

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 691 079**

15 Folleto corregido: T3

Texto afectado: Descripción, Reivindicaciones y  
Dibujos

48 Fecha de publicación de la corrección: 08.02.2019

51 Int. Cl.:

**C07D 417/04** (2006.01) **A61P 17/00** (2006.01)

**C07D 413/04** (2006.01)

**A61K 31/4155** (2006.01)

**A61K 31/433** (2006.01)

**A61K 31/4245** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA CORREGIDA

T9

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.02.2013 PCT/US2013/028438**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.09.2013 WO13130892**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.02.2013 E 13754329 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.07.2018 EP 2820013**

54 Título: **Moduladores del receptor X hepático (LXR) para el tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones dérmicas**

30 Prioridad:  
**02.03.2012 US 201261606160 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**23.11.2018**

73 Titular/es:  
**RALEXAR THERAPEUTICS, INC. (100.0%)  
101 Lindenwood Drive, Suite 400  
Malvern, PA 19355, US**

72 Inventor/es:  
**MOHAN, RAJU**

74 Agente/Representante:  
**ELZABURU, S.L.P**

**Observaciones :**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

**ES 2 691 079 T9**

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

Moduladores del receptor X hepático (LXR) para el tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones dérmicas

## Referencia cruzada

5 Esta solicitud reivindica el beneficio de la Solicitud Provisional de los EE.UU. No. 61/606.160 presentada el 2 de marzo de 2012.

## Antecedentes de la invención

10 La activación del receptor X hepático (LXR) se asocia a la inflamación, diferenciación de la barrera cutánea hiperproliferativa y/o desordenada. La activación de LXR también modula múltiples vías subyacentes a la etiología y la patología del envejecimiento de la piel. Los documentos WO2010/096170, WO2007/002559 y FINN J et al., BIOORGANIC & MEDICINAL CHEMISTRY LETTERS, vol. 13, no. 13, 1 de enero de 2013, páginas 2231-2234 pueden ser útiles para entender la invención.

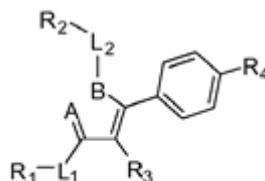
## Sumario de la invención

15 La presente invención se refiere a compuestos de Fórmula E, composiciones farmacéuticas que incluyen tales compuestos, y métodos de uso de los mismos, para modular el LXR. También se describen aquí compuestos de composiciones farmacéuticas de Fórmula V que incluyen dichos compuestos, y métodos de uso de los mismos, para modular el LXR. En un aspecto, es un compuesto de la invención para uso en el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones dérmicas en mamíferos que se beneficiarían de la modulación de LXR. Las realizaciones preferidas de la invención se describen en las reivindicaciones dependientes. Los métodos asociados también se describen aquí para ayudar al entendimiento de la invención, pero estos no forman parte de la invención reivindicada. Los ejemplos o realizaciones descritos aquí que no entran dentro de la definición de las reivindicaciones no forman parte de la presente invención.

20 Las enfermedades, trastornos o afecciones dérmicas incluyen, envejecimiento de la piel, cicatrización, psoriasis, dermatitis, eczema, urticaria, rosácea, quemaduras, acné o cualquier otra afección descrita aquí. Las enfermedades o trastornos dérmicos también se refieren a trastornos pigmentarios, que incluyen vitíligo. Las enfermedades dérmicas también se refieren a las malignidades de la piel y al cáncer, que incluyen el melanoma y las formas metastásicas de estas enfermedades.

25 Por consiguiente, se describen aquí métodos y composiciones para el mantenimiento de la barrera dérmica y/o la normalización de la barrera dérmica y/o la reducción de la lesión de la barrera dérmica y/o la regeneración de la barrera dérmica.

30 Según la presente invención, se proporciona un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (E):



Fórmula (E);

en la que:

A y B son cada uno nitrógeno, en la que A y B están unidos entre sí para formar un anillo heteroarilo de cinco miembros;

35 L<sub>1</sub> es un enlace, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

L<sub>2</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sub>1</sub> es hidrógeno, halógeno, -CF<sub>3</sub>, -OR<sub>8</sub>, -N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=O)R<sub>8</sub>, -C(=O)OR<sub>8</sub>, -C(=O)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=N-OH)R<sub>8</sub>, -C(=S)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=CH<sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>, o -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>;

R<sub>2</sub> es -C(=O)OR<sub>9</sub>, -C(=O)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>, -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>9</sub>, -C(=N-OH)R<sub>9</sub>, -C(=S)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>, o -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>;

40 R<sub>3</sub> es hidrógeno, halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sub>4</sub> es arilo o heteroarilo; en la que arilo o heteroarilo está sustituido con por lo menos un R<sub>11</sub>;

cada R<sub>8</sub>, cada R<sub>9</sub>, y cada R<sub>10</sub> son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>,

-alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo, o heteroarilo;

R<sub>11</sub> es independientemente halógeno, nitro, -OR<sub>10</sub>, -N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -C(=O)R<sub>10</sub>, -C(=O)OR<sub>10</sub>, -C(=O)N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>10</sub>, NR<sub>10</sub>SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, -SOR<sub>10</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, -SO<sub>2</sub>N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un solvato farmacéuticamente aceptable o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, es un compuesto de Fórmula E en la que R<sub>4</sub> es arilo. En una realización adicional, es un compuesto de Fórmula E en la que R<sub>2</sub> es -C(=O)OR<sub>9</sub>, y R<sub>9</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En una realización adicional, es un compuesto de Fórmula E en la que L<sub>2</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En una realización adicional, es un compuesto de Fórmula E en la que L<sub>2</sub> es -CH<sub>2</sub>-. En una realización adicional, es un compuesto de Fórmula E en la que L<sub>1</sub> es un enlace. En una realización adicional es un compuesto de Fórmula E en la que R<sub>1</sub> es -CF<sub>3</sub>, -C(=O)R<sub>8</sub>, -C(=O)OR<sub>8</sub>, -C(=O)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, o -C(=CH<sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>. En una realización adicional es un compuesto de Fórmula E en la que R<sub>4</sub> es fenilo en la que el fenilo está sustituido con un R<sub>11</sub>. En una realización adicional, es un compuesto de Fórmula E en la que R<sub>11</sub> es -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub> y R<sub>10</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.

En otro aspecto, es una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula E, y un diluyente, excipiente, vehículo o aglomerante farmacéuticamente aceptable del mismo. En otro aspecto, es una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula V, y un diluyente, excipiente, vehículo o aglomerante farmacéuticamente aceptable del mismo.

## 20 Breve descripción de las figuras

La Figura 1 muestra la expresión del gen ABCG1 analizada mediante PCR en tiempo real para tres compuestos de Fórmula I-VI: Compuesto A, Compuesto B y Compuesto C como se describe en el Ejemplo 29.

La Figura 2 muestra la hinchazón de la oreja y el peso de la oreja para el Compuesto A en comparación con Clobetasol (corticosteroide utilizado para tratar diversos trastornos de la piel) como se describe en el Ejemplo 41.

## 25 Descripción detallada de la invención

El LXR fue descrito por primera vez por Willy, PJ, et al., "LXR, a nuclear receptor that defines a distinct retinoid response pathway," *Genes & Development* 9:1033-1045 (Cold Spring Harbor Laboratory Press).

Los receptores X hepáticos (LXR alfa y LXR beta) están altamente expresados en la epidermis y los activadores de LXR estimulan la proliferación y diferenciación de los queratinocitos. La activación de LXR también mejora la homeostasis de la barrera de permeabilidad mediante varios mecanismos, que incluyen estimular la síntesis de lípidos epidérmicos, aumentar la formación y secreción de cuerpos lamelares y aumentar la actividad de enzimas requeridas para el procesado extracelular de lípidos en el estrato córneo, lo que conduce a la formación de membranas lamelares que median la función de barrera de permeabilidad. La activación de LXR también es antiinflamatoria, reduciendo la inflamación en modelos animales de dermatitis alérgica y de contacto irritante. (Schmuth et al., 2008, *Journal of Lipid Research*, 49, 499-509).

La epidermis sirve para formar una barrera contra la pérdida excesiva de agua transcutánea al medio ambiente. Esta barrera está formada por las capas anucleadas, cornificadas y más externas de la epidermis, conocidas colectivamente como el estrato córneo. El estrato córneo regula una tasa natural de pérdida de agua en la piel, un proceso llamado pérdida de agua transepidérmica (o TEWL). La piel hidratada normal y saludable pierde alrededor de 80 a 100 gramos de agua a la atmósfera cada día. El proceso de TEWL se ve afectado por la integridad de la barrera epidérmica y la estructura lipídica y, para una piel sana, estos elementos regulan la tasa de TEWL y ayudan a mantener los niveles apropiados de humedad en el estrato córneo.

De este modo, el mantenimiento de una barrera epidérmica normal es un medio fisiológico de inhibir la hiperproliferación epidérmica.

Los ejemplos de afecciones que implican o dan lugar a una barrera epidérmica interrumpida o disfuncional son: inflamación de las membranas mucosas, tal como queilitis, labios agrietados, irritación nasal y vulvovaginitis; dermatitis eczematosa, tal como dermatitis atópica y seborreica, dermatitis de contacto alérgica o irritante, eczema craquele, dermatitis fotoalérgica, dermatitis fototóxica, fitofotodermatitis, dermatitis por radiación y dermatitis por estasis; úlceras y erosiones resultantes de traumas, quemaduras, trastornos bullosos o isquemia de la piel o las membranas mucosas; varias formas de ictiosis; epidermolísis ampollosa; psoriasis; cicatrices hipertróficas y queloides y cambios cutáneos de envejecimiento intrínseco y fotoenvejecimiento.

Los constituyentes de la epidermis que desempeñan un papel en el mantenimiento de una barrera funcional son las láminas de bicapa lamelar intercelular de los lípidos del estrato córneo. La síntesis de los lípidos del estrato córneo es relativamente autónoma de las influencias circulantes o dietéticas. La respuesta sintética está regulada en cambio

- 5 por alteraciones en las funciones de barrera de permeabilidad. La regulación se produce por medio de cambios en las actividades, el estado de fosforilación (activación), la masa y el ARNm de las enzimas limitantes de la velocidad de cada uno de los tres lípidos clave: serina palmitoil transferasa (para ceramidas), HMGCoA reductasa (para colesterol) y tanto acetil CoA carboxilasa como sintasa de ácido graso (para ácidos grasos). Otros resultados de alteraciones en la función de barrera son la regulación de enzimas clave del procesamiento de lípidos extracelulares. Una de esas enzimas es la beta-glucocerebrosidasa, que cataliza la conversión de glicosilceramidas precursoras en ceramidas.
- 10 Se ha descubierto ahora que la formación de un estrato corneo maduro totalmente diferenciado y una barrera de funcionalidad epidérmica funcional se aceleran por la administración tópica de ciertos activadores del receptor X hepático (LXR) con sus dos isoformas, LXR alfa y LXR beta.
- 15 Los activadores de LXR mejoran la función de barrera por lo menos por dos mecanismos paralelos: la estimulación de la diferenciación epidérmica y la producción de lípidos. Dado que el aumento de la producción de lípidos epidérmicos probablemente genera activadores endógenos adicionales de estos receptores nucleares de hormonas, este proceso se puede considerar como un tipo de mecanismo de avance que regula de forma coordinada la generación tanto de los corneocitos como de la matriz extracelular del estrato córneo.
- 20 Hatano et al. han demostrado que la aplicación tópica de activadores de LXR mejora múltiples parámetros de la dermatosis de tipo AD en un modelo de ratón inducido por hapteno (Hatano et al. (2010) The Journal of Allergy and Clinical Immunology 125 (1) 160-169. Este modelo recapitula virtualmente todas las anomalías clínicas, estructurales, funcionales, lipídicas bioquímicas e inmunológicas conocidas de la EA humana.
- 25 Las anomalías heredadas en proteínas importantes para la barrera predisponen al desarrollo de dermatitis atópica (DA). Por el contrario, la normalización de la función de barrera, a su vez, reduciría los dos principales factores de inflamación en la EA. Aquí se proporcionan métodos para reducir la generación de citoquinas, que se originan a partir de, por ejemplo, corneocitos perturbados. En una realización, el tratamiento con activadores de LXR tópicos reduce los niveles de IL-1 $\alpha$  y TNF $\alpha$ . Además, la función de barrera de permeabilidad mejorada reduce simultáneamente la penetración transdérmica de xenobiotes proinflamatorios, incluyendo haptenos y patógenos microbianos.
- 30 Chang et al. (Mol Endocrinol 2008, 22, 2407-2419) han demostrado la eficacia de los ligandos de LXR en queratinocitos epidérmicos humanos normales y en un modelo de fotoenvejecimiento de ratón. Una base molecular integral para la eficacia en el modelo de ratón se estableció mediante estudios in vitro en queratinocitos epidérmicos humanos normales y en preparaciones de células de piel de ratones LXR de tipo salvaje y LXR knock-out. En estos estudios, los activadores de LXR:
- (a) redujeron la expresión de citoquinas y metaloproteinasas en queratinocitos epidérmicos activados por UV y fibroblastos dérmicos activados por TNF $\alpha$
  - (b) incrementaron la expresión de marcadores de diferenciación de queratinocitos
  - 35 (c) incrementaron la expresión de los genes requeridos para la síntesis de ácidos grasos en los queratinocitos
  - (d) incrementaron la expresión de proteínas de unión al colesterol y transportadores de lípidos en las células de la piel
  - (e) incrementaron la expresión de enzimas implicadas en la síntesis de ceramida en queratinocitos.
- 40 Lee et al. (J Invest Dermatol. 2012 Dec 6. doi: 10.1038 / jid.2012.409. [Publicación electrónica antes de la impresión]) han mostrado que en melanocitos primarios humanos, MNT-1, y células de melanoma B16, la activación de LXR y los agonistas de LXR han mostrado que inhibe la melanogénesis al inhibir las enzimas melanogénicas por medio de la degradación de MITF inducida por Ras y ERK. Esto respalda la lógica de que los LXR pueden ser proteínas diana clave en los trastornos pigmentarios y que los agonistas de LXR pueden ser beneficiosos en el tratamiento de los trastornos pigmentarios dérmicos, que incluyen vitíligo.
- 45 Pencheva et al. (Cell, 2012 Nov 21; 151 (5): 1068-82) han mostrado que las apolipoproteínas dirigidas a la piel tales como ApoE afectan de manera convergente a objetivos moleculares tales como LRP1 / LRP8 que están implicados en la metástasis del melanoma y la angiogénesis. Como el ApoE es un gen diana para el LXR, la activación de LXR puede ser beneficiosa en el tratamiento de malignidades dérmicas, que incluyen el melanoma metastásico.
- 50 En consecuencia, se describen aquí métodos y composiciones que comprenden activadores de LXR como ingredientes activos en una formulación que es farmacéuticamente aceptable para la administración tópica.
- Las formulaciones tópicas que contienen activadores de LXR o activadores descritas aquí se aplican para el efecto beneficiosos para la piel y/o las membranas mucosas. Los activadores se formulan en forma de lociones, disoluciones, geles, cremas, cremas emolientes, pomadas, aerosoles o cualquier otra forma que permita la aplicación tópica. La formulación también puede contener uno o más agentes que promueven la extensión de la

