los niños, y "osteomalacia" en los adultos. Se caracteriza por un ablandamiento de los huesos (debido a una mineralización deteriorada, con un exceso de acumulación de osteoides), dolor, sensibilidad, pérdida y debilidad de masa muscular, anorexia y pérdida de peso general. Puede ser consecuencia de la malnutrición, embarazos y lactancia repetidos (agotamiento o depleción de vitamina D y reservas de calcio), y resistencia a la vitamina D.

50 Las afecciones óseas incluyen afecciones resultantes del tratamiento de un sujeto con los fármacos, por ejemplo, la osteopenia resultante del tratamiento con ciclosporina A o FK506.

55 Las afecciones óseas también incluyen fracturas óseas, traumatismo óseo, afecciones asociadas con la cirugía ósea post-traumática, cirugía de la articulación post-protésica, cirugía ósea post-plástica, cirugía post-dental, quimioterapia ósea, cirugía post-dental y radioterapia ósea. Las fracturas incluyen todos los tipos de fracturas

microscópicas y macroscópicas. Ejemplos de fracturas incluyen fractura por avulsión, fractura conminuta, fractura transversal, fractura oblicua, fractura espiral, fractura segmentaria, fractura desplazada, fractura impactado, fractura en tallo verde, fractura de toro, fractura por fatiga, fractura intra-articular (fractura epifisaria), fractura cerrada (fractura simple), fractura abierta (fractura compuesta) y fractura oculta.

Otros ejemplos no limitantes de afecciones óseas incluyen deformación ósea, deformación espinal, aflojamiento de la prótesis, displasia ósea, escoliosis, enfermedad periodontal y defectos, reparación de los dientes y osteítis fibrosa.

La invención también proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso para tratar a un sujeto, en el que el sujeto está en necesidad de una reparación ósea tras la cirugía, tal como una reparación cráneo-maxilofacial tras la extirpación de un tumor, reconstrucción ósea quirúrgica tras una lesión traumática, reparación de anomalías hereditarias u otras físicas, y promoción de la cicatrización ósea en cirugía plástica.

La invención también proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso para tratar a un sujeto, en el que el sujeto está en necesidad de una reparación ósea después de recibir un implante (incluyendo reemplazos articulares e implantes dentales), una prótesis o un injerto de hueso.

La invención también proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso para tratar a un sujeto, en el que el sujeto: a) está en necesidad de un aumento de la densidad ósea o la curación del hueso; b) se ha sometido o está siendo sometido actualmente a terapia con corticosteroides, diálisis, quimioterapia para la pérdida ósea post-menopáusica, terapia de radiación para la terapia contra el cáncer o reemplazo hormonal; c) se inmoviliza o se somete a un reposo en cama extendido debido a una lesión ósea; d) padece alcoholismo, diabetes, hiperprolactinemia, anorexia nerviosa, amenorrea primaria y secundaria u ooforectomía; e) padece insuficiencia renal; f) tiene 50 años o más; o g) es una mujer.

La invención también proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso para tratar a un sujeto, en el que el sujeto está afectado por una enfermedad seleccionada entre calcificación arterial, espondilitis anquilosante, osificación del ligamento longitudinal posterior, miositis osificante, hiperostosis esquelética idiopática difusa, tendinitis calcificada, enfermedad del manguito rotador de los hombros, espolones óseos, degeneración del cartílago o ligamento debido a la deposición de cristales de hidroxapatita y condrocalcinosis.

Por la expresión "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I se entiende una cantidad suficiente para obtener el efecto fisiológico deseado, p. ej., activación de los osteoblastos, aumento en el número de osteoblastos, aumento de la formación ósea, una disminución en el número de osteoclastos o la desactivación de los osteoclastos. Una cantidad eficaz de un activador de la vía de señalización de *Wnt*/ β -catenina está determinada por el cuidador en cada caso sobre la base de factores considerados normalmente por un experto en la materia para determinar las dosificaciones apropiadas, incluyendo la edad, el sexo, y el peso del sujeto a tratar, la afección a tratar, y la gravedad de la condición médica que se está tratando.

La invención también proporciona un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para su uso para tratar a un sujeto junto con un agente que aumenta la masa ósea o previene la pérdida de masa ósea. En una realización, el agente que aumenta la masa ósea es un factor de crecimiento, un mineral, una vitamina, una hormona, una prostaglandina, un inhibidor de 15-lipoxigenasa, una proteína morfogénica ósea u otro miembro de la superfamilia de TGF-beta que aumenta la formación ósea, un inhibidor de la ACE, una proteína Hedgehog, exametasona, calcitonina, o un fragmento activo de los mismos. En una realización, el agente que previene la pérdida de masa ósea es progesterona, estrógeno, combinaciones de estrógeno/progesterona, estrona, estriol, 17 α - o 17 β -etinil estradiol, SB242784, polifosfonatos, bisfosfonatos o un fragmento activo de los mismos.

Enfermedades intestinales

Los compuestos de acuerdo con la Fórmula I son también administrados para el tratamiento de la inflamación gastrointestinal. "Inflamación gastrointestinal", como se utiliza en la presente invención, se refiere a la inflamación de la capa mucosa del sistema digestivo y abarca afecciones inflamatorias agudas y crónicas. La inflamación aguda se caracteriza en general por un periodo de inicio corto y por la infiltración o afluencia de neutrófilos.

"Inflamación gastrointestinal crónica" se refiere a la inflamación de la mucosa del sistema digestivo que se caracteriza por un periodo de inicio relativamente largo, es de larga duración (p. ej., de varios días, semanas, meses o años y hasta la vida del sujeto), y se asocia con infiltración o afluencia de células mononucleares y puede asociarse adicionalmente con periodos de remisión espontánea y aparición espontánea. De este modo, puede esperarse que los sujetos con inflamación gastrointestinal crónica requieran un largo periodo de supervisión, observación o cuidado. "Afecciones inflamatorias gastrointestinales crónicas" (también referidas como "enfermedades inflamatorias gastrointestinales crónicas") que tienen tal inflamación crónica incluyen, pero no se limitan necesariamente a, enfermedad inflamatoria intestinal (EII), colitis inducida por agresiones ambientales (p. ej., inflamación gastrointestinal (p. ej., colitis) causada por o asociada con (p. ej., como un efecto secundario) un régimen terapéutico, tal como la administración de la quimioterapia, la radioterapia, y similares), colitis en afecciones tales como la enfermedad granulomatosa crónica, enfermedad celíaca, esprue celíaco (una enfermedad hereditaria

en la que el revestimiento intestinal se inflama en respuesta a la ingestión de una proteína conocida como gluten), alergias alimentarias, gastritis, gastritis infecciosa o enterocolitis (p. ej., gastritis activa crónica por infección por *Helicobacter pylori*) y otras formas de inflamación gastrointestinal causadas por un agente infeccioso y otras afecciones similares.

5 Como se utiliza en la presente memoria, "enfermedad inflamatoria intestinal" o "EII" se refiere a cualquiera de una variedad de enfermedades caracterizadas por la inflamación de la totalidad o parte de los intestinos. Los ejemplos de enfermedad inflamatoria del intestino incluyen, entre otros, enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa. La referencia a EII a lo largo de la memoria descriptiva se refiere a menudo en la memoria descriptiva como ejemplo de afecciones inflamatorias gastrointestinales, y no tiene por objeto ser limitante.

10 Los compuestos de acuerdo con la Fórmula I pueden administrarse a un sujeto antes de la aparición de los síntomas más graves (p. ej., antes de la aparición de un ataque inflamatorio agudo), o después de la aparición de síntomas agudos o crónicos (p. ej., después de la aparición de un ataque inflamatorio agudo). Como tal, los agentes pueden administrarse en cualquier momento, y se pueden administrar en cualquier intervalo. En una realización, los compuestos de acuerdo con la Fórmula I se administran aproximadamente 8 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 2 días, aproximadamente 4 días, aproximadamente 8 días, aproximadamente 16 días, aproximadamente 30 días o 1 mes, aproximadamente 2 meses, aproximadamente 4 meses, aproximadamente 8 meses, o aproximadamente 1 año después de la aparición inicial de los síntomas asociados con la inflamación gastrointestinal y/o después del diagnóstico de la inflamación gastrointestinal en el sujeto.

15 Cuando se administran dosis múltiples, las dosis posteriores se administran en un plazo de aproximadamente 16 semanas, aproximadamente 12 semanas, aproximadamente 8 semanas, aproximadamente 6 semanas, aproximadamente 4 semanas, aproximadamente 2 semanas, aproximadamente 1 semana, aproximadamente 5 días, aproximadamente 72 horas, aproximadamente 48 horas, aproximadamente 24 horas, aproximadamente 12 horas, aproximadamente 8 horas, aproximadamente 4 horas, o aproximadamente 2 horas o menos de la dosis anterior. En una realización, ISS se administran en intervalos comprendidos entre al menos cada dos semanas a cada cuatro semanas (p. ej., intervalos de un mes) a fin de mantener el máximo efecto terapéutico deseado (p. ej., para proporcionar un mantenimiento de alivio de los síntomas asociados a EB).

Medicina regenerativa

25 De acuerdo con la presente invención, pueden proporcionarse células somáticas que son capaces de servir como una estructura similar a un órgano primitivo compuesta de una pluralidad de tipos de tipos de células somáticas.

30 Las células somáticas a las que se hace referencia en la presente invención se refieren a células que han alcanzado la diferenciación en células que componen los diversos órganos del cuerpo, y se refieren a células que son opuestas a las células madre no diferenciadas. La presente invención se caracteriza por el uso de dos o más células somáticas, y preferentemente consisten en varias combinaciones de las mismas, tales como una combinación de una estirpe celular epitelial y células mesenquimales, una combinación de células endoteliales y células mesenquimales, o una combinación de células epiteliales y células mesenquimales.

35 No hay limitaciones particulares sobre los órganos capaces de ser formados por las células somáticas, como se reivindica en la presente invención, ejemplos de los cuales incluyen diversos órganos tales como folículo piloso, pulmón, riñón, hígado, páncreas, bazo, corazón, vesícula biliar, intestino delgado, colon, intestino grueso, articulaciones, huesos, dientes, vasos sanguíneos, conductos linfáticos, córnea, cartílago, órgano olfativo u órgano auditivo.

40 Los diversos mamíferos pueden utilizarse sin limitación como el origen de las células como se reivindica en la presente invención correspondiente a la finalidad del mismo, ejemplos de los cuales incluyen chimpancés, otros primates, animales domésticos tales como perros o gatos, animales de granja tales como vacas, cerdos, caballos, ovejas o cabras, animales de laboratorio tales como conejos, ratas, ratones o cobayas, y más preferentemente ratones desnudos, ratones SCID o ratas desnudas. Además, aunque las combinaciones de los mismos pueden ser combinaciones homogéneas o combinaciones heterogéneas, son preferibles combinaciones homogéneas.

45 La presente invención se caracteriza por la adición de un activador de la vía de señalización de *Wnt*/β-catenina de acuerdo con la Fórmula I a una mezcla de tipos de células somáticas diferenciadas como se ha descrito anteriormente seguido de un cultivo de las mismas. La señalización de *Wnt* se refiere a una serie de acciones que demuestran la función de factores de transcripción mediante la promoción de la migración nuclear de β-catenina.

50 Estas señales se originan a partir de la interacción celular que incluye, por ejemplo, una serie de procesos en los que una proteína se denomina *Wnt3A* secretada a partir de ciertas células adicionales que actúan sobre otras células que causan la migración nuclear de β-catenina intracelular, que actúa como un factor de transcripción. Esta serie de procesos dan lugar al fenómeno inicial de la construcción de órganos en el ejemplo de la interacción epitelio-mesenquimal. La vía de señalización de *Wnt*/β-catenina se conoce por controlar la proliferación y

diferenciación celular, la formación de órganos y diversas funciones celulares tales como la migración celular durante el desarrollo inicial. Aunque se utiliza la señalización de *Wnt* durante el cultivo de células ES con el fin de inhibir la diferenciación, debido a su función de mantener un estado no diferenciado, su utilización y los efectos durante el cultivo de las células somáticas son completamente desconocidos.

Otra característica de la presente invención es el sometimiento de la mezcla de tipos de células somáticas diferenciadas, al cual se ha añadido un compuesto de acuerdo con la Fórmula I para el cultivo sin placas de contacto. El cultivo sin placas de contacto se refiere a un método de cultivo de células en una interfaz que tiene una superficie esférica a fin de no permitir la adhesión de células adherentes a la placa. Un ejemplo de cultivo sin placas de contacto es un método de la gota colgante. El método de la gota colgante se refiere a adherir una gota del medio de cultivo que contiene células cultivadas en el interior de la tapa superior de una placa de cultivo, cerrando cuidadosamente la tapa para que el medio de cultivo no gotee o se reduzca, y el cultivo de células dentro del medio de cultivo a cultivar en forma de una gota invertida debido a la tensión superficial. Como resultado del cultivo de esta manera, los efectos sobre las células atribuibles a ponerse en contacto con una superficie plana como en el caso del cultivo de placa pueden ser minimizados. Otros ejemplos de métodos de cultivo sin placas de contacto incluyen un método de formación que utiliza una placa de cultivo celular semi-esférica que ha estado tratada en la superficie con antelación para evitar la adhesión de células (por ejemplo, "Spheroid" comercialmente disponible de Sumitomo Bakelite) (referido como el método de formación esferoide), y un método de suspensión en el que las células se agregan en un estado suspendido mediante el cultivo en un medio de nitrocelulosa.

En algunas realizaciones, se proporcionan composiciones farmacéuticas que son eficaces para el tratamiento de una enfermedad de un animal, p. ej., un mamífero, causada por la activación patológica o mutaciones de la vía de *Wnt*. La composición incluye un vehículo farmacéuticamente aceptable y un activador de la vía de *Wnt* como se describe en la presente memoria.

Definiciones

A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado comúnmente entendido por un experto en la materia a la que pertenece esta divulgación. En el caso de que haya una pluralidad de definiciones para un término en la presente memoria, aquellos en esta sección prevalecerán a menos que se indique lo contrario.

En la presente memoria descriptiva y en las reivindicaciones, los siguientes términos tienen los significados que se definen. Como se utiliza en la presente memoria, "alquilo" significa un grupo químico de cadena ramificada o lineal que contiene sólo carbono e hidrógeno, tal como metilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo y pentilo. Los grupos alquilo pueden estar no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes, p. ej., halógeno, alcoxi, aciloxi, amino, amido, ciano, nitro, hidroxilo, mercapto, carboxi, carbonilo, benciloxi, arilo, heteroarilo, u otra funcionalidad que puede ser convenientemente bloqueada, si es necesario para los fines de la invención, con un grupo protector. Los grupos alquilo pueden ser saturados o no saturados (p. ej., subunidades que contienen $-C=C-$ o $-C\equiv C-$), en una o varias posiciones. Normalmente, los grupos alquilo comprenderán de 1 a 9 átomos de carbono, preferentemente de 1 a 6, y más preferentemente de 1 a 4 átomos de carbono.

Como se utiliza en la presente memoria, "carbociclilo" significa un sistema de anillo cíclico que contiene solamente átomos de carbono en la cadena principal del sistema de anillo, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y ciclohexenilo. Los carbociclicos pueden incluir múltiples anillos condensados. Los carbociclicos pueden tener cualquier grado de saturación a condición de que al menos un anillo en el sistema de anillo no sea aromático. Los grupos carbociclilo pueden ser no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes, p. ej., halógeno, alcoxi, aciloxi, amino, amido, ciano, nitro, hidroxilo, mercapto, carboxi, carbonilo, benciloxi, arilo, heteroarilo, u otra funcionalidad que puede ser convenientemente bloqueada, si es necesario para los fines de la invención, con un grupo protector. Normalmente, los grupos carbociclilo comprenderán de 3 a 10 átomos de carbono, preferentemente de 3 a 6.

Como se utiliza en la presente memoria, "alquilo inferior" significa un subconjunto de alquilo, y por lo tanto es un sustituyente hidrocarburo, que es lineal, o ramificado. Alquilos inferiores preferidos son de 1 a aproximadamente 4 átomos de carbono, y pueden ser ramificados o lineales. Los ejemplos de alquilo inferior incluyen butilo, propilo, isopropilo, etilo y metilo. Del mismo modo, los radicales que utilizan la terminología "inferior" se refieren a radicales preferentemente con 1 a aproximadamente 4 carbonos en la porción alquilo del radical.

Como se utiliza en la presente memoria, "amido" significa un grupo H-CON- o alquilo-CON-, carbociclilo-CON-, arilo-CON-, heteroarilo-CON- o heterociclilo-CON, en el que el grupo alquilo, carbociclilo, arilo o heterociclilo es como se describe en la presente memoria.

Como se utiliza en la presente memoria, "arilo" significa un radical aromático que tiene un solo anillo (p. ej., fenilo) o múltiples anillos condensados (p. ej., naftilo o antrilo) con solamente átomos de carbono presentes en la cadena principal del anillo. Los grupos arilo no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes, p. ej., amino, ciano, hidroxilo, alquilo inferior, haloalquilo, alcoxi, nitro, halo, mercapto, y otros sustituyentes. Un arilo carbocíclico

preferido es fenilo.

Como se utiliza en la presente memoria, el término "heteroarilo" significa un radical aromático que tiene uno o más heteroátomos (p. ej., N, O o S) en la cadena principal del anillo y puede incluir un único anillo (p. ej., piridina) o múltiples anillos condensados (p. ej., quinolina). Los grupos heteroarilo pueden estar no sustituidos o sustituidos con uno o más sustituyentes, p. ej., amino, ciano, hidroxilo, alquilo inferior, haloalquilo, alcoxi, nitro, halo, mercapto, y otros sustituyentes. Ejemplos de heteroarilo incluyen tienilo, pirridilo, furilo, oxazolilo, oxadiazolilo, pirrolilo, imidazolilo, triazolilo, tiodiazolilo, pirazolilo, isoxazolilo, tiadiazolilo, piranilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, triazinilo, tiazolilo y otros.

En estas definiciones se contempla claramente que la sustitución en los anillos arilo y heteroarilo está dentro del alcance de ciertas realizaciones. Cuando se produce la sustitución, el radical se denomina arilo sustituido o heteroarilo sustituido. Preferentemente uno a tres y más preferentemente uno o dos sustituyentes se producen en el anillo de arilo. Aunque muchos sustituyentes serán útiles, los sustituyentes preferidos incluyen aquellos que se encuentran comúnmente en los compuestos arilo, tales como alquilo, cicloalquilo, hidroxi, alcoxi, ciano, halo, haloalquilo, mercapto y similares.

Como se utiliza en la presente memoria, "amida" incluye tanto RNR'CO- (en el caso de R = alquilo, alcamincarbonilo-) y RCONR'- (en el caso de R = alquilo, alquilcarbonilamino-).

Como se utiliza en la presente memoria, el término "éster" incluye tanto ROCO- (en el caso de R = alquilo, alcoxicarbonilo) y RCOO- (en el caso de R = alquilo, alquilcarboniloxi-).

Como se utiliza en la presente memoria, "acilo" significa un grupo H-CO- o alquil-CO-, carbocicliil-CO-, aril-CO-, heteroaril-CO- o heterocicliil-CO- en el que el grupo alquilo, carbocicliilo, arilo o heterocicliilo es como se describe en la presente memoria. Grupos acilo, alquilo a modo de ejemplo incluyen formilo, acetilo, propanoilo, 2-metilpropanoilo, t-butilacetilo, butanoilo y palmitoilo.

Como se utiliza en la presente memoria, "halo o haluro" es un átomo de cloro, bromo, flúor o yodo radical. Cloro, bromo y fluoro son los haluros preferidos. El término "halo" también contempla términos denominados a veces como "halógeno" o "haluro".

Como se utiliza en la presente memoria, "haloalquilo" significa un sustituyente hidrocarburo, que es alquilo, alqueno o alquino lineal o ramificado o cíclico sustituido con átomo o átomos de cloro, bromo, flúor o yodo. Los más preferidos de estos son fluoroalquilos, en los que uno o más de los átomos de hidrógeno han sido sustituidos con flúor. Los haloalquilos preferidos son de 1 a aproximadamente 3 carbonos de longitud, los haloalquilos más preferidos son de 1 a aproximadamente 2 átomos de carbono, y los más preferidos son de 1 carbono de longitud. El experto en la materia reconocerá entonces que, como se utiliza en la presente memoria, "haloalquilenilo" significa una variante dirradical de haloalquilo, tales dirradicales pueden actuar como espaciadores entre radicales, otros átomos, o entre el anillo parental y otro grupo funcional.

Como se utiliza en la presente memoria, "heterocicliilo" significa un sistema de anillo cíclico que comprende al menos un heteroátomo en la estructura principal del sistema de anillos. Los heterocicliilos pueden incluir múltiples anillos condensados. Los heterocicliilos pueden tener cualquier grado de saturación a condición de que al menos un anillo en el sistema de anillo no sea aromático. Los heterocicliilos pueden estar sustituidos o no sustituidos con uno o más sustituyentes, p. ej., halógeno, alcoxi, aciloxi, amino, amido, ciano, nitro, hidroxilo, mercapto, carboxi, carbonilo, benciloxi, arilo, heteroarilo, y otros sustituyentes, y están unidos a otros grupos a través de cualquier valencia disponible, preferentemente cualquier carbono o nitrógeno disponible. Los heterociclos más preferidos son de 5-7 miembros. En heterociclos monocíclicos de seis miembros, el heteroátomo o heteroátomos se seleccionan entre uno hasta tres de O, N o S, y en el que cuando el heterociclo es de cinco miembros, preferentemente tiene uno o dos heteroátomos seleccionados entre O, N, o S.

Como se utiliza en la presente memoria, "amino sustituido" significa un radical amino que está sustituido por uno o dos grupos alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterocicliilo, en el que el alquilo, arilo, heteroarilo o heterocicliilo se han definido como anteriormente.