formulación sobre el área afectada, pero que de otro modo son biológicamente inactivos. Los ejemplos de estos agentes son tensioactivos, humectantes, agentes humectantes, emulsionantes o propulsores.

5 Las cantidades a las que se hace referencia aquí como efectivas para potenciar el desarrollo de barrera son cualquier cantidad que provocará un alivio sustancial de los síntomas de una barrera de permeabilidad epidérmica alterada o disfuncional cuando se aplican repetidamente a lo largo del tiempo. Las cantidades óptimas en cualquier caso dado serán evidentes para las personas expertas en la técnica o son capaces de determinación por experimentación rutinaria.

10 Los ejemplos de afecciones de la piel que son susceptibles de tratamiento tópico con activadores de LXR son: dermatitis atópica y seborreica; inflamación de las membranas mucosas, como queilitis, labios agrietados, irritación nasal y vulvovaginitis; dermatitis eczematosa causada por contacto alérgico e irritante, eczema craquelee, dermatitis por radiación y estasis; úlceras y erosiones debidas a quemaduras químicas o térmicas, trastornos bullosos o compromiso vascular o isquemia que incluyen úlceras venosas, arteriales, embólicas o diabéticas; ictiosis, con o sin una anomalía de barrera asociada; epidermólisis ampollosa; psoriasis; cicatrices hipertróficas y queloides; envejecimiento intrínseco, fotoenvejecimiento y/o dermatoheliosis; cáncer de piel melanoma y no melanoma, que incluye melanoma de lignina, carcinoma de células basales, carcinoma de células escamosas, queratosis actínica y neoplasia inducida por virus (verrugas y condylomata accuminata).

20 Los métodos óptimos y la frecuencia de administración serán fácilmente evidentes para las personas expertas en la técnica o son capaces de determinación por experimentación rutinaria. Los resultados efectivos en la mayoría de los casos se consiguen mediante la aplicación tópica de una capa delgada sobre el área afectada, o el área donde se busca lograr el efecto deseado. Dependiendo de la afección que se trate, su etapa o grado, y si la aplicación se realiza por razones terapéuticas o preventivas, se consiguen resultados efectivos con tasas de aplicación de una aplicación cada dos o tres días a cuatro o más aplicaciones por día.

Los métodos y composiciones descritos aquí son generalmente aplicables al tratamiento de piel de mamífero que incluye, por ejemplo, seres humanos, mascotas domésticas y ganado y otros animales de granja.

## 25 **Definiciones**

En el contexto de esta descripción, se utilizarán varios términos.

Como se usa aquí, el término "alrededor de" o "aproximadamente" quiere decir dentro del 20%, preferentemente dentro del 10%, y más preferentemente dentro del 5% de un valor o intervalo dado.

30 La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" como se usa aquí se refiere a la cantidad de un modulador de LXR que, cuando se administra a un mamífero que lo necesita, es efectiva para por lo menos mejorar parcialmente o para prevenir por lo menos parcialmente afecciones relacionadas con el envejecimiento de la piel.

Como se usa aquí, el término "expresión" incluye el proceso mediante el cual los polinucleótidos se transcriben en ARNm y se traducen en péptidos, polipéptidos o proteínas.

35 El término "modular" abarca una disminución o un incremento de la actividad o expresión dependiendo de la molécula diana. Por ejemplo, se considera que un modulador de TIMP1 modula la expresión de TIMP1 si la presencia de dicho modulador de TIMP1 da como resultado un incremento o disminución de la expresión de TIMP1.

40 El término "activador" se usa en esta memoria descriptiva para denotar cualquier especie molecular que produzca la activación del receptor indicado, independientemente de si la especie misma se une al receptor o si un metabolito de la especie se une al receptor cuando la especie se administra tópicamente. De este modo, el activador puede ser un ligando del receptor o puede ser un activador que se metaboliza al ligando del receptor, es decir, un metabolito que se forma en el tejido y es el ligando real.

45 Los términos "inducir" o "inducción" de la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1 o decorina se refieren a un incremento, inducción, o si no aumento de la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1 o decorina no indica necesariamente la expresión máxima de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1 o decorina. Un incremento de la expresión de TIMP1, ABCA12 o decorina puede ser, por ejemplo, por lo menos alrededor de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o más. En una realización, la inducción se mide comparando los niveles de expresión de ARNm de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA12, ABCA13, ABCG1 o decorina de los queratinocitos no tratados con los de los niveles de expresión de ARNm de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1 o decorina de los queratinocitos tratados con modulador de LXR.

Los términos "inhibir" la expresión o "inhibición" de la expresión de TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 o IL-8 se refieren a una reducción, inhibición o si no disminución de la expresión de proteína y/o de TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 o ARNm de IL-8. La reducción, inhibición o disminución de la unión se puede medir mediante uno de los ensayos proporcionados aquí. La inhibición de la expresión de TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 o IL-8 no indica necesariamente una negación completa de la expresión de TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 o IL-8. Una reducción de la expresión puede ser, por ejemplo, por lo menos alrededor de 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o más. En una realización, la inhibición se mide comparando los niveles de expresión de TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 o ARNm de IL-8 de queratinocitos no tratados con los niveles de expresión de TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 o ARNm de IL-8 de queratinocitos tratados con modulador de LXR.

"Receptor X hepático" o "LXR" se refiere tanto a LXR $\alpha$  como a LXR $\beta$ , y variantes, isoformas y fragmentos activos de los mismos. El LXR $\beta$  se expresa de manera ubicua, mientras que la expresión de LXR $\alpha$  se limita al hígado, riñón, intestino, bazo, tejido adiposo, macrófagos, músculo esquelético y, como se demuestra aquí, a la piel. Los números de acceso de GenBank® representativos para las secuencias de LXR $\alpha$  incluyen los siguientes: ser humano (*Homo sapiens*, Q13133), ratón (*Mus musculus*, Q9Z0Y9), rata (*Rattus norvegicus*, Q62685), vaca (*Bos taurus*, Q5E9B6), cerdo (*Sus scrofa*, AAY43056), pollo (*Gallus gallus*, AAM90897). Los números de acceso de GenBank® representativos para LXR $\beta$  incluyen los siguientes: ser humano (*Homo sapiens*, P55055), ratón (*Mus musculus*, Q60644), rata (*Rattus norvegicus*, Q62755), vaca (*Bos taurus*, Q5BIS6).

El término "mamífero" se refiere a un ser humano, un primate no humano, canino, felino, bovino, ovino, porcino, murino u otro mamífero veterinario o de laboratorio. Las personas expertas en la técnica reconocen que una terapia que reduce la gravedad de una patología en una especie de mamífero es predictiva del efecto de la terapia sobre otra especie de mamífero.

"Citoquina proinflamatoria" como se usa aquí se refiere a cualquier citoquina que pueda activar reacciones de hipersensibilidad citotóxica, inflamatorias o retardadas. Los ejemplos de citoquinas proinflamatorias incluyen factores estimulantes de colonias (CSFs), por ejemplo CSF de granulocito-macrófago, CSF de granulocito, eritropoyetina; factores de crecimiento transformantes (TGFs), por ejemplo, TGF $\beta$ ; interferones (IFNs), por ejemplo, IFN $\alpha$ , IFN $\beta$ , IFN $\gamma$ ; interleucinas (IL), por ejemplo IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-3, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, IL-15; factores de necrosis tumoral (TNFs), por ejemplo TNF $\alpha$ , TNF $\beta$ ; proteínas de adherencia, por ejemplo molécula de adhesión intracelular (ICAM), molécula de adhesión de células vasculares (VCAM); factores de crecimiento, por ejemplo factor inhibidor de la leucemia (LIF), factor que inhibe la migración de macrófagos (MIF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento fibroblástico (FGF), factor de crecimiento de tipo insulina (IGF), factor de crecimiento nervioso (NGF), factor de crecimiento de células B (BCGF); quimioquinas, por ejemplo proteínas quimiotácticas de monocitos (MCP-1, MCP-2, MCP-3), proteína inflamatoria de macrófagos (MIP), oncogén relacionado con el crecimiento, proteína inducible por interferón gamma; leucotrienos, por ejemplo, leucotrieno B<sub>4</sub>, leucotrina D<sub>4</sub>; factores vasoactivos, por ejemplo, histamina, bradiquinina, factor activador de plaquetas (PAF); prostaglandinas, por ejemplo prostaglandina E<sub>2</sub>.

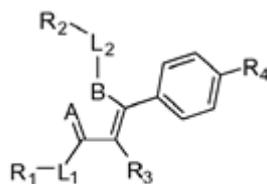
La expresión "envejecimiento de la piel" incluye afecciones derivadas del envejecimiento cronológico intrínseco (por ejemplo, líneas de expresión más profundas, reducción del grosor de la piel, inelasticidad y/o superficie lisa sin defectos), las derivadas del fotoenvejecimiento (por ejemplo, arrugas profundas, superficie amarilla y curtida, endurecimiento de la piel, elastosis, aspereza, despigmentaciones (manchas de la edad) y/o piel manchada) y las derivadas del adelgazamiento de la piel inducido por esteroides.

#### 40 Moduladores de LXR

Los moduladores de LXR contemplados para su uso en las composiciones y métodos descritos aquí son compuestos con actividades moduladoras de LXR $\alpha$  y/o LXR $\beta$ . La expresión "modulador de LXR" incluye agonistas, de LXR $\alpha$  y/o LXR $\beta$ , antagonistas y moduladores de LXR selectivos del tejido, así como otros agentes que inducen la expresión y/o los niveles de proteína de LXRs en las células de la piel.

45 Los compuestos preferidos serán los moduladores de LXR con actividades moduladoras de LXR $\alpha$  y/o LXR $\beta$ . Los moduladores de LXR preferidos son activadores de LXR. La expresión "activador de LXR" o "activador de LXR" incluye agonistas de LXR $\alpha$  y/o LXR $\beta$ , agonistas parciales y moduladores de LXR selectivos de tejidos, así como otros agentes que inducen la expresión y/o los niveles de proteína de LXRs en las células de la piel.

Según la invención, es un compuesto de Fórmula (E):



Fórmula (E);

50

en la que:

A y B son cada uno nitrógeno, en la que A y B están unidos entre sí para formar un anillo heteroarilo de cinco miembros;

L<sub>1</sub> es un enlace, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

5 L<sub>2</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sub>1</sub> es hidrógeno, halógeno, -CF<sub>3</sub>, -OR<sub>8</sub>, -N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=O)R<sub>8</sub>, -C(=O)OR<sub>8</sub>, -C(=O)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=N-OH)R<sub>8</sub>, -C(=S)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=CH<sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>, o -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>;

R<sub>2</sub> es -C(=O)OR<sub>9</sub>, -C(=O)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>, -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>9</sub>, -C(=N-OH)R<sub>9</sub>, -C(=S)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>, o -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>;

R<sub>3</sub> es hidrógeno, halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

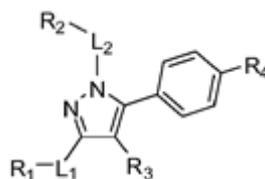
10 R<sub>4</sub> es arilo o heteroarilo; en la que arilo o heteroarilo está sustituido con por lo menos un R<sub>11</sub>;

cada R<sub>8</sub>, cada R<sub>9</sub>, y cada R<sub>10</sub> son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo, o heteroarilo;

15 R<sub>11</sub> es independientemente halógeno, nitro, -OR<sub>10</sub>, -N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -C(=O)R<sub>10</sub>, -C(=O)OR<sub>10</sub>, -C(=O)N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>10</sub>, NR<sub>10</sub>SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, -SOR<sub>10</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, -SO<sub>2</sub>N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un solvato farmacéuticamente aceptable o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, es un compuesto de Fórmula (V):



Fórmula (V);

20

en la que:

L<sub>1</sub> es un enlace, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

L<sub>2</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

25 R<sub>1</sub> es hidrógeno, halógeno, -CF<sub>3</sub>, -OR<sub>8</sub>, -N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=O)R<sub>8</sub>, -C(=O)OR<sub>8</sub>, -C(=O)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=N-OH)R<sub>8</sub>, -C(=S)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=CH<sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>, o -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>;

R<sub>2</sub> es -C(=O)OR<sub>9</sub>, -C(=O)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>, -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>9</sub>, -C(=N-OH)R<sub>9</sub>, -C(=S)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>, o -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>;

R<sub>3</sub> es hidrógeno, halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;

R<sub>4</sub> es arilo o heteroarilo; en la que el arilo o heteroarilo está sustituido con por lo menos un R<sub>11</sub>;

30 cada R<sub>8</sub>, cada R<sub>9</sub>, y cada R<sub>10</sub> son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo, o heteroarilo;

R<sub>11</sub> es independientemente halógeno, nitro, -OR<sub>10</sub>, -N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -C(=O)R<sub>10</sub>, -C(=O)OR<sub>10</sub>, -C(=O)N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>10</sub>, NR<sub>10</sub>SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, -SOR<sub>10</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, -SO<sub>2</sub>N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;

35 En algunas realizaciones, es un compuesto de Fórmula V en la que R<sub>1</sub> es hidrógeno, halógeno, -CF<sub>3</sub>, -OR<sub>8</sub>, -N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=O)R<sub>8</sub>, -C(=O)OR<sub>8</sub>, -C(=O)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=N-OH)R<sub>8</sub>, -C(=S)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=CH<sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>, o -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es hidrógeno. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es halógeno. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es -CF<sub>3</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es -OR<sub>8</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es -N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es -C(=O)R<sub>8</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es -C(=O)O<sub>8</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es -C(=O)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es -C(=N-OH)R<sub>8</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es -C(=S)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>8</sub>

40

es hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo, o heteroarilo. En algunas realizaciones, R<sub>8</sub> es hidrógeno. En algunas realizaciones, R<sub>8</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>8</sub> es metilo. En algunas realizaciones, R<sub>8</sub> es etilo. En algunas realizaciones, R<sub>8</sub> es heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>8</sub> es -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo. En algunas realizaciones, R<sub>8</sub> es arilo. En algunas realizaciones, R<sub>8</sub> es heteroarilo. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es -C(=CH<sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>1</sub> es -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>.

En algunas realizaciones, es un compuesto de Fórmula V en la que R<sub>2</sub> es -C(=O)OR<sub>9</sub>, -C(=O)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>, -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>9</sub>, -C(=N-OH)R<sub>9</sub>, -C(=S)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>, o -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>2</sub> es -C(=O)O<sub>9</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>2</sub> es -C(=O)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>2</sub> es -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>9</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>2</sub> es -C(=N-OH)R<sub>9</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>2</sub> es -C(=S)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>2</sub> es -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>9</sub> es hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo, o heteroarilo. En algunas realizaciones, R<sub>9</sub> es hidrógeno. En algunas realizaciones, R<sub>9</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>9</sub> es metilo. En algunas realizaciones, R<sub>9</sub> es etilo. En algunas realizaciones, R<sub>9</sub> es heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>9</sub> es -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo. En algunas realizaciones, R<sub>9</sub> es arilo. En algunas realizaciones, R<sub>9</sub> es heteroarilo.

En algunas realizaciones, es un compuesto de Fórmula V en la que L<sub>1</sub> es un enlace, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En algunas realizaciones es un compuesto de Fórmula V en la que L<sub>2</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En realizaciones adicionales, L<sub>1</sub> es un enlace y L<sub>2</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En realizaciones adicionales, L<sub>1</sub> y L<sub>2</sub> son cada uno alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En realizaciones adicionales, L<sub>1</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y L<sub>2</sub> es heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En realizaciones adicionales, L<sub>1</sub> y L<sub>2</sub> son cada uno heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En realizaciones adicionales, L<sub>1</sub> es heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> y L<sub>2</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.

En algunas realizaciones, es un compuesto de Fórmula V en la que R<sub>4</sub> es arilo o heteroarilo; en la que el arilo o heteroarilo está sustituido con por lo menos un R<sub>11</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>4</sub> es arilo sustituido con un R<sub>11</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>4</sub> es arilo sustituido con dos R<sub>11</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>4</sub> es arilo sustituido con tres R<sub>11</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>4</sub> es fenilo sustituido con un R<sub>11</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>4</sub> es fenilo sustituido con dos R<sub>11</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>4</sub> es fenilo sustituido con tres R<sub>11</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>4</sub> es heteroarilo sustituido con un R<sub>11</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>4</sub> es heteroarilo sustituido con dos R<sub>11</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>4</sub> es heteroarilo sustituido con tres R<sub>11</sub>.

En algunas realizaciones es un compuesto de Fórmula V en la que R<sub>4</sub> es fenilo sustituido con por lo menos un R<sub>11</sub>, y cada R<sub>11</sub> es independientemente -OR<sub>10</sub>, -N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -C(=O)R<sub>10</sub>, -C(=O)OR<sub>10</sub>, -C(=O)N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>10</sub>, NR<sub>10</sub>SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, -SOR<sub>10</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, -SO<sub>2</sub>N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido. En algunas realizaciones es un compuesto de Fórmula V en la que R<sub>4</sub> es heteroarilo sustituido con por lo menos un R<sub>11</sub>, y cada R<sub>11</sub> es independientemente -OR<sub>10</sub>, -N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -C(=O)R<sub>10</sub>, -C(=O)OR<sub>10</sub>, -C(=O)N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>10</sub>, NR<sub>10</sub>SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, -SOR<sub>10</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, -SO<sub>2</sub>N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo opcionalmente sustituido, o heteroarilo opcionalmente sustituido. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es -OR<sub>10</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es -N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es -CN. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es -C(=O)R<sub>10</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es -C(=O)OR<sub>10</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es -C(=O)N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>10</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es NR<sub>10</sub>SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es -SOR<sub>10</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es -SO<sub>2</sub>N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es cicloalquilo de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub> opcionalmente sustituido. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es arilo opcionalmente sustituido. En realizaciones adicionales, R<sub>11</sub> es heteroarilo opcionalmente sustituido. En realizaciones más adicionales, cada R<sub>10</sub> es independientemente hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo, o heteroarilo. En algunas realizaciones, R<sub>10</sub> es hidrógeno. En algunas realizaciones, R<sub>10</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>10</sub> es heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En algunas realizaciones, R<sub>10</sub> es -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo. En algunas realizaciones, R<sub>10</sub> es arilo. En algunas realizaciones, R<sub>10</sub> es heteroarilo.

En otra realización es un compuesto de Fórmula V en la que R<sub>1</sub> es C(=O)OR<sub>8</sub>, R<sub>8</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, y L<sub>2</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En una realización adicional, R<sub>2</sub> es -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>. En una realización adicional, R<sub>2</sub> es -C(=O)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>. En una realización adicional, R<sub>2</sub> es -C(=O)OR<sub>9</sub>. En una realización adicional, L<sub>1</sub> es un enlace. En una realización adicional, L<sub>1</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En una realización adicional más, R<sub>4</sub> es fenilo sustituido con un R<sub>11</sub>. En una realización adicional, R<sub>11</sub> es -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub> y R<sub>10</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En una realización adicional, R<sub>11</sub> es -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub> y R<sub>10</sub> es CH<sub>3</sub>.

En otra realización es un compuesto de Fórmula V en la que L<sub>1</sub> es un enlace, R<sub>1</sub> es -CF<sub>3</sub>, L<sub>2</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, R<sub>2</sub> es C(=O)OR<sub>9</sub>, y R<sub>9</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En una realización adicional, R<sub>4</sub> es fenilo sustituido con un R<sub>11</sub>. En una realización adicional más, R<sub>11</sub> es -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub> y R<sub>10</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. En una realización adicional, R<sub>11</sub> es -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub> y R<sub>10</sub> es CH<sub>3</sub>.

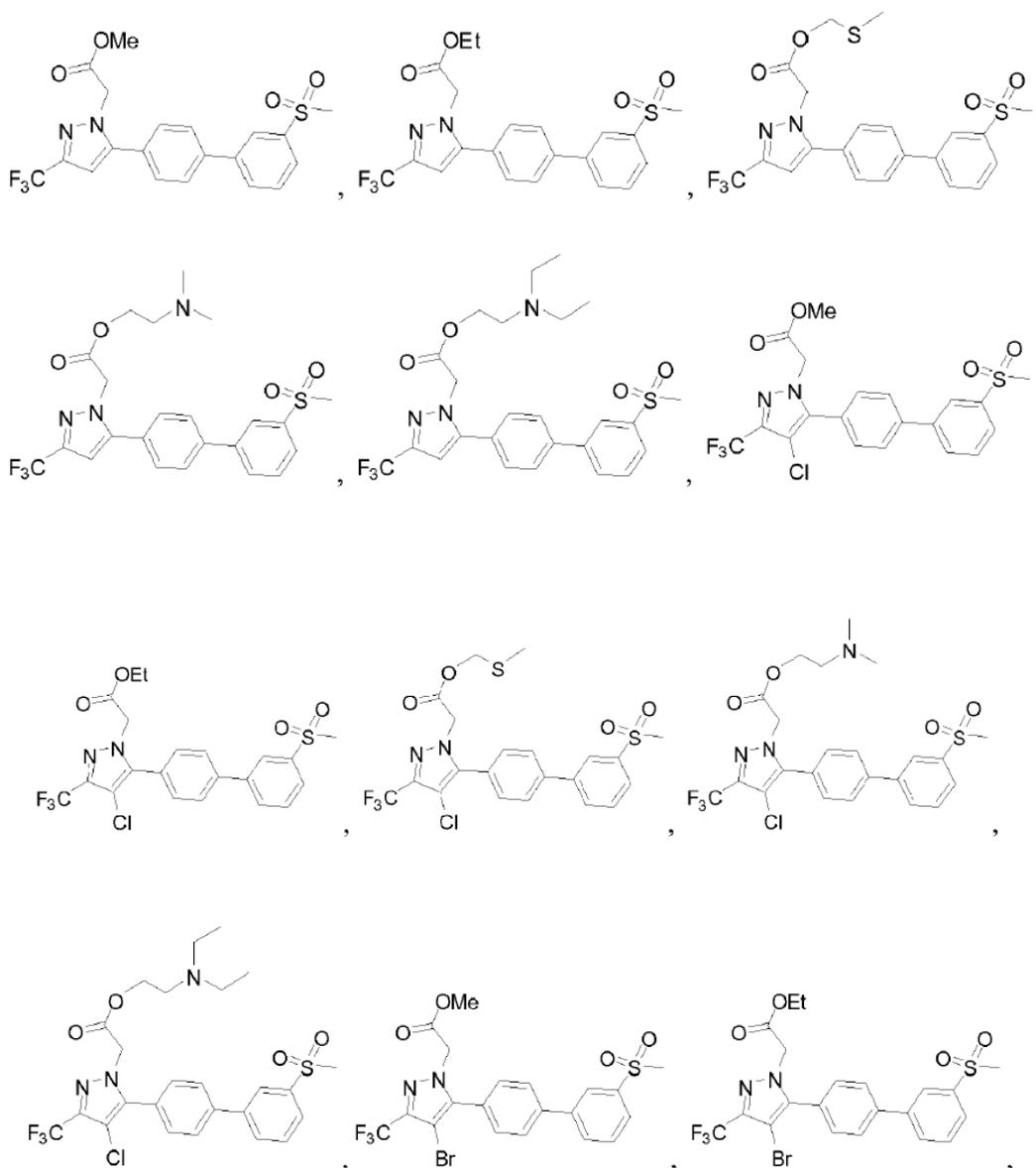
En otra realización es un compuesto de Fórmula V en la que  $L_1$  es un enlace,  $R_1$  es  $-\text{CF}_3$ ,  $L_2$  es alquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ ,  $R_2$  es  $\text{C}(=\text{O})\text{OR}_9$ , y  $R_9$  es heteroalquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ . En una realización adicional,  $R_4$  es fenilo sustituido con un  $R_{11}$ . En una realización adicional más,  $R_{11}$  es  $-\text{SO}_2\text{R}_{10}$  y  $R_{10}$  es alquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ . En una realización adicional,  $R_{11}$  es  $-\text{SO}_2\text{R}_{10}$  y  $R_{10}$  es  $\text{CH}_3$ .