Como se utiliza en la presente memoria, "tiol sustituido" significa un grupo RS- en el que R es un grupo alquilo, arilo, heteroarilo o heterocicliilo, en el que el alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo o heterocicliilo se han definido como anteriormente.

Como se utiliza en la presente memoria, "sulfonilo" significa un grupo alquilSO₂, arilSO₂, heteroarilSO₂, carbocicliilSO₂ o heterocicliil-SO₂ en el que el alquilo, carbocicliilo, arilo, heteroarilo o heterocicliilo se han definido como anteriormente.

Como se utiliza en la presente memoria, "sulfamido" significa un grupo alquil-N-S(O)₂N-, aril-NS(O)₂N-, heteroaril-NS(O)₂N-, carbocicliil-NS(O)₂N- o heterocicliil-NS(O)₂N-, en el que el grupo alquilo, carbocicliilo, arilo, heteroarilo o

heterociclilo se describe según la presente memoria.

Como se utiliza en la presente memoria, "sulfonamido" significa un grupo alquil-S(O)₂N-, aril-S(O)₂N-, heteroaril-S(O)₂N-, carbociclil-S(O)₂N- o heterociclil-S(O)₂N- en el que el alquilo, carbociclilo, arilo, heteroarilo o heterociclilo es como se describe en la presente memoria.

Como se utiliza en la presente memoria, "ureido" significa un grupo alquil-NCON-, aril-NCON-, heteroaril-NCON-, carbociclil-NCON- o heterociclil-NCON-, en el que el grupo alquilo, carbociclilo, arilo, heteroarilo o heterociclilo es como se describe en la presente memoria.

Como se utiliza en la presente memoria, cuando se indica que dos grupos se "ligan" o "unen" para formar un "anillo", queda entendido que se forma un enlace entre los dos grupos y puede implicar la sustitución de un átomo de hidrógeno en uno o ambos grupos con el enlace, formando así un anillo carbociclilo, heterociclilo, arilo o heteroarilo.

El experto en la materia reconocerá que tales anillos pueden y se forman fácilmente mediante reacciones químicas rutinarias, y se encuentra dentro del ámbito de competencia del experto en la materia para concebir tales anillos y los métodos para su formación. Los anillos preferidos son aquellos que tienen 3-7 miembros, más preferentemente 5 o 6 miembros. Como se utiliza en la presente memoria, el término "anillo" o "anillos" cuando se forman por la combinación de dos radicales se refiere a anillos heterocíclicos, carbocíclicos, arilos o heteroarilos.

El experto en la materia reconocerá que algunas estructuras descritas en la presente memoria pueden ser formas de resonancia o tautómeros de compuestos que pueden ser bastante representados por otras estructuras químicas, incluso cuando cinéticamente, el experto reconoce que tales estructuras son sólo una porción muy pequeña de una muestra de tal compuesto o compuestos. Tales compuestos se contemplan claramente dentro del alcance de la presente invención, aunque tales formas de resonancia o tautómeros no están representadas en la presente memoria.

Los compuestos proporcionados en la presente memoria pueden abarcar varias formas estereoquímicas. Los compuestos también abarcan los diastereómeros, así como isómeros ópticos, p. ej., mezclas de enantiómeros incluyendo mezclas racémicas, así como enantiómeros y diastereómeros individuales, que surgen como consecuencia de la asimetría estructural en ciertos compuestos. La separación de los isómeros individuales o síntesis selectiva de los isómeros individuales se logra mediante la aplicación de diversos métodos que son bien conocidos por los expertos en la materia. A menos que se indique lo contrario, cuando un compuesto desvelado se nombra o se representa por una estructura sin especificar la estereoquímica y tiene uno o más centros quirales, queda entendido que representa todos los posibles estereoisómeros del compuesto.

El término "administración" o "administrar" se refiere a un método de dar una dosificación de un compuesto o composición farmacéutica a un vertebrado o invertebrado, incluyendo un mamífero, un ave, un pez, o un anfibio, en el que el método es, p. ej., intrarespiratorio, tópico, oral, intravenoso, intraperitoneal, intramuscular, bucal, rectal, sublingual. El método preferido de administración puede variar dependiendo de varios factores, p. ej., los componentes de la composición farmacéutica, el sitio de la enfermedad, la enfermedad implicada y la gravedad de la enfermedad.

Un "diagnóstico", como se utiliza en la presente memoria es un compuesto, método, sistema o dispositivo que ayuda en la identificación y caracterización de un estado de salud o enfermedad. El diagnóstico puede utilizarse en ensayos convencionales como se conoce en la técnica.

El término "mamífero" se utiliza en su sentido biológico habitual. De este modo, incluye específicamente seres humanos, vacas, caballos, monos, perros y gatos, pero también incluye muchas otras especies.

El término "vehículo farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye cualquier y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares. El uso de tales medios y agentes para sustancias farmacéuticamente activas es bien conocido en la técnica. Excepto en la medida en que cualquier medio o agente convencional sea incompatible con el principio activo, se contempla su uso en las composiciones terapéuticas. Los principios activos suplementarios también se pueden incorporar en las composiciones. Además, diversos adyuvantes tales como los que se utilizan comúnmente en la técnica pueden ser incluidos. Estos y otros tales compuestos se describen en la literatura, p. ej., en *Merck Index*, Merck & Company, Rahway, NJ. Se describen consideraciones para la inclusión de diversos componentes en composiciones farmacéuticas, p. ej., en Gilman *et al.* (Eds.) (2006); Goodman y Gilman's: *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 11 Ed., The McGraw-Hill Companies.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a sales que retienen la eficacia biológica y las propiedades de los compuestos de las realizaciones preferidas y, que no son biológicamente o de otra manera indeseables. En muchos casos, los compuestos de las realizaciones preferidas son capaces de formar sales de ácido y/o de base en virtud de la presencia de grupos amino y/o carboxilo o grupos similares a los mismos. Las sales

de adición de ácido farmacéuticamente aceptables se pueden formar con ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos. Los ácidos inorgánicos a partir de los cuales las sales se pueden derivar incluyen, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, y similares. Los ácidos orgánicos a partir de los cuales las sales pueden derivarse incluyen, por ejemplo, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, y similares. Las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables se pueden formar con bases inorgánicas y orgánicas. Las bases inorgánicas a partir de las cuales las sales se pueden derivar incluyen, por ejemplo, sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, cinc, cobre, manganeso, aluminio, y similares; particularmente preferidas son las sales de amonio, potasio, sodio, calcio y magnesio. Las bases orgánicas a partir de las cuales las sales se pueden derivar incluyen, por ejemplo, aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas de origen natural, aminas cíclicas, resinas básicas de intercambio iónico, y similares, específicamente tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, y etanolamina. Muchas de tales sales son conocidas en la técnica, como se describe en la publicación de patente mundial 87/05297, Johnston *et al.*, publicada el 11 de septiembre de 1987.

"Solvato" se refiere al compuesto formado por la interacción de un disolvente y un inhibidor de la vía de Wnt, un metabolito, o sal del mismo. Los solvatos adecuados son solvatos farmacéuticamente aceptables, incluyendo hidratos.

"Sujeto", como se utiliza en la presente memoria, significa un ser humano o un mamífero no humano, p. ej., un perro, un gato, un ratón, una rata, una vaca, una oveja, un cerdo, una cabra, un primate no humano o un pájaro, p. ej., un pollo, así como cualquier otro vertebrado o invertebrado.

Por "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad farmacéuticamente eficaz" es normalmente aquello que es suficiente para lograr el efecto deseado y puede variar de acuerdo con la naturaleza y gravedad del estado de la enfermedad, y la potencia del compuesto. Se apreciará que diferentes concentraciones se puedan emplear para la profilaxis en lugar del tratamiento de una enfermedad activa. Esta cantidad puede depender aún más de la altura, peso, sexo, edad e historial médico del paciente.

Un efecto terapéutico alivia, en cierta medida, uno o más de los síntomas de la enfermedad, e incluye la curación de una enfermedad. "Curar" significa que los síntomas de la enfermedad activa se eliminan. Sin embargo, determinados efectos a largo plazo o permanentes de la enfermedad pueden existir incluso tras obtener una cura (tal como un daño extenso del tejido).

"Trato", "tratamiento" o "tratar", como se utiliza en la presente memoria, se refiere a la administración de una composición farmacéutica para fines terapéuticos. La expresión "tratamiento terapéutico" se refiere a la administración del tratamiento a un paciente que ya padece una enfermedad que causa así un efecto terapéuticamente beneficioso, tal como mejorar los síntomas existentes, prevenir los síntomas adicionales, mejorar o prevenir las causas metabólicas subyacentes de los síntomas, posponer o prevenir un mayor desarrollo de un trastorno y/o reducir la gravedad de los síntomas que serán desarrollados o se espera que se desarrollen.

La expresión "liberador de fármaco" se entiende que se refiere a cualquier y todos los mecanismos, p. ej., difusión, migración, permeación, y/o desorción por el que el fármaco o fármacos incorporados en el material liberador de fármaco pasan de ahí con el tiempo en el tejido corporal circundante.

La expresión "material liberador de fármaco" se entenderá en la presente memoria como el significado de cualquier material natural, sintético o semi-sintético capaz de adquirir y retener una forma o configuración deseada y en el que uno o más fármacos se pueden incorporar y a partir del cual el fármaco o fármacos incorporados son capaces de eluirse con el tiempo.

La expresión "fármaco eluible" se entiende que significa cualquier fármaco o combinación de fármacos que tienen la capacidad de pasar con el tiempo a partir del material liberador de fármaco en el que se incorpora en las zonas circundantes del cuerpo.

Las siguientes abreviaturas tienen los significados indicados:

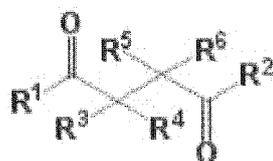
- A β = amiloide beta
- ACE = enzima convertidora de angiotensina I
- EA = enfermedad de Alzheimer
- ELA = esclerosis lateral amiotrófica
- DMRE = degeneración macular relacionada con la edad
- PAC = poliposis adenomatosa coli
- β -TrCP = proteína que contiene una repetición de β -transducina
- CD44 = glicoproteína de la superficie celular
- CK1, 2 = caseína quinasa 1 y 2

- DHT = dihidrotestosterona
 Dkk = dickkopf
 EMD = edema macular diabético
 Dsh/Dvl = disheveled
 5 EphB2 = receptor 2 tipo B de efrina
 células ES = células madre embrionarias
 DFT = demencia frontotemporal
 Fzd = frizzled
 10 GBP = proteína de unión a GSK-3
 GI = gastrointestinal
 GPCR = receptor acoplado a la proteína G
 GSK-3 = glicógeno sintasa quinasa-3
 CHC = carcinoma hepatocelular
 15 EII = enfermedad inflamatoria intestinal
 Kr2 = dominio kringle 2
 L-DOPA = L-3,4-dihidroxifenilalanina
 Lef = factor potenciador de linfoides
 LRP = proteína relacionada con el receptor de lipoproteínas de baja densidad
 20 MMTV = virus de tumor mamario de ratón
 EP = enfermedad de Parkinson
 PKC = proteína quinasa C
 PI-3 quinasa = fosfatidilinositol-3 quinasa
 RAPP = receptores activados por proliferadores de peroxisoma
 25 PTEN = homólogo de fosfatasa y tensina
 RP = retinitis pigmentosa
 SCID = inmunodeficiencia severa combinada
 SOD1 = proteína superóxido dismutasa
 SOST = esclerostina
 30 sFRP = proteína relacionada con frizzled secretada
 TCF = factor de linfocitos T
 TGF = factor de crecimiento transformante
 CU = colitis ulcerosa
 Wg = sin alas
 35 Wnt = miembro de la familia del sitio de integración MMTV tipo sin alas

Compuestos

Los compuestos y composiciones descritos en la presente memoria son capaces de activar la vía de señalización de *Wnt*/β-catenina. Se ha descubierto que la vía de señalización de *Wnt*/β-catenina desempeña un papel crucial en la diferenciación y el desarrollo de las células nerviosas del sistema nervioso central, formación ósea, desarrollo y regeneración del folículo piloso, y estimulación del crecimiento, mantenimiento y diferenciación de células madre.