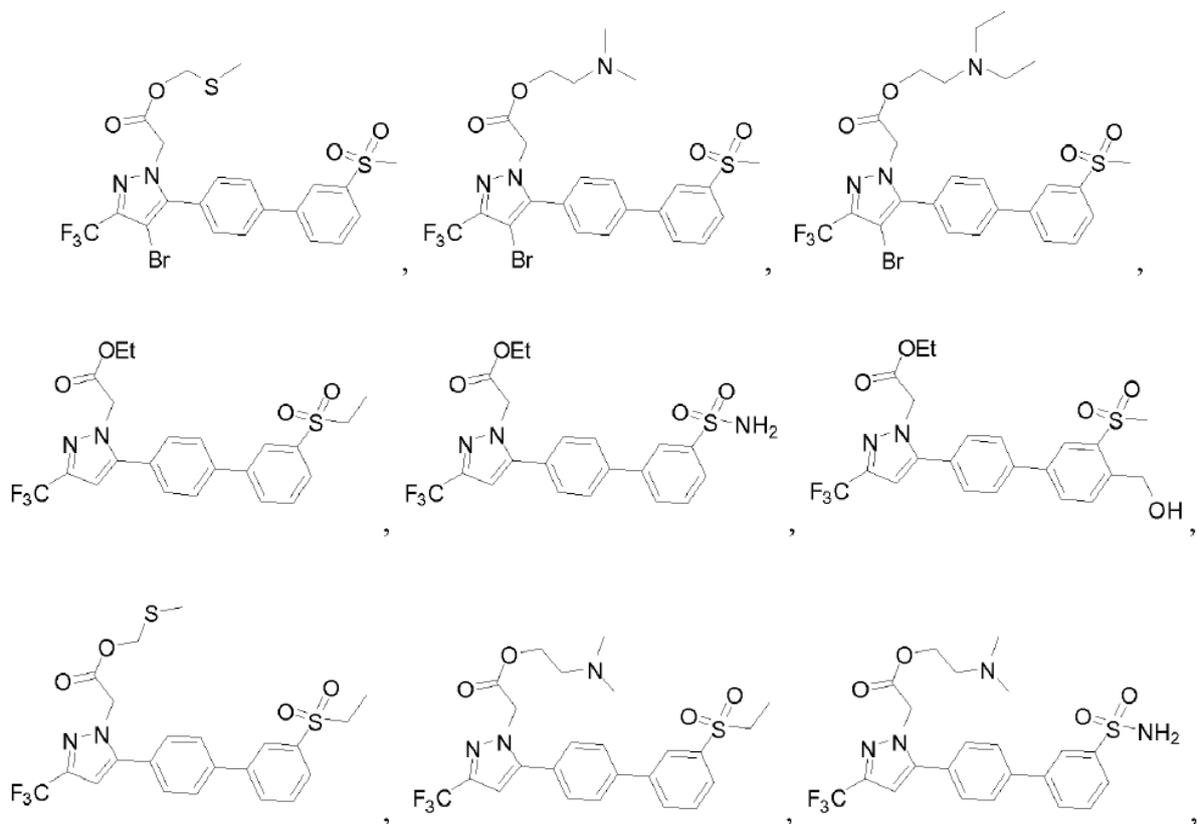
- 5 En otra realización es un compuesto de Fórmula V en la que  $L_1$  es un enlace,  $R_1$  es  $-\text{CF}_3$ ,  $L_2$  es alquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ ,  $R_2$  es  $-\text{C}(=\text{O})\text{OCH}_2\text{SCH}_3$ . En una realización adicional,  $R_4$  es fenilo sustituido con un  $R_{11}$ . En una realización adicional más,  $R_{11}$  es  $-\text{SO}_2\text{R}_{10}$  y  $R_{10}$  es alquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ . En una realización adicional,  $R_{11}$  es  $-\text{SO}_2\text{R}_{10}$  y  $R_{10}$  es  $\text{CH}_3$ .

- 10 En otra realización de las realizaciones mencionadas anteriormente,  $R_3$  es hidrógeno, halógeno, alquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ , o haloalquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ . En algunas realizaciones de las realizaciones mencionadas anteriormente,  $R_3$  es hidrógeno. En algunas realizaciones de las realizaciones mencionadas anteriormente,  $R_3$  es halógeno. En algunas realizaciones de las realizaciones mencionadas anteriormente,  $R_3$  es alquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ . En algunas realizaciones de las realizaciones mencionadas anteriormente,  $R_3$  es haloalquilo de  $\text{C}_1\text{-C}_6$ .

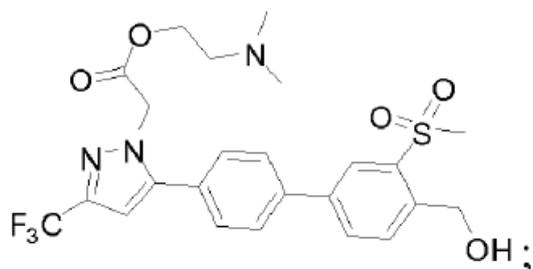
- 15 Cualquier combinación de los grupos descritos anteriormente para las diversas variables se contempla aquí. A lo largo de la memoria descriptiva, una persona experta en el campo puede elegir grupos y sustituyentes de los mismos para proporcionar restos y compuestos estables.

En algunas realizaciones, es un compuesto seleccionado de:





y



5 o una sal farmacéuticamente aceptable, un solvato farmacéuticamente aceptable o un profármaco farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, el (los) agente (s) terapéutico (s) (por ejemplo, el compuesto de Fórmula V) está (n) presente (s) en la composición farmacéutica en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, cualquier compuesto descrito anteriormente es apropiado para cualquier método o composición descrito aquí.

10 En ciertas realizaciones, los compuestos presentados aquí poseen uno o más estereocentros y cada centro existe independientemente en la configuración R o S. Los compuestos presentados aquí incluyen todas las formas diastereomeras, enantiomeras y epímeras, así como las mezclas apropiadas de las mismas. Los estereoisómeros se obtienen, si se desea, por métodos tales como, síntesis estereoselectiva y/o la separación de estereoisómeros mediante columnas cromatográficas quirales. En algunas realizaciones, se usa un compuesto de Fórmula V como un enantiómero individual. En algunas realizaciones, se usa un compuesto de Fórmula V como una mezcla racémica.

Los métodos y formulaciones descritos aquí incluyen el uso de N-óxidos (si es apropiado), formas cristalinas

(también conocidas como polimorfos), o sales farmacéuticamente aceptables de compuestos que tienen las estructuras presentadas aquí, así como metabolitos activos de estos compuestos que tienen el mismo tipo de actividad. En algunas situaciones, los compuestos pueden existir como tautómeros. Todos los tautómeros están incluidos dentro de la presente descripción. Los compuestos descritos aquí pueden existir en formas solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares. Los compuestos descritos aquí pueden existir en forma no solvatada.

En algunos casos, los compuestos de Fórmula V descritos aquí incluyen formas de adición de disolvente o formas cristalinas de los mismos, particularmente solvatos o polimorfos. Los solvatos contienen cantidades estequiométricas o no estequiométricas de un disolvente, y se pueden formar durante el proceso de cristalización con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares. Los hidratos se forman cuando el disolvente es agua, o se forman alcoholatos cuando el disolvente es alcohol.

En algunos casos, los sitios en los compuestos de Fórmula IV descritos aquí son susceptibles a diversas reacciones metabólicas. Por lo tanto, la incorporación de sustituyentes apropiados en los lugares de reacciones metabólicas reducirá, minimizará o eliminará las vías metabólicas. En casos específicos, el sustituyente apropiado para disminuir o eliminar la susceptibilidad del anillo aromático a reacciones metabólicas es, a modo de ejemplo solamente, un halógeno, deuterio o un grupo alquilo.

En algunos casos, los compuestos de Fórmula V descritos aquí están marcados isotópicamente, los cuales son idénticos a los enumerados en las diversas fórmulas y estructuras presentadas aquí, excepto por el hecho de que uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa que se encuentra generalmente en la naturaleza. En algunos ejemplos, uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan por deuterio. En algunos ejemplos, los sitios metabólicos en los compuestos descritos aquí están deuterados. En algunos ejemplos, la sustitución por deuterio proporciona ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, tal como, por ejemplo, una semivida in vivo incrementada o requisitos de dosificación reducidos.

Los compuestos descritos aquí, tales como los compuestos de Fórmula V, están en diversas formas, que incluyen, pero no están limitadas a, formas amorfas, formas molidas y formas en nanopartículas. Además, los compuestos descritos aquí incluyen formas cristalinas, también conocidas como polimorfos. Los polimorfos incluyen las diferentes disposiciones de empaquetamiento cristalino de la misma composición elemental de un compuesto. Los polimorfos usualmente tienen diferentes patrones de difracción de rayos X, puntos de fusión, densidad, dureza, forma cristalina, propiedades ópticas, estabilidad y solubilidad. Diversos factores tales como el disolvente de recristalización, la velocidad de cristalización y la temperatura de almacenamiento pueden provocar que domine una sola forma cristalina.

El cribado y la caracterización de las sales, polimorfos y/o solvatos farmacéuticamente aceptables se puede realizar usando una diversidad de técnicas que incluyen, pero no están limitadas a, análisis térmico, difracción de rayos X, espectroscopía, sorción de vapor y microscopía. Los métodos de análisis térmico se refieren a la degradación termoquímica o los procesos termo-físicos que incluyen, pero no están limitados a, transiciones polimórficas, y tales métodos se usan para analizar las relaciones entre formas polimórficas, determinar la pérdida de peso, encontrar la temperatura de transición vítrea o estudios de compatibilidad con excipientes. Tales métodos incluyen Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC), Calorimetría Diferencial de Barrido Modulada (MDCS), Análisis Termogravimétrico (TGA) y Análisis Termogravimétrico e Infrarrojos (TG/IR). Los métodos de difracción de rayos X incluyen, pero no están limitados a, difractómetros de un solo cristal y de polvo y fuentes de sincrotrón. Las diversas técnicas espectroscópicas usadas incluyen, pero no están limitadas a, Raman, FTIR, UV-VIS y RMN (en estado líquido y sólido). Las diversas técnicas de microscopía incluyen, pero no están limitadas a, microscopía de luz polarizada, Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) con análisis de rayos X de energía dispersiva (EDX), microscopía electrónica de barrido medioambiental con EDX (en atmósfera gaseosa o de vapor de agua), microscopía IR y microscopía Raman.

A lo largo de la memoria descriptiva, los grupos y sus sustituyentes se pueden elegir para proporcionar restos y compuestos estables.

### Síntesis de compuestos

La síntesis de los compuestos descritos aquí se lleva a cabo usando los medios descritos en la bibliografía química, usando los métodos descritos aquí, o mediante una combinación de los mismos. Además, los disolventes, las temperaturas y otras condiciones de reacción aquí presentadas pueden variar.

Los materiales de partida y los reactivos usados para la síntesis de los compuestos descritos aquí se sintetizan o se obtienen de fuentes comerciales, tales como, entre otras, Sigma-Aldrich, FischerScientific (Fischer Chemicals) y AcrosOrganics.

Los compuestos descritos aquí y otros compuestos relacionados que tienen diferentes sustituyentes se sintetizan usando técnicas y materiales descritos aquí así como aquellos que se reconocen en el campo, tal como se describe, por ejemplo, en Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Volumes 1-17 (John Wiley and Sons, 1991);

- 5 Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Volumes 1-5 and Supplementals (Elsevier Science Publishers, 1989); Organic Reactions, Volumes 1-40 (John Wiley and Sons, 1991), Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989), March, Advanced Organic Chemistry 4th Ed., (Wiley 1992); Carey and Sundberg, Advanced Organic Chemistry 4th Ed., Vols. A y B (Plenum 2000, 2001) y Green and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis 3<sup>rd</sup> ed., (Wiley 1999). Los métodos generales para la preparación del compuesto como se describe aquí se pueden derivar de reacciones y las reacciones se pueden modificar mediante el uso de reactivos y condiciones apropiados, para la introducción de los diversos restos encontrados en las fórmulas como se proporciona en este documento. Como guía, se pueden utilizar los siguientes métodos sintéticos.

Formación de enlaces covalentes por reacción de un electrófilo con un nucleófilo

- 10 Los compuestos descritos en este documento se pueden modificar usando varios electrófilos y/o nucleófilos para formar nuevos grupos funcionales o sustituyentes. La Tabla IA titulada "Ejemplos de enlaces covalentes y precursores de los mismos" enumera ejemplos no limitantes seleccionados de enlaces covalentes y grupos funcionales precursores que producen los enlaces covalentes. La Tabla IA se puede usar como guía para la variedad de combinaciones de electrófilos y nucleófilos disponibles que proporcionan enlaces covalentes. Los grupos funcionales precursores se muestran como grupos electrófilos y grupos nucleófilos.

Tabla IA: Ejemplos de enlaces covalentes y precursores de los mismos

Producto de enlace covalente	Electrófilo	Nucleófilo
Carboxamidas	Ésteres activados	aminas / anilinas
Carboxamidas	azidas de acilo	aminas / anilinas
Carboxamidas	haluros de acilo	aminas / anilinas
Ésteres	haluros de acilo	alcoholes / fenoles
Ésteres	nitrilos de acilo	alcoholes / fenoles
Carboxamidas	nitrilos de acilo	aminas / anilinas
Iminas	Aldehídos	aminas / anilinas
Alquilaminas	haluros de alquilo	aminas / anilinas
Ésteres	haluros de alquilo	ácidos carboxílicos
Tioéteres	haluros de alquilo	Tioles
Éteres	haluros de alquilo	alcoholes / fenoles
Tioésteres	sulfonatos de alquilo	Tioles
Ésteres	Anhídridos	alcoholes / fenoles
Carboxamidas	Anhídridos	aminas / anilinas
Tiofenoles	haluros de arilo	Tioles
Arilaminas	haluros de arilo	Aminas
Tioéteres	Azindinas	Tioles
Carboxamidas	ácidos carboxílicos	aminas / anilinas
Ésteres	ácidos carboxílicos	Alcoholes
Hidracinas	Hidrazidas	ácidos carboxílicos
N-acilureas o Anhídridos	carbodiimidas	ácidos carboxílicos
Ésteres	diazoalcanos	ácidos carboxílicos
Tioéteres	Epóxidos	Tioles
Tioéteres	haloacetamidas	Tioles

Ureas	Isocianatos	aminas / anilinas
Uretanos	Isocianatos	alcoholes / fenoles
Tioureas	isotiocianatos	aminas / anilinas
Tioéteres	Maleimidias	Tioles
Alquilaminas	ésteres de sulfonato	aminas / anilinas
Tioéteres	ésteres de sulfonato	Tioles
Sulfonamidas	haluros de sulfonilo	aminas / anilinas
Ésteres de sulfonato	haluros de sulfonilo	fenoles / alcoholes

### Uso de grupos protectores

5 En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger grupos funcionales reactivos, por ejemplo grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxi, cuando estos se desean en el producto final, con el fin de evitar su participación no deseada en las reacciones. Los grupos protectores se usan para bloquear algunos o todos los restos reactivos y evitar que dichos grupos participen en reacciones químicas hasta que se retire el grupo protector. Se prefiere que cada grupo protector sea retirable por un medio diferente. Los grupos protectores que se escinden en condiciones de reacción totalmente dispares cumplen el requisito de retirada diferencial.

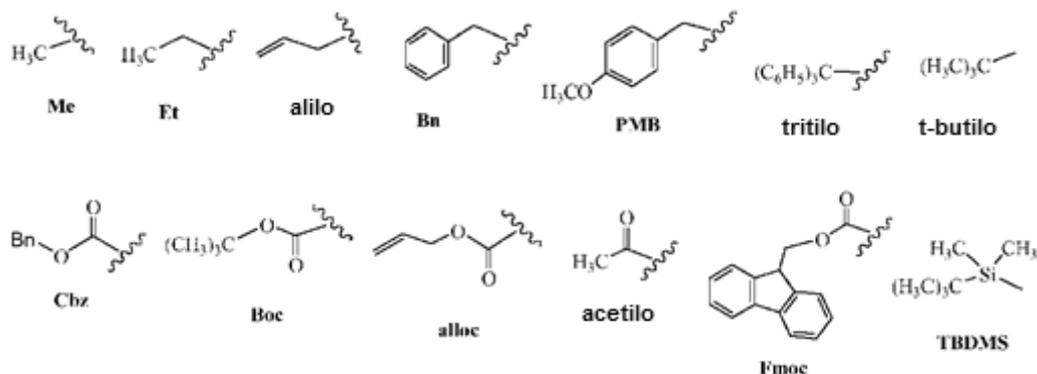
10 Los grupos protectores se pueden retirar mediante ácido, base, condiciones reductoras (como, por ejemplo, hidrogenolisis) y/o condiciones oxidantes. Los grupos tales como tritilo, dimetoxitritilo, acetal y t-butildimetilsililo son lábiles a los ácidos y se pueden usar para proteger restos carboxi e hidroxilo reactivos en presencia de grupos amino protegidos con grupos Cbz, que son retirables por hidrogenolisis, y grupos Fmoc, que son lábiles en bases. Los restos reactivos con ácido carboxílico e hidroxilo se pueden bloquear con grupos lábiles en bases tales como, pero no limitados a, metilo, etilo y acetilo en presencia de aminas bloqueadas con grupos lábiles en ácido tales como carbamato de t-butilo o con carbamatos que son estables tanto en ácido como en base pero hidrolíticamente retirables.

20 El ácido carboxílico y los restos reactivos con hidroxilo también se pueden bloquear con grupos protectores hidrolíticamente retirables tales como el grupo bencilo, mientras que los grupos amina capaces de unirse por hidrógeno con ácidos se pueden bloquear con grupos lábiles en base tales como Fmoc. Los restos reactivos ácido carboxílico se pueden proteger mediante la conversión en compuestos éster simples como se ejemplifica aquí, que incluyen la conversión en ésteres de alquilo, o se pueden bloquear con grupos protectores retirables por oxidación tales como 2,4-dimetoxibencilo, mientras que los grupos amino coexistentes se pueden bloquear con carbamatos de sililo lábiles en flúor.

25 Los grupos bloqueantes alilo son útiles en presencia de grupos protectores de ácido y base dado que los anteriores son estables y se pueden ser retirar subsecuentemente por metal o catalizadores ácido pi. Por ejemplo, un ácido carboxílico bloqueado con alilo se puede desproteger con una reacción catalizada por Pd<sup>0</sup> en presencia de carbamato de t-butilo lábil en ácido o grupos protectores de acetato de amina lábiles en base. Otra forma más de grupo protector es una resina a la que se puede unir un compuesto o intermedio. Con tal de que el residuo se una a la resina, ese grupo funcional está bloqueado y no puede reaccionar. Una vez liberado de la resina, el grupo

30 funcional está disponible para reaccionar.

Típicamente, los grupos de bloqueo/protección se pueden seleccionar de:



Otros grupos protectores, más una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su retirada se describen en Greene and Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd Ed., John Wiley & Sons, Nueva York, NY, 1999, y Kocienski, *Protective Groups*, Thieme Verlag, Nueva York, NY, 1994.

### Cierta terminología

5 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados aquí tienen el mismo significado que se entiende comúnmente a los que pertenece la materia reivindicada. En el caso de que haya una pluralidad de definiciones para los términos aquí, prevalecen las de esta sección. Cuando se hace referencia a una URL u otro identificador o dirección de este tipo, se entiende que tales identificadores pueden cambiar y que la información particular en Internet puede aparecer y desaparecer, pero se puede encontrar información equivalente buscando en internet. La referencia a la misma evidencia la disponibilidad y difusión pública de tal información.

10 En esta solicitud, el uso del singular incluye el plural a menos que se indique específicamente lo contrario. Se debe observar que, como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno" y "el" incluyen referencias al plural a menos que el contexto indique claramente lo contrario. En esta solicitud, el uso de "o" quiere decir "y/o" a menos que se indique lo contrario. Además, el uso de la expresión "que incluye", así como otras formas, tales como "incluir", "incluye" e "incluido", no es limitante.

15 Los encabezamientos de las secciones usados aquí son solo para fines de organización y no se deben interpretar como una limitación del tema descrito.

20 La definición de términos de química estándar se puede encontrar en trabajos de referencia, que incluyen, pero no están limitados a, Carey and Sundberg "Advanced Organic Chemistry 4th Ed.". Vols. A (2000) y B (2001), Plenum Press, Nueva York. A menos que se indique lo contrario, los métodos convencionales de espectroscopía de masas, RMN, HPLC, química de proteínas, bioquímica, técnicas de ADN recombinante y farmacología.

25 A menos que se proporcionen definiciones específicas, la nomenclatura empleada en relación con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica sintética y química médica y farmacéutica descrita aquí son los reconocidos en el campo. Las técnicas estándar se pueden usar para síntesis químicas, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación y administración, y tratamiento de pacientes. Se pueden usar técnicas estándar para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos y cultivo y transformación de tejidos (por ejemplo, electroporación, lipofección). Las reacciones y las técnicas de purificación se pueden realizar, por ejemplo, usando kits de especificaciones del fabricante o como se realizan comúnmente en la técnica o como se describe en el presente documento. Las técnicas y procedimientos anteriores se pueden realizar generalmente de métodos convencionales y como se describe en diversas referencias generales y más específicas que se citan y discuten a lo largo de la presente memoria descriptiva.

30 Como se usa aquí,  $C_1-C_x$  incluye  $C_1-C_2$ ,  $C_1-C_3 \dots C_1-C_x$ .  $C_1-C_x$  se refiere al número de átomos de carbono que componen el resto al que designa (excluyendo los sustituyentes opcionales).

35 Un grupo "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarbonado alifático. Los grupos alquilo pueden incluir o no unidades de insaturación. El resto alquilo puede ser un grupo "alquilo saturado", lo que significa que no contiene ninguna unidad de insaturación (es decir, un doble enlace carbono-carbono o un triple enlace carbono-carbono). El grupo alquilo también puede ser un resto "alquilo insaturado", lo que quiere decir que contiene por lo menos una unidad de insaturación. El resto alquilo, ya sea saturado o insaturado, puede ser ramificado, de cadena lineal o cíclico.

40 El grupo "alquilo" puede tener de 1 a 6 átomos de carbono (cuando aparece aquí, un intervalo numérico tal como "de 1 a 6" se refiere a cada número entero en el intervalo dado, por ejemplo, "de 1 a 6 átomos de carbono" quiere decir que el grupo alquilo puede consistir en 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc., hasta e incluyendo 6 átomos de carbono, aunque la presente definición también incluye la aparición del término "alquilo" en el que no se designa un intervalo numérico). El grupo alquilo de los compuestos descritos aquí se puede designar como "alquilo de  $C_1-C_6$ " o designaciones similares. A modo de ejemplo solamente, "alquilo de  $C_1-C_6$ " indica que hay de uno a seis átomos de carbono en la cadena de alquilo, es decir, la cadena de alquilo se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo, t-butilo, n-pentilo, iso-pentilo, neopentilo, hexilo, propen-3-ilo (alilo), ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo. Los grupos alquilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Dependiendo de la estructura, un grupo alquilo puede ser un monoradical o un dirradical (es decir, un grupo alquilenilo).

50 Un "alcoxi" se refiere a un grupo "-O-alquilo", en el que alquilo es como se define aquí.

55 El término "alquenilo" se refiere a un tipo de grupo alquilo en el que los dos primeros átomos del grupo alquilo forman un doble enlace que no es parte de un grupo aromático. Es decir, un grupo alquenilo comienza con los átomos  $-C(R)=CR_2$ , en la que R se refiere a las porciones restantes del grupo alquenilo, que pueden ser iguales o diferentes. Los ejemplos no limitantes de un grupo alquenilo incluyen  $-CH=CH_2$ ,  $-C(CH_3)=CH_2$ ,  $-CH=CHCH_3$ ,  $-CH=C(CH_3)_2$  y  $-C(CH_3)=CHCH_3$ . El resto alquenilo puede ser ramificado, de cadena lineal o cíclico (en cuyo caso, también se lo conocería como grupo "cicloalquenilo"). Los grupos alquenilo pueden tener de 2 a 6 carbonos. Los grupos alquenilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Dependiendo de la estructura, un grupo alquenilo puede

ser un monoradical o un diradical (es decir, un grupo alquenileno).

El término "alquinilo" se refiere a un tipo de grupo alquilo en el que los dos primeros átomos del grupo alquilo forman un triple enlace. Es decir, un grupo alquinilo comienza con los átomos  $-C\equiv CR$ , en la que R se refiere a las porciones restantes del grupo alquinilo. Los ejemplos no limitantes de un grupo alquinilo incluyen  $-C\equiv CH$ ,  $-C\equiv CCH_3$ ,  $-C\equiv CCH_2CH_3$  y  $-C\equiv CCH_2CH_2CH_3$ . La porción "R" del resto alquinilo puede ser ramificada, de cadena lineal o cíclica. Un grupo alquinilo puede tener de 2 a 6 carbonos. Los grupos alquinilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Dependiendo de la estructura, un grupo alquinilo puede ser un monoradical o un diradical (es decir, un grupo alquenileno).

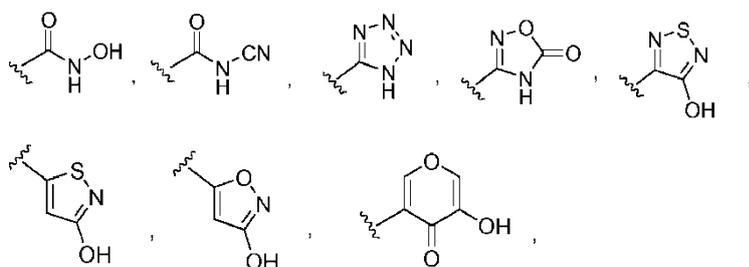
"Amino" se refiere a un grupo  $-NH_2$  grupo.

- 10 El término "alquilamina" o "alquilamino" se refiere al grupo  $-N(\text{alquil})_xH_y$ , en la que alquil es como se define aquí y x e y se seleccionan del grupo  $x = 1, y = 1$  y  $x = 2, y = 0$ . Cuando  $x = 2$ , los grupos alquilo, tomados junto con el nitrógeno al que están unidos, pueden formar opcionalmente un sistema de anillo cíclico. "Dialquilamino" se refiere a un grupo  $-N(\text{alquil})_2$ , en el que alquilo es como se define aquí.

- 15 El término "aromático" se refiere a un anillo plano que tiene un sistema de electrones  $\pi$  deslocalizados que contiene  $4n + 2 \pi$  electrones, donde n es un número entero. Los anillos aromáticos se pueden formar a partir de cinco, seis, siete, ocho, nueve o más de nueve átomos. Los aromáticos pueden estar opcionalmente sustituidos. El término "aromático" incluye tanto grupos arilo (por ejemplo, fenilo, naftalenilo) como grupos heteroarilo (por ejemplo, piridinilo, quinolinilo).