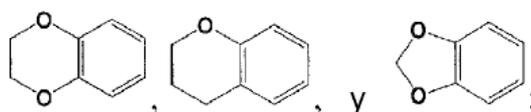
Algunas realizaciones de la presente invención incluyen compuestos, sales, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos de fórmula (I):



I

En algunas realizaciones, R¹ es un heteroarilo sustituido o no sustituido, en el que el heteroarilo se selecciona entre el grupo que consiste en:

50

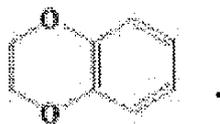


con la condición de que un átomo de carbono del heteroarilo de R¹ está unido al carbonilo.

En algunas realizaciones, R^2 es un arilo sustituido o no sustituido, en el que el arilo se selecciona entre fenilo o naftilo.

En algunas realizaciones, R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son H.

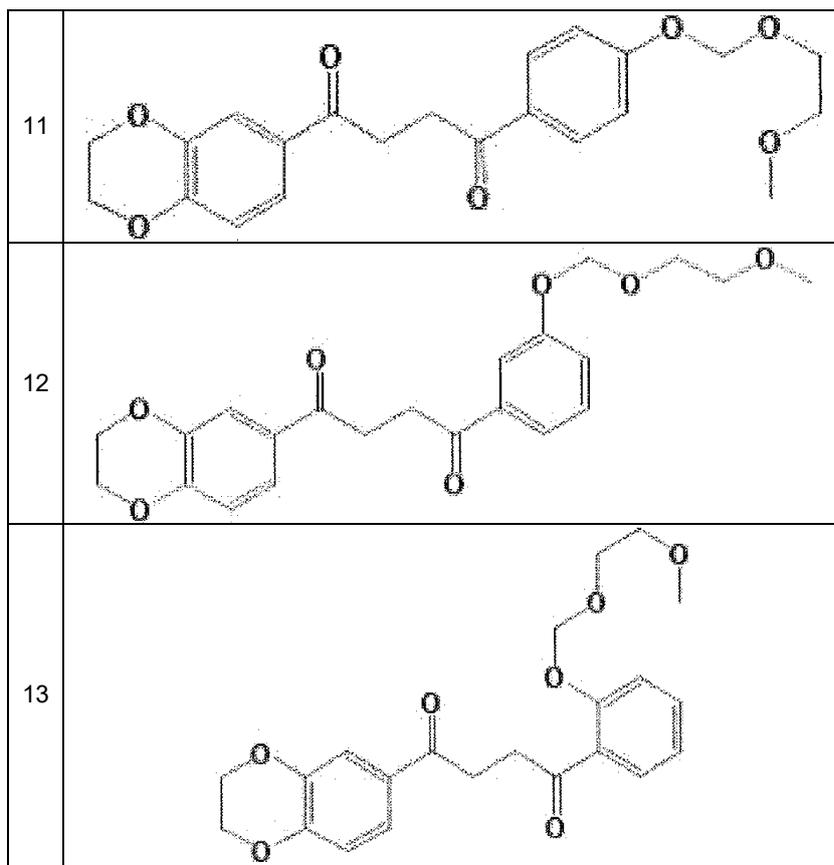
5 En realizaciones más específicas, R^1 es



10 Los compuestos ilustrativos de Fórmula I se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1.

1	
4	
6	
7	
8	
10	



Preparación de compuestos

- 5 Los materiales de partida utilizados en la preparación de los compuestos de la invención son conocidos, fabricados por métodos conocidos, o están disponibles comercialmente. Será evidente para el experto en la materia que los métodos para preparar precursores y la funcionalidad relacionada con los compuestos reivindicados en la presente memoria se describan generalmente en la literatura. El experto en la materia dada la literatura y la presente divulgación está bien equipado para preparar cualquiera de los compuestos.
- 10 Se reconoce que el experto en la materia de la química orgánica puede llevar a cabo fácilmente manipulaciones sin más dirección, es decir, que está bien dentro del alcance y la práctica del experto en la materia llevar a cabo estas manipulaciones. Esto incluye la reducción de compuestos de carbonilo a sus correspondientes alcoholes, oxidaciones, acilaciones, sustituciones aromáticas, tanto electrofílica como nucleofílica, eterificaciones, esterificación y saponificación y similares. Estas manipulaciones se discuten en textos convencionales tales como *March's*
- 15 *Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, and Structure* 6ª edición, John Wiley & Sons (2007), Carey y Sundberg, *Advanced Organic Chemistry* 5ª Ed, Springer (2007), *Comprehensive Organic Transformations: A Guide to Functional Group Transformations*, 2ª Ed, John Wiley & Sons (1999) y similares.
- 20 El experto en la materia apreciará fácilmente que ciertas reacciones se lleven a cabo mejor cuando otra funcionalidad se enmascare o se proteja en la molécula, evitando así cualquier reacción secundaria no deseable y/o aumentando el rendimiento de la reacción. A menudo el experto en la materia utiliza grupos protectores para conseguir tales rendimientos incrementados o para evitar las reacciones no deseadas. Estas reacciones se encuentran en la literatura y también están bien dentro del alcance del experto de la materia. Ejemplos de muchas de estas manipulaciones se pueden encontrar por ejemplo, en T. Greene y P. Wuts *Protecting Groups in Organic*
- 25 *Synthesis*, 4ª Ed., John Wiley & Sons (2007).
- 30 Los siguientes esquemas de ejemplo se proporcionan para la guía del lector, y representan métodos preferidos para preparar los compuestos ejemplificados en la presente memoria. Estos métodos no son limitantes, y será evidente que otras vías puedan ser empleadas para preparar estos compuestos. Tales métodos incluyen específicamente químicas basadas en fase sólida, incluyendo química combinatoria. El experto en la materia está bien equipado para preparar estos compuestos con aquellos métodos teniendo en cuenta la literatura y la presente divulgación. Las numeraciones del compuesto utilizadas en los esquemas de síntesis representados a continuación son únicamente para aquellos esquemas específicos, y no se deben interpretar o confundirse con las mismas numeraciones en otras secciones de la solicitud.

35

Para ilustrar adicionalmente la presente invención, se incluyen los siguientes ejemplos. Los ejemplos no deberían, por supuesto, ser interpretados como específicamente limitantes de la invención. Las variaciones de estos ejemplos dentro del alcance de las reivindicaciones están dentro del alcance de un experto en la técnica y se consideran que caen dentro del alcance de la invención como se describe y reivindica en la presente memoria. El lector reconocerá que el experto en la materia, armado con la presente divulgación, y la habilidad en la materia es capaz de preparar y utilizar la invención sin ejemplos exhaustivos.

Las marcas registradas utilizadas en la presente memoria son sólo ejemplos y reflejan materiales ilustrativos utilizados en el momento de la invención. El experto en la materia reconocerá que se esperan variaciones en lotes, procesos de fabricación, y similares. Por ende, los ejemplos y las marcas registradas utilizados en ellos no son limitantes, y no tienen por objeto ser limitativos, sino que son meramente una ilustración de cómo un experto en la materia puede optar por realizar una o más de las realizaciones de la invención.

Los espectros de ^1H resonancia magnética nuclear (RMN) se midieron en los disolventes indicados en un espectrómetro Bruker NMR (Avance TM DRX300, 300 MHz para ^1H). Las posiciones de los picos se expresan en partes por millón (ppm) campo abajo a partir de tetrametilsilano. Las multiplicidades de los picos se indican como sigue, s, singlete; d, doblete; t, triplete; m, multiplete.

Las siguientes abreviaturas tienen los significados indicados:

Bi(OTf)₃ = bismuto(III) triflato
 salmuera = cloruro de sodio acuoso saturado
 CDCl₃ = cloroformo deuterado
 DMSO-d₆ = dimetilsulfóxido deuterado
 ESIMS = espectrometría de masas por electrospray
 EtOAc = acetato de etilo
 HCl = ácido clorhídrico
 MgSO₄ = sulfato de magnesio
 NaH = hidruro de sodio
 RMN = resonancia magnética nuclear
 Ph = fenil
 K₂CO₃ = carbonato de potasio
 ta = temperatura ambiente
 TFA = ácido trifluoroacético
 THF = tetrahidrofurano
 CCF = cromatografía en capa fina

Los siguientes esquemas de ejemplo se proporcionan para la guía del lector, y representan colectivamente un método de ejemplo para la preparación de los compuestos proporcionados en la presente memoria. Además, otros métodos para preparar compuestos de la invención serán fácilmente evidentes para el experto en la materia a tenor de los siguientes esquemas de reacción y ejemplos. A menos que se indique lo contrario, todas las variables son como se han definido anteriormente.

Procedimientos generales

Los compuestos de Fórmula I de la presente invención pueden prepararse como se representa en el Esquema 1.

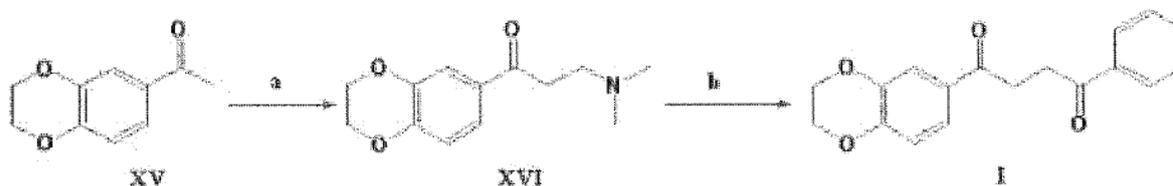


Esquema 1

El Esquema 1 describe un método para la preparación de derivados de 1,4-dicetonas no sustituidas (VII) mediante la reacción de Stetter modificada de una base de Mannich como un precursor vinil cetona con aldehído. La base de Mannich se forma haciendo reaccionar primero una metil cetona (IV) con paraformaldehído y clorhidrato de dimetilamina para formar la 3-dimetilamino-propan-1-ona (V). A continuación, se hizo reaccionar la base de Mannich (V) con varios aldehídos (VI) en condiciones de Stetter convencionales utilizando una sal de tiazolio como el catalizador que produce derivados de 1,4-dicetona no sustituida (VII).