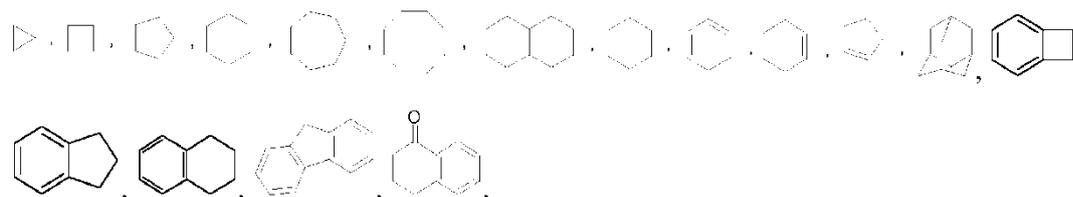
- 20 Como se usa aquí, el término "arilo" se refiere a un anillo aromático en el que cada uno de los átomos que forman el anillo es un átomo de carbono. Los anillos de arilo pueden estar formados por cinco, seis, siete, ocho, nueve o más de nueve átomos de carbono. Los grupos arilo pueden estar opcionalmente sustituidos. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no están limitados a, fenilo y naftalenilo. Dependiendo de la estructura, un grupo arilo puede ser un monoradical o un diradical (es decir, un grupo arileno).

- 25 "Carboxi" se refiere a  $-CO_2H$ . En algunos casos, los restos carboxi se pueden reemplazar con un "bioisótero de ácido carboxílico", que se refiere a un grupo funcional o resto que exhibe propiedades físicas y/o químicas similares al resto ácido carboxílico. Un bioisótero de ácido carboxílico tiene similares propiedades biológicas a las de un grupo ácido carboxílico. Un compuesto con un resto ácido carboxílico puede tener el resto ácido carboxílico intercambiado con un bioisótero de ácido carboxílico y tener propiedades físicas y/o biológicas similares cuando se compara con el compuesto que contiene ácido carboxílico. Por ejemplo, un bioisótero de ácido carboxílico se ionizaría a pH fisiológico hasta aproximadamente el mismo punto que un grupo ácido carboxílico. Los ejemplos de bioisóteros de un ácido carboxílico incluyen, pero no están limitados a,



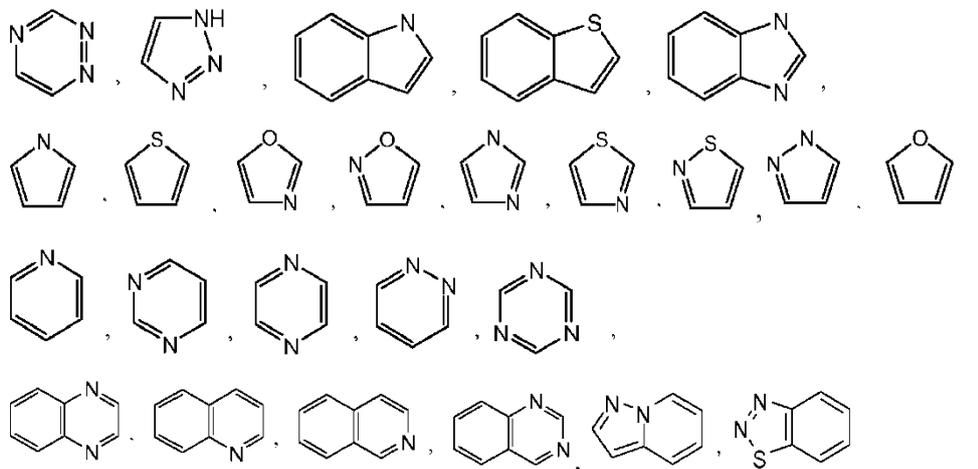
y similares.

- 35 El término "cicloalquilo" se refiere a un radical no aromático monocíclico o policíclico, en el que cada uno de los átomos que forman el anillo (es decir, átomos de la cadena principal) es un átomo de carbono. Los cicloalquilos pueden ser saturados, o parcialmente insaturados. Los cicloalquilos pueden estar condensados con un anillo aromático (en cuyo caso, el cicloalquilo está unido por medio de un átomo del anillo no aromático). Los grupos cicloalquilo incluyen grupos que tienen de 3 a 10 átomos en el anillo. Los ejemplos ilustrativos de grupos cicloalquilo incluyen, pero no están limitados a, los siguientes restos:



Los términos "heteroarilo" o, alternativamente "heteroaromático" se refieren a un grupo arilo que incluye uno o más heteroátomos del anillo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre. Un resto "heteroaromático" o "heteroarilo" que contiene N se refiere a un grupo aromático en el que por lo menos uno de los átomos del esqueleto del anillo es un átomo de nitrógeno. Los grupos heteroarilo policíclico pueden estar condensados o no condensados. Los ejemplos ilustrativos de grupos heteroarilo incluyen los siguientes restos:

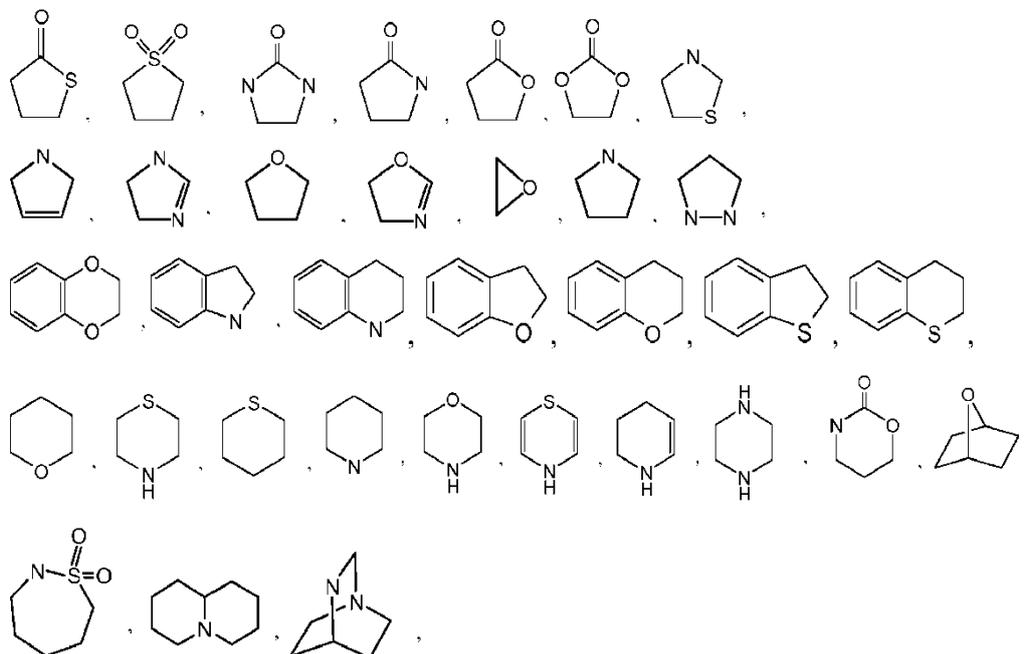
5



10 y similares.

Un grupo "heterocicloalquilo" o grupo "heteroalícyclico" se refiere a un grupo cicloalquilo, en el que por lo menos un átomo del esqueleto del anillo es un heteroátomo seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre. Los radicales se pueden condensar con un arilo o heteroarilo. Los ejemplos ilustrativos de grupos heterocicloalquilo, también denominados heterociclos no aromáticos, incluyen:

15



20

y similares. El término heteroalícyclico también incluye todas las formas de anillo de los carbohidratos, que incluyen, pero no están limitadas a los monosacáridos, los disacáridos y los oligosacáridos. A menos que se mencione lo contrario, los heterocicloalquilos tienen de 2 a 10 carbonos en el anillo. Se entiende que cuando se refiere al número de átomos de carbono en un heterocicloalquilo, el número de átomos de carbono en el heterocicloalquilo no es el mismo que el número total de átomos (incluyendo los heteroátomos) que componen el heterocicloalquilo (es decir, átomos del esqueleto del anillo de heterocicloalquilo).

25

El término "halo" o, alternativamente, "halógeno" quiere decir fluoro, cloro, bromo y yodo.

El término “haloalquilo” se refiere a un grupo alquilo que está sustituido con uno o más halógenos. Los halógenos pueden ser el mismo o pueden ser diferentes. Los ejemplos no limitantes de haloalquilos incluyen -CH<sub>2</sub>Cl, -CF<sub>3</sub>, -CHF<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -CF(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, y similares.

5 Los términos “fluoroalquilo” y “fluoroalcoxi” incluyen grupos alquilo y alcoxi, respectivamente, que están sustituidos con uno o más átomos de flúor. Los ejemplos no limitantes de fluoroalquilos incluyen -CF<sub>3</sub>, -CHF<sub>2</sub>, -CH<sub>2</sub>F, -CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -CF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -CF(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, y similares. Los ejemplos no limitantes de grupos fluoroalcoxi incluyen -OCF<sub>3</sub>, -OCHF<sub>2</sub>, -OCH<sub>2</sub>F, -OCH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -OCF<sub>2</sub>CF<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>, -OCF(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, y similares.

10 El término “heteroalquilo” se refiere a un radical alquilo en el que uno o más átomos de la cadena del esqueleto se selecciona de un átomo distinto de carbono, por ejemplo, oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo, silicio, o combinaciones de los mismos. El (Los) heteroátomo (s) se pueden colocar en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo. Los ejemplos incluyen, pero no están limitados a, -CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-O-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-NH-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-S-CH<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S(O)-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-S(O)<sub>2</sub>-CH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-NH-OCH<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-O-Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>, -CH<sub>2</sub>-CH=N-OCH<sub>3</sub>, y -CH=CH-N(CH<sub>3</sub>)-CH<sub>3</sub>. Además, hasta dos heteroátomos pueden ser consecutivos, tal como, a modo de ejemplo, -CH<sub>2</sub>-NH-OCH<sub>3</sub> y -CH<sub>2</sub>-O-Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>.  
15 Excluyendo el número de heteroátomos, un “heteroalquilo” puede tener de 1 a 6 átomos de carbono.

El término “enlace” o “enlace sencillo” se refiere a un enlace químico entre dos átomos, o dos restos cuando los átomos unidos por el enlace se considera que son una parte de una estructura más grande.

El término “resto” se refiere a un segmento específico o grupo funcional de una molécula. Los restos químicos son a menudo entidades químicas reconocidas incrustadas en o añadidas a una molécula.

20 Como se usa aquí, el sustituyente “R” que aparece solo y sin un número de designación se refiere a un sustituyente seleccionado de entre alquilo, heteroalquilo, alqueno, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (unido por medio de un carbono del anillo), y heterocicloalquilo.

25 La expresión “opcionalmente sustituido” o “sustituido” quiere decir que el grupo de referencia puede estar sustituido con uno o más grupos adicionales seleccionados individual e independientemente de alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, -OH, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, alquilsulfóxido, arilsulfóxido, alquilsufona, arilsufona, -CN, alquino, alquilalquino de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, halo, acilo, aciloxi, -CO<sub>2</sub>H, -CO<sub>2</sub>-alquilo, nitro, haloalquilo, fluoroalquilo, y amino, que incluyen grupos amino mono- and di-sustituidos (por ejemplo, -NH<sub>2</sub>, -NHR, -N(R)<sub>2</sub>), y los derivados protegidos de los mismos. A modo de ejemplo, unos sustituyente opcionales pueden ser L<sup>s</sup>R<sup>s</sup>, en la que cada L<sup>s</sup> se selecciona independientemente de un enlace, -O-, -C(=O)-, -S-, -S(=O)-, -S(=O)<sub>2</sub>-, -NH-, -NHC(O)-, -C(O)NH-, S(=O)<sub>2</sub>NH-, -NHS(=O)<sub>2</sub>, -OC(O)NH-, -NHC(O)O-, -(alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)-, o -(alqueno de C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>)-; y cada R<sup>s</sup> se selecciona independientemente de entre H, (alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), (cicloalquilo de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>), arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, y heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>. Los grupos protectores que pueden formar los derivados protectores de los sustituyentes anteriores se encuentran en fuentes tales como Greene and Wuts, anteriores.  
30

35 Los métodos y formulaciones descritos aquí incluyen el uso de formas cristalinas (también conocidas como polimorfos), o sales farmacéuticamente aceptables de compuestos que tienen la estructura de las Fórmulas I, II, III, IV, V o VI, así como metabolitos activos de estos compuestos que tienen el mismo tipo de actividad. En algunas situaciones, los compuestos pueden existir como tautómeros. Todos los tautómeros están incluidos dentro del alcance de los compuestos presentados aquí. Además, los compuestos descritos aquí pueden existir en formas no solvatadas y solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares. Las formas solvatadas de los compuestos presentados aquí también se considera que están descritas aquí.  
40

### Métodos de tratamiento y prevención

45 Se describen aquí métodos para la estimulación de la actividad de LXR en una célula poniendo en contacto la célula con un modulador de LXR. Los ejemplos de tales moduladores de LXR se describen anteriormente. Otros moduladores de LXR que se pueden usar para estimular la actividad de LXR se identifican usando ensayos de selección que seleccionan tales compuestos, como se describe en detalle aquí.