Ejemplos de compuesto ilustrativosEjemplo 1.

5 La preparación del compuesto (1) se representa a continuación en el Esquema 5.



Esquema 5

10 Reactivos y condiciones: a) etanol, HCHO, HCl, a reflujo, durante la noche; b) dioxano, PhCHO, bromuro de 3-etil-5-(2-hidroxi-etil)-4-metil-tiazolio, 95 °C, durante la noche.

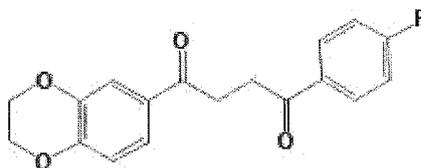
Etapa a

15 Una solución de 1-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)etanona (XV) (11 mmol), clorhidrato de dimetilamina (14 mmol), paraformaldehído (16 mmol) y HCl 12 N (2 gotas) en etanol (5 ml) se calentó a reflujo durante la noche. La solución se enfrió a temperatura ambiente y el etanol se evaporó al vacío. El residuo se trató con acetato de etilo, se calentó ligeramente y se sometió a ultrasonidos para dispersarse en partículas finas. Los sólidos se filtraron y se secaron a temperatura ambiente para producir 1-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)-3-(dimetilamino)propan-1-ona (XVI) como un sólido blanco, (rendimiento del 82 %), ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ ppm 2,77 (s, 6H), 3,41 (m, 2H), 3,56 (m, 2H), 4,25 (m, 4H), 6,85 (m, 1H), 7,45 (m, 2H).

Etapa b

25 Se añadió trietilamina (3,61 mmol) y benzaldehído (4,3 mmol) en dioxano seco (10 ml) a una solución de 1-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)-3-(dimetilamino)propan-1-ona (XVI) (5,4 mmol) y bromuro de 3-etil-5-(2-hidroxi-etil)-4-metil-tiazolio (0,43 mmol) en dioxano calentada a 95 °C bajo nitrógeno. La solución 51 se calentó durante la noche a 95 °C. La solución se enfrió y el exceso de disolvente se evaporó al vacío. El residuo se repartió entre CH₂Cl₂ y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida al eluirse con un gradiente de acetato de etilo en hexano para producir 1-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)-4-fenilbutano-1,4-diona 1 como un sólido de color blanco (rendimiento del 12 %). ¹H RMN (DMSO-d₆, 400 MHz): δ ppm 3,33-3,37 (m, 4H), 4,29 (m, 2H), 4,34 (m, 2H), 6,98 (m, 1H), 7,48 (m, 1H), 7,55 (m, 3H), 7,64 (m, 1H), 8,00-8,02 (m, 2H); ESIMS encontrada C₁₈H₁₆O₄ m/z 297 (M+H).

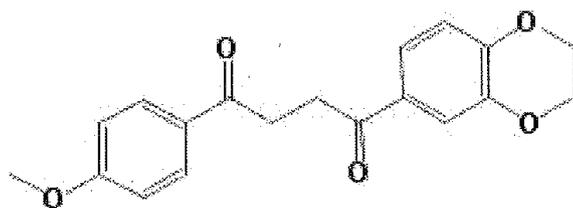
35 Los siguientes compuestos se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 1 anterior.



7

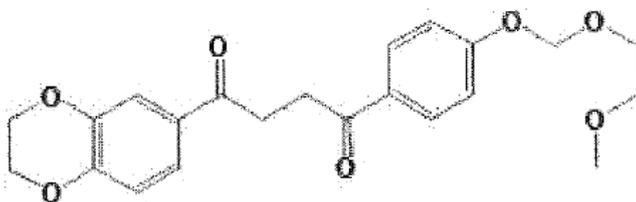
1-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)-4-(4-fluorofenil)butano-1,4-diona 7.

40 Sólido blanquecino. ¹H RMN (CDCl₃, 400 MHz): δ ppm 3,40 (s, 4H), 4,30 (m, 4H), 6,92 (m, 1H), 7,16 (m, 2H), 7,57 (m, 2H), 8,04 (m, 2H); ESIMS encontrada C₁₈H₁₅FO₄ m/z 315 (M+H).

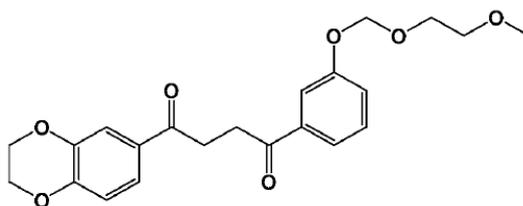
**10**

1-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)-4-(4-metoxifenil)butano-1,4-diona 10.

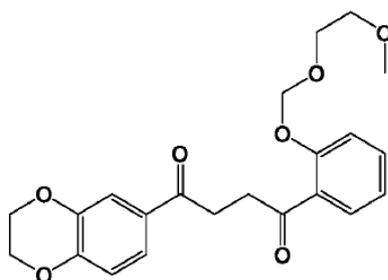
- 5 Sólido blanco (rendimiento del 19 %). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3,85 (s, 3H), 4,30 (m, 2H), 4,34 (m, 2H), 6,99 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,06 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,48 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,54 (dd, $J = 8,3, 2,0$ Hz, 1H), 7,98 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H); ESIMS encontrada $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_5$ m/z 327 (M+H).

**11**

- 10 1-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)-4-(4-((2-metoxietoxi)metoxi)fenil)butano-1,4-diona 11.
- Sólido blanquecino. ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3,33 (m, 4H), 3,46 (m, 2H), 3,75 (m, 2H), 4,30 (m, 2H), 4,34 (m, 2H), 5,36 (s, 2H), 6,99 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,14 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 7,48 (d, $J = 2,0$ Hz, 1H), 7,55 (dd, $J = 8,5, 2,0$ Hz, 1H), 7,98 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H); ESIMS encontrada $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_7$ m/z 401 (M+H).
- 15

**12**

- 20 1-(2,3-dihydrobenzo[*b*][1,4]dioxin-6-yl)-4-(3-((2-metoxietoxi)metoxi)fenil)butano-1,4-diona 12.
- Sólido blanco. ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3,21 (s, 3H), 3,35 (m, 4H), 3,48 (m, 2H), 3,75 (m, 2H), 4,30 (m, 2H), 4,33 (m, 2H), 5,32 (s, 2H), 6,99 (d, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,31 (dd, $J = 8,2, 2,0$ Hz, 1H), 7,49 (m, 2H), 7,55 (dd, $J = 8,5, 2,0$ Hz, 1H), 7,58 (m, 1H), 7,67 (d, $J = 7,8$ Hz, 1H); ESIMS encontrada $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_7$ m/z 401 (M+H).

**13**

25

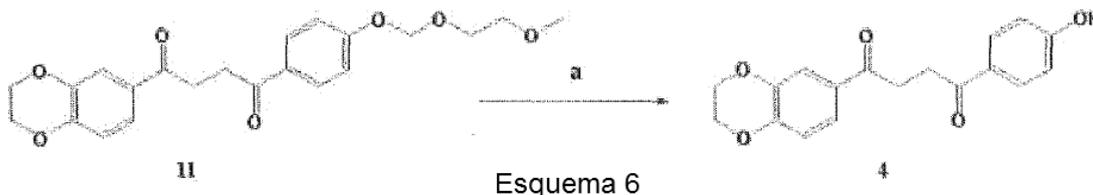
25

1-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4] dioxin-6-il)-4-(2-((2-metoxietoxi) metoxi)fenil)butano-1,4-diona 13.

Aceite viscoso (14 % de rendimiento). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3,21 (s, 3H), 3,25-3,29 (m, 4H), 3,46-3,48 (m, 2H), 3,79 (m, 2H), 4,29 (m, 2H), 4,33 (m, 2H), 5,39 (s, 2H), 6,98 (d, $J = 8,6$ Hz, 1H), 7,10 (m, 1H), 7,25 (dd, $J = 8,3$ Hz, 1H), 7,47 (m, 1H), 7,49-7,54 (m, 2H), 7,58 (dd, $J = 7,7, 1,6$ Hz, 1H); ESIMS encontrada $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_7$ m/z 401 (M+H).

Ejemplo 2.

La preparación del compuesto (4) se representa a continuación en el Esquema 6.

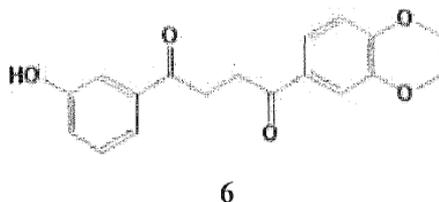


Reactivos y condiciones: a) CH_2Cl_2 , TFA, ta, durante la noche.

Etapa a

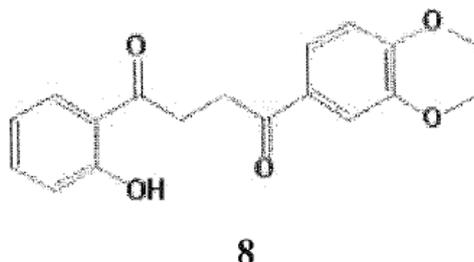
Se añadió TFA puro (0,5 ml) a una solución de 1-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)-4-(4-((2-metoxietoxi)metoxi)fenil)butano-1,4-diona 11 (0,35 mmol) en CH_2Cl_2 (5 ml) agitada a temperatura ambiente. La solución se agitó adicionalmente durante una noche a temperatura ambiente. Los volátiles se evaporaron al vacío. El residuo se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice al eluir 1 % de metanol en CH_2Cl_2 para obtener 1-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxina-6-il)-4-(4-hidroxifenil)butano-1,4-diona 4 como un sólido blanquecino (rendimiento del 21 %). ^1H RMN (CDCl_3 , 400 MHz): δ ppm 3,37 (m, 4H), 4,29 (m, 2H), 4,33 (m, 2H), 5,76 (s, 1H), 6,87 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H), 6,93 (m, 1H), 7,60 (m, 2H), 7,94 (d, $J = 8,8$ Hz, 2H); ESIMS encontrada $\text{C}_{18}\text{H}_{16}\text{O}_5$ m/z 313 (M+H).

Los siguientes compuestos se prepararon de acuerdo con el procedimiento descrito en el Ejemplo 2 anterior.



1-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4]dioxin-6-il)-4-(3-hidroxifenil)butano-1,4-diona 6.

Sólido blanquecino (rendimiento del 27 %). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3,27 (m, 4H), 4,30 (m, 2H), 4,34 (m, 2H), 6,99 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,03 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H), 7,36 (m, 2H), 7,45 (m, 2H), 7,54 (d, $J = 8,8$ Hz, 1H).



1-(2,3-dihidrobenzo[b][1,4] dioxin-6-il)-4-(2-hidroxifenil)butano-1,4-diona 8.

Sólido blanquecino (rendimiento del 62 %). ^1H RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz): δ ppm 3,43 (m, 4H), 4,00 (m, 4H), 4,34 (m, 2H), 6,96 (m, 3H), 7,48-7,56 (m, 3H), 7,97 (m, 1H).

Administración y composiciones farmacéuticas

Algunas realizaciones incluyen composiciones farmacéuticas que comprenden: (a) una cantidad segura y terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con la Fórmula I o su correspondiente enantiómero, diastereoisómero o tautómero, o sal farmacéuticamente aceptable; y (b) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La administración de los compuestos desvelados en la presente memoria o las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos puede realizarse a través de cualquiera de los modos aceptados de administración para agentes que sirven de utilidades similares, incluyendo, entre otros, vía oral, subcutánea, intravenosa, intranasal, tópica, transdérmica, intraperitoneal, intramuscular, intrapulmonar, vaginal, rectal o intraocular. Las administraciones oral y parenteral son habituales en el tratamiento de las indicaciones.

Los compuestos de la invención que tienen por objeto su uso farmacéutico pueden administrarse como productos cristalinos o amorfos. Las composiciones farmacéuticamente aceptables incluyen, formas de dosificación semi-sólida, sólida, líquida y en aerosoles, tales como, p. ej., comprimidos, cápsulas, polvos, líquidos, suspensiones, supositorios, aerosoles o similares. Pueden obtenerse, por ejemplo, como películas por métodos tales como precipitación, cristalización, liofilización, secado por pulverización, o secado por evaporación. El secado por microondas o radiofrecuencia se puede utilizar para este fin. Los compuestos también se pueden administrar en formas de dosificación de liberación sostenida o controlada, incluyendo inyecciones de depósito, bombas osmóticas, píldoras, parches transdérmicos (incluyendo electrotransporte), y similares, para administración en pulsos prolongada y/o temporizada a una tasa predeterminada. Preferentemente, las composiciones se proporcionan en formas de dosificación unitaria adecuadas para su única administración en una dosis precisa.

Los compuestos se pueden administrar solos o más normalmente en combinación con un vehículo, excipiente farmacéutico convencional, o similares. El término "excipiente" se utiliza en la presente memoria para describir cualquier ingrediente distinto del compuesto o compuestos de la invención. Los excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen, entre otros, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, sistemas de administración de fármacos autoemulsionantes (SAFAE) tales como d- α -tocoferol, polietilenglicol, 1000 succinato, tensioactivos utilizados en formas de dosificación farmacéutica tales como Tweens u otras matrices de administración polimérica similares, proteínas séricas, tales como seroalbúmina humana, sustancias tampón tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico, sorbato potásico, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos saturados vegetales, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, disodio hidrógeno fosfato, potasio hidrógeno fosfato, cloruro de sodio, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias basadas en celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliácridatos, ceras, polímeros en bloque de polietileno-polióxipropileno, y grasa de lana. Las ciclodextrinas tales como α -, β y γ -ciclodextrina, o derivados químicamente modificados tales como hidroxialquilciclodextrinas, incluyendo 2- y 3-hidroxiopropil-b-ciclodextrinas, u otros derivados solubilizados también pueden utilizarse ventajosamente para potenciar la administración de los compuestos de las fórmulas descritas en la presente memoria. Se pueden preparar formas de dosificación o composiciones que contienen un compuesto tal como se describe en la presente memoria en el intervalo de 0,005 % a 100 % con el equilibrio compuesto de un vehículo no tóxico. Las composiciones contempladas pueden contener 0,001 %-100 % de principio activo, en una realización 0,1-95 %, en otra realización 75-85 %. Los métodos actuales de preparación tales como formas de dosificación son conocidos, o serán evidentes, para los expertos en esta materia; por ejemplo, véase *Remington: The Science and Practice of Pharmacy*, 21^a edición (Lippincott Williams & Wilkins 2005).

En una realización preferida, las composiciones adoptarán la forma de una forma de dosificación unitaria tal como una píldora o comprimido y de este modo la composición puede contener, junto con el principio activo, un diluyente tal como lactosa, sacarosa, fosfato dicálcico, o similares; un lubricante tal como estearato de magnesio o similares; y un aglutinante tal como almidón, goma acacia, polivinilpirrolidona, gelatina, celulosa, derivados de celulosa o similares. En otra forma de dosificación sólida, un polvo, gránulo, solución o suspensión (p. ej., en carbonato de propileno, aceites vegetales o triglicéridos) se encapsula en una cápsula de gelatina. Las formas de dosificación unitaria en las que los dos principios activos están separados físicamente también se contemplan; p. ej., cápsulas con gránulos de cada fármaco; comprimidos de dos capas; cápsulas de gel de dos compartimentos, etc.

En otra realización preferida, las composiciones descritas en la presente memoria se utilizan como revestimientos liberadores de fármacos para un dispositivo médico incluyendo, entre otros, implantes temporales o permanentes, esponja, polímero, o gel.

El implante de acuerdo con una realización de la invención es un implante ortopédico que incluye, entre otros (i) una articulación de la cadera, (ii) tornillos, tornillos canulados, clavos, engranes, jaulas, alambres, agujas, clavos intramedulares, varillas, postes, anclas, y las placas que tienen por objeto unirse o adjuntar fragmentos de hueso, piezas o partes entre sí, (iii) fijadores óseos externos tales como fijadores monolaterales, multiplanares o híbridos, (iv) implantes que tienen por objeto el tratamiento de inestabilidades degenerativas, fracturas, tumores y deformidades con respecto a la columna vertebral, (v) implantes craneo-maxilofaciales que tienen por objeto el tratamiento de fracturas, reconstrucción, y corrección de las deformidades, de la mandíbula, parte media del rostro, o cráneo, (vi) prótesis endovascular quirúrgica, prótesis endovascular de colágeno, prótesis endovascular de hueso intramedular, (vii) sistemas de reconstrucción del ligamento cruzado anterior (LCA) y ligamento cruzado posterior

(LCP), (viii) implantes dentales.

En algunos casos, un compuesto de acuerdo con la Fórmula I se administra en combinación con uno o más agentes terapéuticos, p. ej., agentes terapéuticos útiles en el tratamiento de trastornos o afecciones óseas descritas en la presente memoria. Por ejemplo, ciertos segundos agentes terapéuticos pueden promover el crecimiento del tejido o la infiltración, tales como factores de crecimiento. Factores de crecimiento a modo de ejemplo para este fin incluyen, sin limitación, factor de crecimiento epidérmico (FCE), factor de crecimiento vascular endotelial (FCVE), factor de crecimiento de fibroblastos (FCF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (FCDP), factores de crecimiento transformante (FCT), hormona paratiroides (HPT), factor inhibidor de la leucemia (FIL), y factores de crecimiento similares a la insulina (FCL). Otros segundos agentes terapéuticos pueden promover el crecimiento óseo, tales como proteínas morfogenéticas óseas (patente de Estados Unidos n.º 4.761.471; PCT Pub WO 90/11366), osteogenina (Sampath, *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU.* (1987), 84(20), 7109-7113), NaF (Tencer, *et al.*, *Journal of Biomedical Materials Research* (1989), 23(6), 571-589), se pueden añadir secuencias peptídicas tales como IKVAV para unir los nervios y tener esos nervios que expresan neuritis (Tashiro, *et al.*, *The Journal of Biological Chemistry* (1989), 264(27), 16174-16182).

Las composiciones líquidas farmacéuticamente administrables pueden, por ejemplo, prepararse disolviendo, dispersando, etc. un compuesto activo como se ha definido anteriormente y adyuvantes farmacéuticos opcionales en un vehículo (p. ej., agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, glicoles, etanol o similares) para formar una solución o suspensión. Si se desea, la composición farmacéutica puede contener también cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes solubilizantes, agentes tamponantes del pH y similares (p. ej., acetato de sodio, citrato de sodio, derivados de ciclodextrina, monolaurato de sorbitán, acetato de trietanolamina, oleato de trietanolamina, y similares). Los inyectables pueden prepararse en formas convencionales, bien como soluciones o suspensiones líquidas, como emulsiones, o en formas sólidas adecuadas para disolución o suspensión en líquido antes de la inyección. El porcentaje de compuesto activo contenido en tales composiciones parenterales depende de la naturaleza específica del mismo, así como la actividad del compuesto y las necesidades del sujeto. Sin embargo, los porcentajes de principio activo de 0,01 % a 10 % en solución se pueden emplear, y serán mayores si la composición es un sólido, que se diluye posteriormente en los porcentajes anteriores. En algunas realizaciones, la composición comprenderá 0,2-2 % del agente activo en solución.

Cabe señalar que las concentraciones y valores de dosificación también pueden variar con la gravedad de la afección a aliviar. Queda entendido además que para cualquier paciente particular, los regímenes de dosificación específicos deben ajustarse en el tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el juicio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de concentración expuestos en la presente memoria son a modo de ejemplo solamente y no tienen por objeto limitar el alcance o práctica de las composiciones reivindicadas.

Las composiciones sólidas se pueden proporcionar en varios tipos diferentes de formas de dosificación, dependiendo de las propiedades fisicoquímicas del fármaco, la tasa de disolución deseada, las consideraciones de costo, y otros criterios. En una de las realizaciones, la composición sólida es una única unidad. Esto implica que una dosis unitaria del fármaco está comprendida en una única forma o artículo, en forma físicamente sólida. En otras palabras, la composición sólida es coherente, que contrasta con una forma de dosificación unitaria múltiple, en el que las unidades son incoherentes.

Los ejemplos de unidades individuales que pueden utilizarse como formas de dosificación para la composición sólida incluyen comprimidos, tales como comprimidos obtenidos por compresión, unidades de tipo película, unidades de tipo papel de aluminio, obleas, unidades de matriz liofilizadas, y similares. En una realización preferida, la composición sólida es una forma liofilizada altamente porosa. Tales liofilizados, a veces también llamados obleas o comprimidos liofilizados, son particularmente útiles para su rápida desintegración, que también permite la rápida disolución del compuesto activo.

Por otra parte, para algunas aplicaciones, la composición sólida puede también estar formada como una forma de dosificación unitaria múltiple como se ha definido anteriormente. Los ejemplos de unidades múltiples son polvos, gránulos, micropartículas, sedimentos, perlas, polvos liofilizados, y similares. En una realización, la composición sólida es un polvo liofilizado. Un sistema liofilizado disperso de este tipo comprende una multitud de partículas de polvo, y debido al proceso de liofilización utilizado en la formación del polvo, cada partícula tiene una microestructura irregular, porosa a través de la cual el polvo es capaz de absorber agua muy rápidamente, lo que resulta en una rápida disolución.

Otro tipo de sistema de múltiples partículas que también es capaz de alcanzar una rápida disolución del fármaco es el de polvos, gránulos, o sedimentos de excipientes solubles en agua que están recubiertos con el fármaco, por lo que el fármaco se encuentra en la superficie exterior de las partículas individuales. En este tipo de sistema, el excipiente de bajo peso molecular soluble en agua es útil para la preparación de los núcleos de dichas partículas revestidas, que pueden ser posteriormente recubiertas con una composición de recubrimiento que comprende el fármaco y, preferentemente, uno o más excipientes adicionales, tales como un aglutinante, un formador de poros, un

sacárido, un alcohol de azúcar, un polímero formador de películas, un plastificante, u otros excipientes utilizados en composiciones de revestimiento farmacéuticas.