#### Métodos profilácticos

50 Se describen aquí métodos para prevenir el envejecimiento de la piel en un sujeto mediante la administración al sujeto de un modulador de LXR. La administración de un modulador de LXR profiláctico puede ocurrir antes de la manifestación de los síntomas de envejecimiento de la piel, de modo que se previene el envejecimiento de la piel o, alternativamente, se retrasa en su progresión.

#### Métodos terapéuticos

55 Se describen aquí métodos para modular la actividad de LXR para el tratamiento del envejecimiento de la piel que implican el contacto de una célula con un modulador de LXR que induce la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1 y/o decorina y/o inhibe la expresión de TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8. Estos métodos se realizan in vitro (por ejemplo, cultivando la

5 célula con un modulador de LXR) o, alternativamente, in vivo (por ejemplo, administrando un modulador de LXR a un sujeto). Como tal, los métodos están dirigidos al tratamiento de un sujeto afectado por el envejecimiento de la piel que se beneficiaría de la inducción de la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1 y/o decorina y/o la inhibición de la expresión de TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8.

Los moduladores de LXR inducen la expresión de genes diferenciales en los queratinocitos. En los queratinocitos humanos, los moduladores de LXR inducen el marcador de diferenciación temprana del queratinocito involucrina (IVL), así como los marcadores de diferenciación tardía loricrina (LOR), filagrina (FLG) y transglutaminasa 1 (TGM1). El modulador de LXR puede inducir la expresión de estos genes directa o indirectamente.

10 Los moduladores de LXR incrementan la expresión de genes implicados en la síntesis de ácidos grasos y el transporte de lípidos en la piel. El ligando de LXR indujo la expresión de genes implicados en la síntesis de ácidos grasos, a saber, SREBF1, SREBF2, FASN y SCD, y genes implicados en el transporte de colesterol y fosfolípidos, a saber, APOE, APOD, ABCG1, ABCA1, ABCA12, ABCA2 y ABCA13. Los moduladores de LXR incrementan la expresión de LASS4 y SMPD2 en la piel.

### 15 **Composiciones farmacéuticas y métodos de administración de moduladores de LXR**

Los moduladores de LXR se administran a sujetos en una forma biológicamente compatible apropiada para administración tópica para tratar o prevenir el envejecimiento de la piel. Por "forma biológicamente compatible apropiada para administración tópica" se entiende una forma del modulador de LXR a administrar en la que cualquier efecto tóxico es superado por los efectos terapéuticos del modulador. El término "sujeto" pretende incluir 20 organismos vivos en los que se puede provocar una respuesta inmune, por ejemplo, mamíferos. La administración de moduladores de LXR como se describe aquí puede ser en cualquier forma farmacológica que incluye una cantidad terapéuticamente efectiva de un modulador de LXR solo o en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

25 Las composiciones terapéuticas o farmacéuticas descritas aquí se pueden administrar por cualquier otra ruta apropiada conocida en la técnica que incluye, por ejemplo, oral, intravenosa, subcutánea, intramuscular o transdérmica, o administración a células en protocolos de tratamiento ex vivo. La administración puede ser tanto rápida como mediante inyección o durante un período de tiempo como por infusión lenta o administración de formulación de liberación lenta. Para tratar o prevenir el envejecimiento de la piel, la administración de las composiciones terapéuticas o farmacéuticas descritas aquí se puede realizar, por ejemplo, mediante administración 30 tópica.

La administración tópica de un modulador de LXR se puede presentar en forma de un aerosol, una composición farmacéutica semisólida, un polvo o una disolución. Por la expresión "composición semisólida" se entiende una pomada, crema, bálsamo, gelatina u otra composición farmacéutica de consistencia sustancialmente similar apropiada para la aplicación a la piel. Los ejemplos de composiciones semisólidas se dan en el Capítulo 17 de The Theory and Practice of Industrial Pharmacy, Lachman, Lieberman and Kanig, publicado por Lea y Febiger (1970) y 35 en el Capítulo 67 de Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª Edición (1975) publicado por Mack Publishing Company.

Los parches dérmicos o cutáneos son otro método para la administración transdérmica de las composiciones terapéuticas o farmacéuticas descritas aquí. Los parches pueden proporcionar un potenciador de la absorción tal como DMSO para aumentar la absorción de los compuestos. Los parches pueden incluir aquellos que controlan la velocidad de administración de fármaco a la piel. Los parches pueden proporcionar una variedad de sistemas de dosificación que incluyen un sistema de depósito o un sistema monolítico, respectivamente. El diseño del depósito puede tener, por ejemplo, cuatro capas: la capa adhesiva que entra en contacto directo con la piel, la membrana de control, que controla la difusión de moléculas de fármaco, el depósito de moléculas de fármaco y un soporte resistente al agua. Tal diseño proporciona cantidades uniformes del fármaco durante un período de tiempo específico, la velocidad de administración debe ser menor que el límite de saturación de diferentes tipos de piel. El diseño monolítico, por ejemplo, típicamente tiene solo tres capas: la capa adhesiva, una matriz polimérica que contiene el compuesto y un soporte impermeable. Este diseño aporta una cantidad de saturación de medicamento a la piel. Por ello, la administración es controlada por la piel. A medida que la cantidad de fármaco disminuye en el 40 parche por debajo del nivel de saturación, la velocidad de administración disminuye.

Una cantidad terapéuticamente efectiva de un modulador de LXR puede variar según factores tales como el estado de envejecimiento de la piel, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad del modulador de LXR para provocar una respuesta deseada en el individuo. El régimen de dosificación se puede ajustar para proporcionar la respuesta estética óptima. Por ejemplo, varias dosis divididas se pueden administrar diariamente, o la dosis se puede reducir proporcionalmente según lo indicado por las exigencias del envejecimiento de la piel. 45

Los moduladores de LXR también se pueden unir o conjugar con agentes que proporcionan propiedades farmacéuticas o farmacodinámicas deseables. Por ejemplo, los moduladores de LXR se pueden unir de forma estable a un polímero tal como polietilenglicol para obtener propiedades deseables de solubilidad, estabilidad,

semivida y otras propiedades farmacéuticamente ventajosas (véase, por ejemplo, Davis et al., *Enzyme Eng.* 4: 169-73 (1978); Burnham NL, *Am. J. Hosp. Pharm.* 51: 210 - 18 (1994)).

Los moduladores de LXR pueden estar en una composición que ayuda a la administración al citosol de una célula. Por ejemplo, un modulador de LXR se puede conjugar con un resto portador tal como un liposoma que es capaz de administrar el modulador en el citosol de una célula. Tales métodos son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Amselem S et al., *Chem. Phys. Lipids* 64: 219-37 (1993)).

Los moduladores de LXR se pueden emplear en forma de preparaciones farmacéuticas. Tales preparaciones se hacen de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica. Una preparación preferida utiliza un vehículo de disolución salina fisiológica, pero se contempla que también se pueden usar otros vehículos farmacéuticamente aceptables tales como concentraciones fisiológicas de otras sales no tóxicas, disolución acuosa de glucosa al cinco por ciento, agua estéril o similares. Como se usa aquí "vehículo farmacéuticamente aceptable" incluye cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, revestimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes retardantes de la absorción e isotónicos, 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 modulador de LXR, se contempla su uso en las composiciones cosméticas. También se pueden incorporar en las composiciones compuestos activos suplementarios. También puede ser deseable que esté presente un tampón apropiado en la composición. Tales disoluciones se pueden, si se desea, liofilizar y almacenar en una ampolla estéril lista para la reconstitución mediante la adición de agua estéril para la inyección rápida. El disolvente primario puede ser acuoso o alternativamente no acuoso.

Las composiciones antienvjecimiento de la piel descritas aquí pueden comprender adicionalmente un ligando de receptor de ácido retinoico (RAR). Los ligandos de RAR útiles incluyen, por ejemplo, el todo-trans-ácido retinoico (tretinoína) y/o los ligandos de receptores de ácido retinoico sintéticos. La tretinoína se vende con marcas comerciales tales como Atragen®, Avita®, Renova®, Retin-A®, Vesanoid®, y Vitinoin®. Los ligandos de receptor de ácido retinoico sintéticos ejemplares incluyen tazaroteno (Avage®; 6-[2-(4,4-dimetiltiocroman-6-il)etnil]piridin-3-carboxilato de etilo) y Differin® (adapaleno; ácido 6-[3-(1-adamantil)-4-metoxifenil]-2-naftoico, CD271).

Las composiciones tópicas se pueden preparar combinando la composición antienvjecimiento de la piel con diluyentes y vehículos farmacéuticamente aceptables convencionales comúnmente usados en formulaciones tópicas secas, líquidas, cremas y aerosoles. La pomada y las cremas se pueden, por ejemplo, formular con una base acuosa u aceitosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes apropiados. Una base ejemplar es el agua. Los agentes espesantes que se pueden usar según la naturaleza de la base incluyen estearato de aluminio, alcohol cetosteárico, propilenglicol, polietilenglicoles, lanolina hidrogenada y similares. Las lociones se pueden formular con una base acuosa y, en general, también incluirán uno o más de los siguientes: agentes estabilizantes, emulsionantes, dispersantes, suspensores, espesantes, colorantes, perfumes y similares. Los polvos se pueden formar con la ayuda de cualquier base de polvo apropiada, por ejemplo, talco, lactosa, almidón y similares. Las gotas se pueden formular con una base acuosa o una base no acuosa, y también pueden incluir uno o más agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes solubilizantes.

La composición tópica puede, por ejemplo, tomar la forma de hidrogel basado en poli(ácido acrílico) o poliacrilamida; en forma de una pomada, por ejemplo, con polietilenglicol (PEG) como vehículo, como la pomada estándar DAB 8 (50% PEG 300, 50% PEG 1500); o como una emulsión, especialmente una microemulsión basada en agua en aceite o aceite en agua, opcionalmente con liposomas añadidos. Los aceleradores de la permeación apropiados (agentes de arrastre) incluyen derivados de sulfóxido tales como dimetilsulfóxido (DMSO) o decilmetsulfóxido (decil-MSO) y transcutoil (dietilenglicol-monoetil-éter) o ciclodextrina; así como pirrolidonas, por ejemplo, 2-pirrolidona, N-metil-2-pirrolidona, ácido 2-pirrolidona-5-carboxílico, o la N-(2-hidroxi-etil)-2-pirrolidona biodegradable y los ésteres de ácidos grasos de los mismos; derivados de urea tales como dodecilurea, 1,3-didodecilurea y 1,3-difenilurea; terpenos, por ejemplo D-limoneno, mentona,  $\alpha$ -terpinol, carvol, óxido de limoneno o 1,8-cineol.

Las pomadas, pastas, cremas y geles también pueden contener excipientes, tales como almidón, tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico y talco, o mezclas de los mismos. Los polvos y aerosoles también pueden contener excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Las disoluciones de metales antimicrobianos nanocrystalinos se pueden convertir en aerosoles o pulverizaciones por cualquiera de los medios conocidos usados rutinariamente para fabricar productos farmacéuticos en aerosol. En general, tales métodos comprenden presurizar o proporcionar un medio para presurizar un recipiente de la disolución, usualmente con un vehículo gaseoso, y hacer pasar el gas presurizado a través de un pequeño orificio. Los aerosoles pueden contener adicionalmente propulsores habituales, tales como clorofluorohidrocarburos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

El vehículo también puede contener otros excipientes farmacéuticamente aceptables para modificar o mantener el pH, la osmolaridad, la viscosidad, la transparencia, el color, la esterilidad, la estabilidad, la velocidad de disolución o el olor de la formulación. Las composiciones antienvjecimiento de la piel también pueden comprender además antioxidantes, filtros solares, retinoides naturales (por ejemplo, retinol) y otros aditivos comúnmente encontrados en las composiciones para el tratamiento de la piel.

La administración de la dosis se puede repetir dependiendo de los parámetros farmacocinéticos de la formulación de dosificación y de la vía de administración usada.

Es especialmente ventajoso formular composiciones en forma de unidad de dosificación para facilidad de administración y uniformidad de dosificación. La forma de unidad de dosificación como se usa aquí se refiere a unidades físicamente discretas apropiadas como dosificaciones unitarias para los sujetos mamíferos a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación para las formas de unidad de dosificación está dictada y depende directamente de (a) las características únicas del modulador de LXR y el efecto terapéutico particular que se desea conseguir y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de composición de tal compuesto activo para el tratamiento de la sensibilidad en individuos. La dosis específica se puede calcular fácilmente por una persona de experiencia media en la técnica, por ejemplo, según el peso corporal aproximado o el área superficial del cuerpo del paciente o el volumen del espacio corporal a ocupar. La dosis también se calculará dependiendo de la ruta de administración particular seleccionada. Un refinado adicional de los cálculos necesarios para determinar la dosis apropiada para el tratamiento se hace rutinariamente por las personas de experiencia media en la técnica. Tales cálculos se pueden realizar sin una experimentación excesiva por una persona experta en la técnica a la luz de las actividades del modulador de LXR descritas aquí en preparaciones de ensayo de células diana. Las dosis exactas se determinan junto con los estudios de dosis-respuesta estándar. Se entenderá que la cantidad de la composición administrada de hecho será determinada por un facultativo, a la luz de las circunstancias relevantes que incluyen la afección o afecciones a tratar, la elección de composición a administrar, la edad, el peso, y la respuesta del paciente individual, la severidad de los síntomas del paciente, y la ruta de administración escogida.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de tales moduladores de LXR se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos estándar en cultivos celulares o animales de experimentación, por ejemplo, para determinar la LD<sub>50</sub> (la dosis letal para el 50% de la población) y la ED<sub>50</sub> (la dosis terapéuticamente efectiva en el 50% de la población). La relación de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y se puede expresar como la relación LD<sub>50</sub> / ED<sub>50</sub>. Se prefieren los moduladores de LXR que muestran grandes índices terapéuticos. Aunque se pueden usar moduladores de LXR que exhiben efectos secundarios tóxicos, se debe tener cuidado en diseñar un sistema de administración que dirija dichos moduladores al sitio del tejido afectado para minimizar el daño potencial a las células no infectadas y, por lo tanto, reducir los efectos secundarios.