5 En la presente memoria también se proporcionan kits. Normalmente, un kit incluye uno o más compuestos o composiciones como se describe en la presente memoria. En ciertas realizaciones, un kit puede incluir uno o más sistemas de administración, p. ej., para la entrega o la administración de un compuesto como el proporcionado anteriormente, e instrucciones de uso del kit (p. ej., instrucciones para el tratamiento de un paciente). En otra realización, el kit puede incluir un compuesto o composición como se describe en la presente memoria y una etiqueta que indica que el contenido es para ser administrado a un paciente con cáncer. En otra realización, el kit puede incluir un compuesto o composición como se describe en la presente memoria y una etiqueta que indica que el contenido es para ser administrado a un paciente con uno o más de osteoporosis y osteoartropatía; osteogénesis imperfecta, defectos óseos, fracturas óseas, enfermedad periodontal, otosclerosis, cicatrización de heridas, defectos craneofaciales, enfermedad ósea oncolítica, lesiones traumáticas del cerebro relacionadas con la diferenciación y el desarrollo del sistema nervioso central, que comprenden enfermedad de Parkinson, apoplejías, enfermedad cerebral isquémica, epilepsia, enfermedad de Alzheimer, depresión, trastorno bipolar, esquizofrenia; enfermedades oculares tales como degeneración macular relacionada con la edad, edema macular diabético, vitreorretinopatía exudativa familiar o retinitis pigmentosa y enfermedades relacionadas con la diferenciación y el crecimiento de células madre, que comprenden caída del cabello, enfermedades relacionadas con la hematopoyesis, enfermedades relacionadas con la regeneración tisular y otras asociadas con anomalías en el desarrollo, diferenciación de células madre y proliferación celular.

La dosis real de los compuestos activos de la presente invención depende del compuesto específico, y de la afección a tratar; la selección de la dosis apropiada está bien dentro del conocimiento del experto en la materia.

25 Usos de tratamiento

Los compuestos y composiciones proporcionados en la presente memoria se pueden utilizar como activadores de uno o más miembros de la vía Wnt, incluyendo una o más proteínas Wnt, y por lo tanto se pueden utilizar para tratar una variedad de trastornos y enfermedades en las que la señalización de Wnt aberrante está implicada, tales como osteoporosis y osteoartropatía; osteogénesis imperfecta, defectos óseos, fracturas óseas, enfermedad periodontal, otosclerosis, cicatrización de heridas, defectos craneofaciales, enfermedad ósea oncolítica, lesiones traumáticas del cerebro relacionadas con la diferenciación y el desarrollo del sistema nervioso central, que comprenden enfermedad de Parkinson, apoplejías, enfermedad cerebral isquémica, epilepsia, enfermedad de Alzheimer, depresión, trastorno bipolar, esquizofrenia; enfermedades oculares tales como la degeneración relacionada con la edad macular, edema macular diabético, vitreorretinopatía exudativa familiar o retinitis pigmentosa y enfermedades relacionadas con la diferenciación y el crecimiento de células madre, que comprenden la caída del cabello, enfermedades relacionadas con la hematopoyesis, enfermedades relacionadas con la regeneración de tejidos y otras enfermedades asociadas con anomalías en el desarrollo, diferenciación de células madre y proliferación celular.

40 Con respecto a la caída del cabello, la vía de señalización de *Wnt*/ β -catenina canónica es conocida por regular el desarrollo y la regeneración del folículo piloso. En la epidermis, el desarrollo del folículo piloso se inicia cuando las células mesenquimales pueblan la piel. Durante este proceso, las señales que emanan de la dermis inducen el engrosamiento del epitelio, el alargamiento de las células epiteliales, y la formación de placodas que contienen células sensibles a *Wnt*. En respuesta, las placodas indican a las células dérmicas a que se condensan, formando de este modo el componente de papila dérmica del folículo piloso, que también es sensible a la señalización de *Wnt*. *Wnt3a* se secreta del epitelio del cabello y actúa de forma autocrina y paracrina, y se ha demostrado que *Wnt3a* mantiene la expresión del gen anágeno en las células de papila dérmica y media en la actividad inductiva del cabello en un cultivo de órganos. Este crecimiento del cabello mediado por *Wnt-3a* podría depender de la vía de señalización de *Wnt*/ β -catenina canónica ya que la delección de β -catenina o el gen *Lef1* resultó en la caída de pelo en ratones. En consecuencia, los compuestos y composiciones descritos en la presente memoria se pueden utilizar por vía tópica para tratar la caída del cabello mediante la modulación de la vía de señalización de *Wnt*/ β -catenina.

Con respecto a las enfermedades neurodegenerativas, el sistema de transducción de señales de *Wnt*/ β -catenina desempeña un papel crucial en la diferenciación y desarrollo de las células nerviosas del sistema nervioso central. Particularmente, se ha descubierto que la señalización de *Wnt*/ β -catenina está relacionada con enfermedades resultantes de la anomalía de las células nerviosas.

Más particularmente, en la enfermedad de Alzheimer, los estudios indican que una pérdida sostenida de la función de señalización de *Wnt* puede estar implicada en la neurodegeneración dependiente de A β observada en el cerebro con Alzheimer. En consecuencia, los compuestos y composiciones descritos en la presente memoria pueden utilizarse para reactivar la función de señalización de *Wnt* perdida involucrada en la neurodegeneración.

Otras enfermedades neurodegenerativas también pueden ser tratadas con los compuestos y composiciones descritos en la presente memoria.

65

Más particularmente, las enfermedades neurodegenerativas que pueden tratarse por el compuesto, composiciones y métodos descritos en la presente memoria incluyen, entre otros, los siguientes:

5 Enfermedad de Parkinson, esquizofrenia, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica (enfermedad de Lou Gehrig), esclerosis lateral primaria (ELP), atrofia muscular progresiva (AMP), trastorno bipolar, depresión, apoplejías, enfermedad cerebral isquémica, epilepsia, daño cerebral y ataxia espinocerebelosa tipo 1 (SCA1).

10 Con respecto a las enfermedades oculares, el sistema de transducción de señales de *Wnt*/ β -catenina regula el mantenimiento de una población de progenitores de la retina en la zona marginal ciliar (ZMC), y por lo tanto funciona como un factor de células madre putativo en la retina. En particular, se descubrió que las vías de *Wnt*/ β -catenina median un proceso de reparación de la retina y que la aplicación de los activadores de *Wnt* puede promover la regeneración de neuronas de la retina. En el contexto de la lesión, *Wnts* pueden tener un papel protector. Recientemente se ha demostrado que *Wnt3a* protege los fotorreceptores. Los resultados de este estudio bien pueden ser interpretados como una regulación positiva de la auto-renovación de las células madre en el contexto de lesión.

20 En consecuencia, los compuestos y composiciones descritos en la presente memoria pueden utilizarse para mejorar la sustitución de neuronas perdidas causadas por la enfermedad y proteger fotorreceptores durante la lesión por la modulación de la vía de señalización de *Wnt*/ β -catenina.

Otras enfermedades oculares también pueden ser tratadas con los compuestos y composiciones descritos en la presente memoria.

25 Más en particular, las enfermedades oculares que pueden ser tratadas por los compuestos, composiciones y métodos descritos en la presente memoria incluyen, entre otros, los siguientes:

Degeneración macular relacionada con la edad, edema macular diabético, vitreoretinopatía exudativa familiar y retinitis pigmentosa.

30 Con respecto a las enfermedades asociadas con la diferenciación y crecimiento de células madre, la señalización de *Wnt*/ β -catenina es crítica en la auto-renovación de las células madre en muchos tejidos diferentes, incluyendo la piel, intestino, cerebro y sangre. Por lo tanto, los compuestos y composiciones descritos en la presente memoria pueden utilizarse para tratar trastornos y enfermedades relacionadas con anomalías en el desarrollo.

35 Evaluación de la actividad biológica

La actividad biológica de los compuestos descritos en la presente memoria se puede ensayar utilizando cualquier ensayo adecuado conocido por los expertos en la materia, p. ej., el documento WO 2001/053268 o el documento WO 2005/009997. Por ejemplo, la actividad de un compuesto se puede ensayar utilizando uno o más de los métodos de ensayo descritos a continuación.

Ejemplo 7.

45 Los compuestos que potencian la actividad de *Wnt*, o activadores, se ensayaron según se indica. Las estirpes celulares indicadoras fueron generadas mediante la transducción estable de células de estirpes de células de cáncer (p. ej., cáncer de colon) con una construcción lentiviral que incluye un promotor sensible a *Wnt* que estimula la expresión del gen de la luciferasa de luciérnaga.

50 Se fabricaron construcciones lentivirales en las que el promotor SP5, un promotor que tiene ocho sitios de unión a TCF/LEF derivados del promotor SP5, está ligado aguas arriba del gen de luciferasa de luciérnaga. Las construcciones lentivirales también pueden incluir un gen de resistencia a higromicina como marcador seleccionable. La construcción del promotor SP5 se utilizó para transducir células SW480, una estirpe celular de cáncer de colon que tiene un gen PAC mutado que genera una proteína PAC truncada, lo que lleva a una acumulación desregulada de β -catenina.

55 Las células SW480 cultivadas que llevan una construcción indicadora pueden ser distribuidas a aproximadamente 10.000 células por pocillo en placas de pocillos múltiples de 384 o 96 pocillos. Los compuestos de una pequeña biblioteca de compuestos moleculares se pueden añadir a los pocillos en diluciones semilogarítmicas utilizando tres o diez concentraciones superiores micromolares. Una serie de pocillos de control para cada tipo de célula sólo recibió tampón y disolvente compuesto DMSO. Veinticuatro horas después de la adición del compuesto, la actividad indicadora de luciferasa se puede ensayar, por ejemplo, mediante la adición del reactivo de luminiscencia BrightGlo (Promega) y el lector de placas Victor3 (Perkin Elmer). Las lecturas se normalizan a células sólo tratadas con DMSO, y cualquier actividad superior a DMSO se considera activación. Los compuestos se consideran activadores si las actividades marcadoras son 2x veces o superiores a DMSO. CE₅₀ es la concentración a la mitad de la activación máxima. La Tabla 2 muestra la actividad de activadores seleccionados.

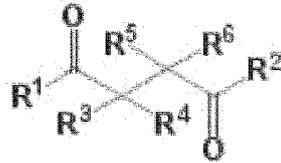
Tabla 2.

Compuesto	Activación de Wnt, CI ₅₀	Compuesto	Activación de Wnt, CI ₅₀
1	0,028-0,029 µM	10	>10 µM
		11	>10 µM
		12	>10 µM
4	0,61-1,0 µM		
6	2,1 µM		
7	0,096-0,27 µM		
8	0,083 µM		

El término "que comprende", como se utiliza en la presente memoria, es sinónimo de "que incluye", "que contiene", o "caracterizado por", y es inclusivo o abierto y no excluye elementos o etapas del método adicionales no citados.

REIVINDICACIONES

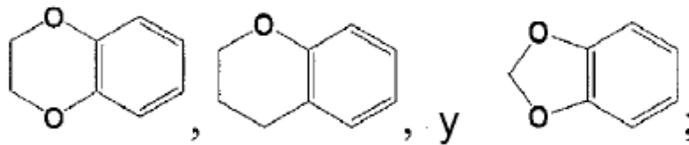
1. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo que tiene la estructura de Fórmula I:



I

5

en la que R¹ es un heteroarilo sustituido o no sustituido, en el que el heteroarilo se selecciona entre el grupo que consiste en:

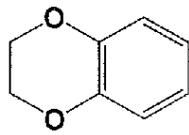


10

con la condición de que un átomo de carbono del heteroarilo de R¹ está unido al carbonilo; R² es un arilo sustituido o no sustituido, en el que el arilo se selecciona entre fenilo o naftilo; y R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son H.

15

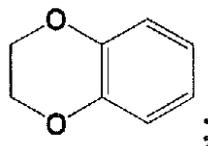
2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹ es



20

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R² es un fenilo sustituido o no sustituido.

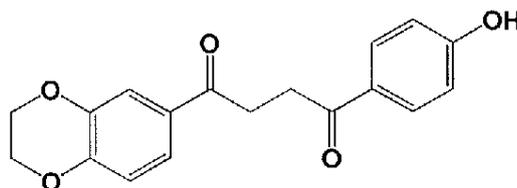
4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹ es



25

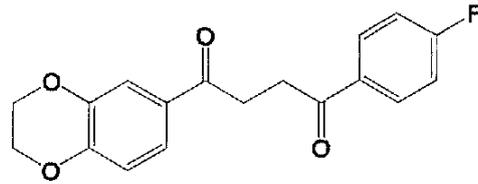
y R² es un fenilo sustituido o no sustituido.

5. El compuesto de la reivindicación 4, en el que el compuesto de Fórmula I es:

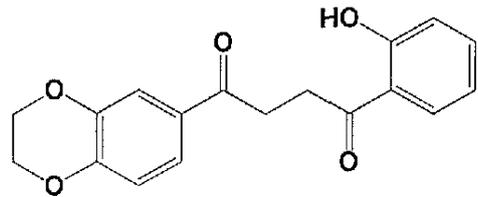


30

6. El compuesto de la reivindicación 4, en el que el compuesto de Fórmula I es:

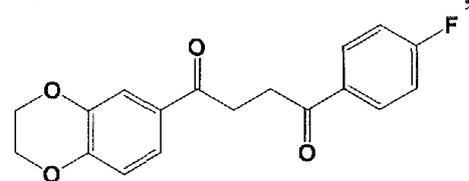
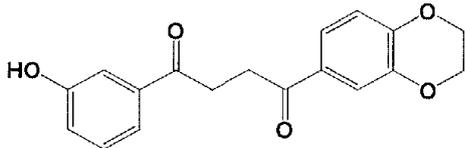
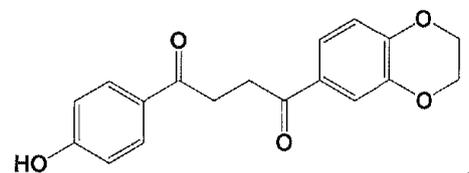
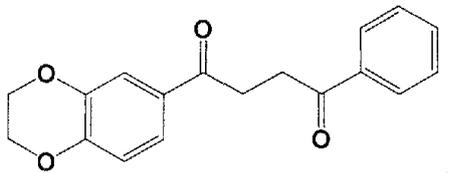


7. El compuesto de la reivindicación 4, en el que el compuesto de Fórmula I es:

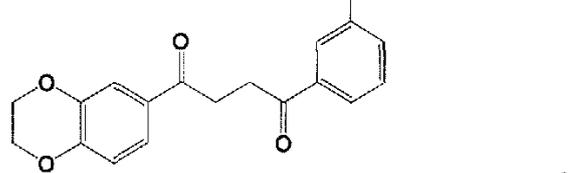
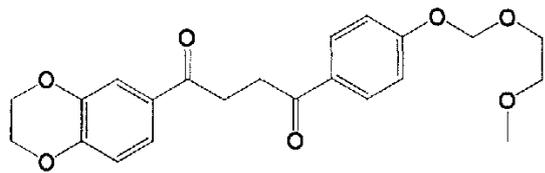
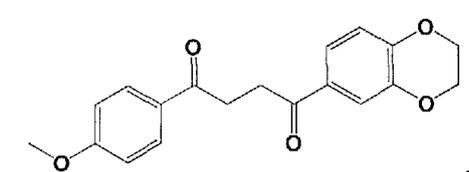
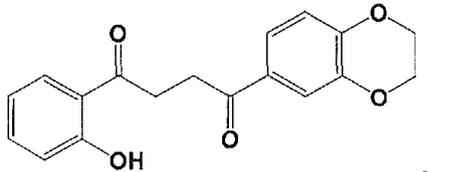


5

8. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene una estructura seleccionada entre el grupo que consiste en:

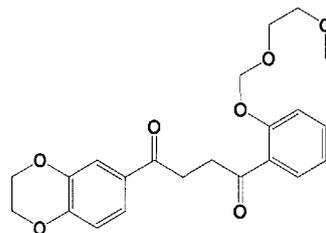


10



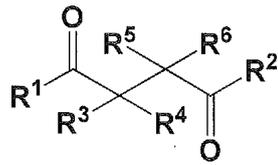
15

y



9. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que tiene la estructura de Fórmula I:

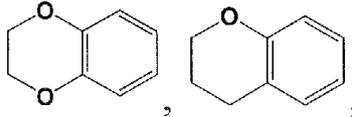
20



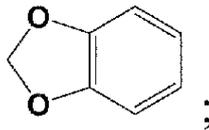
I

en la que R¹ es un heteroarilo sustituido o no sustituido, en el que el heteroarilo se selecciona entre el grupo que consiste en

5



y

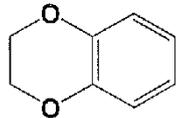


10

con la condición de que un átomo de carbono del heteroarilo de R¹ está unido al carbonilo; R² es un arilo sustituido o no sustituido, en el que el arilo se selecciona entre fenilo o naftilo; y R³, R⁴, R⁵ y R⁶ son H; y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15

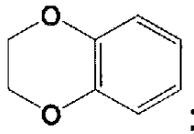
10. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en la que R¹ es



20

11. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en la que R² es un fenilo sustituido o no sustituido.

12. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en la que R¹ es

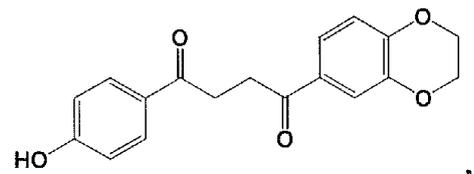
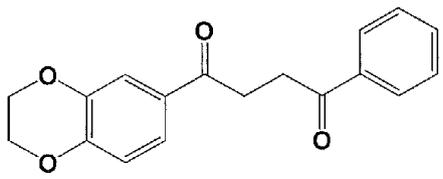


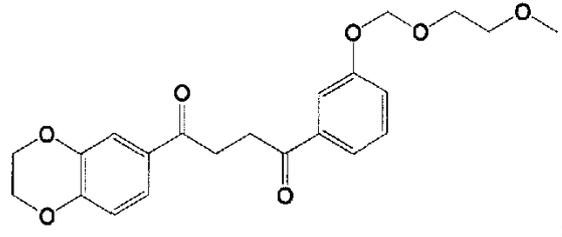
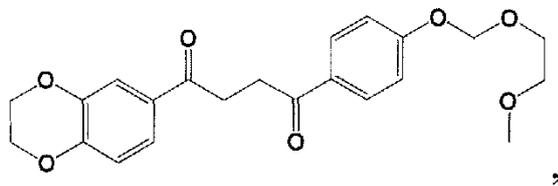
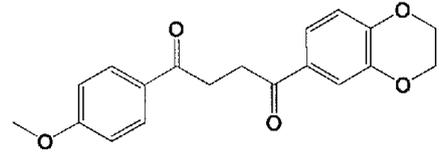
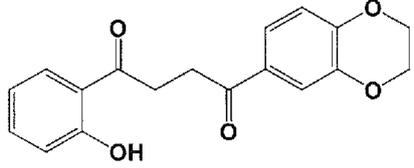
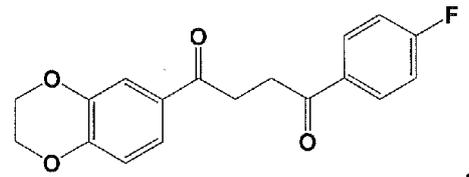
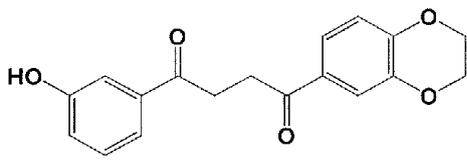
25

y R² es un fenilo sustituido o no sustituido.

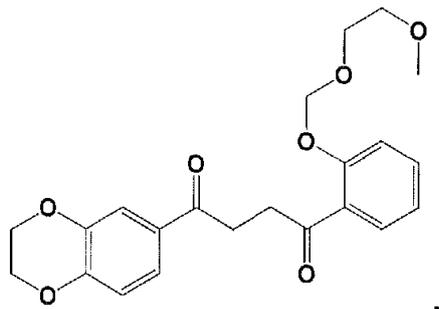
13. La composición farmacéutica de la reivindicación 9 que tiene una estructura seleccionada entre el grupo que consiste en:

30





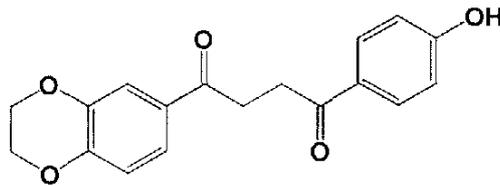
5 y



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

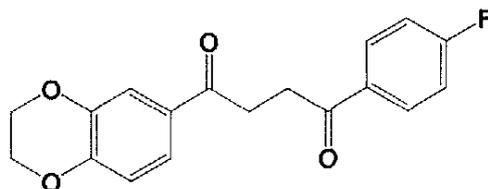
10

14. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en la que el compuesto de Fórmula I es:



15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

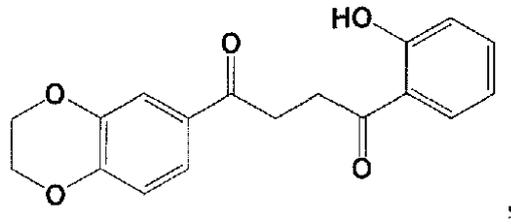
15. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en la que el compuesto de Fórmula I es:



20

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

16. La composición farmacéutica de la reivindicación 9, en la que el compuesto de Fórmula I es:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.