Los datos obtenidos de los ensayos de cultivo celular y los estudios en animales se pueden usar para formular un intervalo de dosificación para uso en seres humanos. La dosificación de tales moduladores de LXR se encuentra preferentemente dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la ED<sub>50</sub> con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y de la vía de administración utilizada. Para cualquier modulador de LXR usado en un método descrito aquí, la dosis terapéuticamente efectiva se puede estimar inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Se puede formular una dosis en modelos animales para lograr un intervalo de concentración en plasma circulante que incluya el IC<sub>50</sub> (es decir, la concentración del modulador de LXR que consigue una inhibición de la mitad del máximo de los síntomas) como se determina en cultivo celular. Tal información se puede usar para determinar con mayor precisión las dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma se pueden medir, por ejemplo, mediante cromatografía de líquidos de alta resolución.

La monitorización de la influencia de los moduladores de LXR en la inducción de la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1 y/o decorina y/o la inhibición de la expresión TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8 se aplica en ensayos clínicos. Por ejemplo, la efectividad de un modulador de LXR se controla en ensayos clínicos de sujetos que exhiben incrementada expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1 y/o decorina y/o expresión disminuida de TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8. En tales ensayos clínicos, la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3, y/o IL-8 se usa como una "lectura" o marcadores de los diferentes fenotipos de envejecimiento de la piel.

De este modo, para estudiar el efecto de los moduladores de LXR sobre el envejecimiento de la piel, por ejemplo, en un ensayo clínico, las células se aíslan y se prepara y analiza ARN para determinar los niveles de expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8. Los niveles de expresión génica (es decir, un patrón de expresión génica) se cuantifican, por ejemplo, mediante análisis de transferencia Northern o RT-PCR, midiendo la cantidad de proteína producida, o midiendo los niveles de actividad de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8, todos mediante métodos bien conocidos por las personas de experiencia media en la técnica. De esta forma, el patrón de expresión génica sirve como marcador, indicativo de la respuesta fisiológica de las células al modulador de LXR. En consecuencia, este estado de respuesta se determina antes, y en diversos puntos durante, el tratamiento del individuo con el modulador de LXR.

También se describe un método para monitorizar la efectividad del tratamiento de un sujeto con un modulador de

LXR que comprende las etapas de (i) obtener una muestra de preadministración de un sujeto antes de la administración del modulador de LXR; (ii) detectar el nivel de expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3, y/o IL-8; (iii) obtener una o más muestras post-administración del sujeto; (iv) detectar el nivel de expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8 en las muestras posteriores a la administración; (v) comparar el nivel de expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3, y/o IL-8 en la muestra previa a la administración con la expresión de TIMP1, ABCA12, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8 en la muestra o muestras posteriores a la administración; y (vi) alterar la administración del modulador de LXR al sujeto en consecuencia.

Por ejemplo, una administración incrementada del modulador de LXR puede ser deseable para incrementar la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1 y/o decorina a niveles más altos que los detectados y/o reducir la expresión de TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8 a niveles inferiores a los detectados, es decir, para incrementar la efectividad del modulador de LXR. Alternativamente, la disminución de la administración del modulador de LXR puede ser deseable para disminuir la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1 y/o decorina a niveles inferiores a los detectados o la actividad y/o para incrementar la expresión de TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8 a niveles superiores a los detectados, es decir, para disminuir la efectividad del modulador de LXR. Por consiguiente, se puede usar la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8 como un indicador de la efectividad de un modulador de LXR, incluso en ausencia de una respuesta fenotípica observable.

Además, en el tratamiento del envejecimiento de la piel, las composiciones que contienen moduladores de LXR se administran de forma exógena, y es deseable alcanzar ciertos niveles objetivo de modulador de LXR en sueros, en cualquier compartimento tisular deseado, y/o en el tejido afectado. Por lo tanto, es ventajoso poder monitorizar los niveles de modulador de LXR en un paciente o en una muestra biológica que incluye una muestra de biopsia de tejido obtenida de un paciente y, en algunos casos, también monitorizar los niveles de expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, Expresión de SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8. Por consiguiente, también se describen aquí métodos para detectar la presencia del modulador de LXR en una muestra de un paciente usando las técnicas descritas aquí.

### Ensayos de cribado

Los niveles de expresión de citoquinas y metaloproteasas descritos aquí se usan para facilitar el diseño y/o la identificación de compuestos que tratan el envejecimiento de la piel por medio de un mecanismo basado en LXR. Por consiguiente, se proporcionan aquí métodos (también denominados aquí "ensayos de cribado") para identificar moduladores, es decir, moduladores de LXR, que tienen un efecto estimulante o inhibidor sobre, por ejemplo, la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8. Los compuestos de este modo identificados se usan como compuestos anti-envejecimiento de la piel como se describe aquí en otra parte.

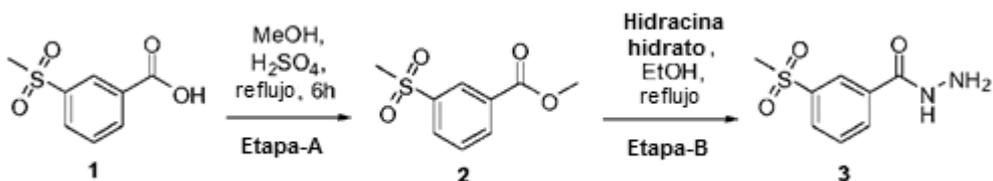
Un ensayo de cribado ejemplar es un ensayo basado en células en el que una célula que expresa LXR se pone en contacto con un compuesto de ensayo y la capacidad del compuesto de ensayo para modular la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8 por medio de un mecanismo basado en LXR. Determinar la capacidad del compuesto de ensayo para modular la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3, y/o IL-8 se consigue monitorizando, por ejemplo, los niveles de ADN, ARNm o proteína, o midiendo los niveles de actividad de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, TNF $\alpha$ , MMP1, MMP3 y/o IL-8. La célula, por ejemplo, es de origen mamífero, por ejemplo, humano.

Los moduladores identificados por los ensayos de cribado descritos anteriormente se usan para tratamientos como se describe aquí.

### Ejemplos

Los siguientes ejemplos se ofrecen con fines ilustrativos. Los materiales de partida y reactivos usados para la síntesis de los compuestos descritos aquí se pueden sintetizar o se pueden obtener de fuentes comerciales, tales como, pero no limitadas a, Sigma-Aldrich, Acros Organics, Fluka y Fischer Scientific.

Ejemplo 1: Síntesis de intermedio 3-(etilsulfonil)benzohidrazida (3)



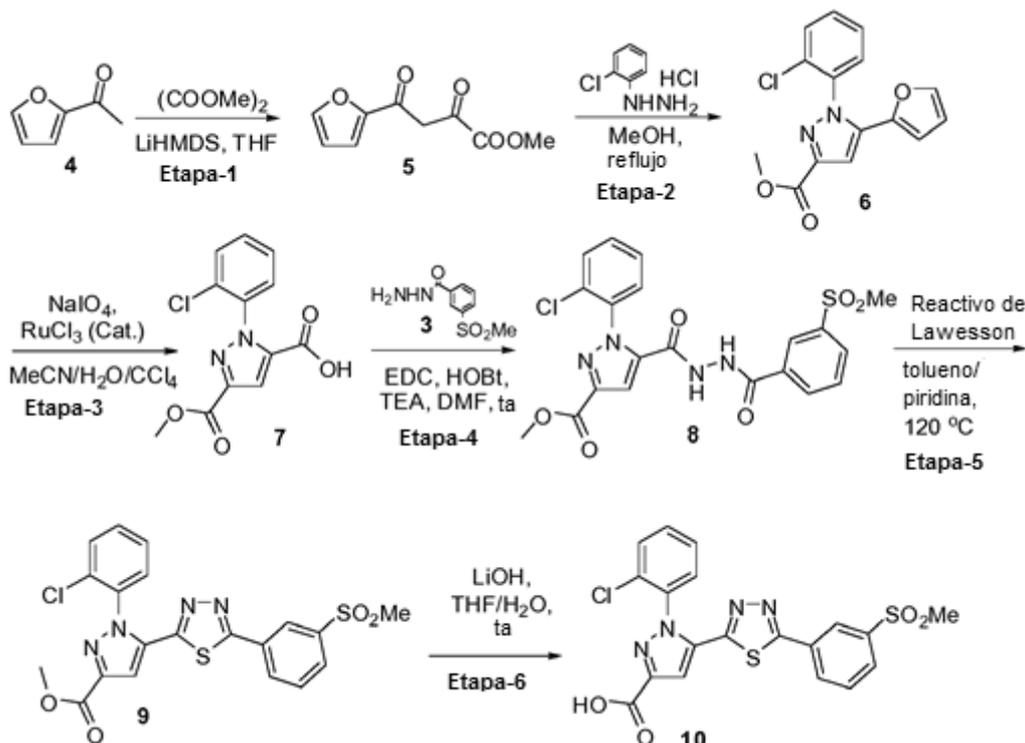
#### Etapa A: Síntesis de 3-(metilsulfonyl)benzoato de metilo (2)

A una disolución agitada de ácido 3-(metilsulfonyl)benzoico (1) (1,5 g, 7,5 mmol) en metanol (25 ml) se añadió ácido sulfúrico (1,5 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 8 h. Al finalizar, se retiró el disolvente, se diluyó con agua (40 ml) y se extrajo con acetato de etilo (60 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con una disolución saturada de bicarbonato de sodio, salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para dar el compuesto del título. **2** (1,6 g, 99%) que se usó para una reacción posterior.

#### Etapa B: Síntesis de 3-(metilsulfonyl)benzohidrazida (3)

Una disolución agitada de compuesto **2** (2,1 g, 9,8 mmol) e hidrazina hidrato (2,4 ml, 49,0 mmol) en etanol (70 ml) se calentó a reflujo durante 8 h. Al finalizar, se retiró el disolvente, se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con metanol al 10% en diclorometano (60 ml x 4). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para dar el compuesto del título **3** (2,0 g, 91%) que se usó para la reacción posterior.

#### Ejemplo 2: Síntesis de ácido 1-(2-clorofenil)-5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1H-pirazol-3-carboxílico (10)



#### Etapa 1: Síntesis de 4-(furan-2-il)-2,4-dioxobutanoato de metilo (5)

A una disolución agitada de compuesto **4** (5 g, 45,0 mmol) en THF (100 ml) a  $-78^\circ\text{C}$ , se añadió LiHMDS (58,5 ml, 58,5 mmol) gota a gota. Después de 30 minutos, se añadió una disolución de oxalato de dimetilo (7,9 g, 67,5 mmol) en THF (20 ml). Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente en el baño de enfriamiento gradualmente y se agitó durante la noche. El disolvente se retiró, se añadió agua (100 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para dar el compuesto del título **5** (8,0 g, 89,9%) que se usó para la reacción posterior.

#### Etapa 2: Síntesis de 1-(2-clorofenil)-5-(furan-2-il)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (6)

Un disolución agitada de compuesto **5** (10,0 g, 50 mmol) y hidrocloreto de (2-clorofenil)hidrazina (10,0 g, 56 mmol) en 80 ml de metanol se calentó a reflujo durante 6 h. Al enfriar a  $0^\circ\text{C}$ , el sólido se precipitó, se filtró y se lavó con

metanol frío para dar el compuesto del título **6** (12,0 g, 80,0%) que se usó para una reacción posterior.

Etapa 3: Síntesis de ácido 1-(2-clorofenil)-3-(metoxicarbonil)-1H-pirazol-5-carboxílico (**7**)

5 A una mezcla agitada de compuesto **6** (3,0 g, 9,9 mmol) en una mezcla de acetonitrilo (60 ml), agua (80 ml) y tetracloruro de carbono (60 ml) se añadió peryodato de sodio (8,3 g, 39 mmol) y cloruro de rutenio (125 mg, 0,03 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 72 h. Al finalizar, se retiró el disolvente, se disolvió la masa en bruto en una disolución saturada de bicarbonato de sodio, se extrajo con éter (50 ml x 3). La capa acuosa se acidificó con HCl 1N y se extrajo con acetato de etilo (60 ml x 4). La capa de acetato de etilo combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para dar el compuesto del título **7** (1,2 g, 44%) que se usó para una reacción posterior.

10 Etapa 4: Síntesis de 1-(2-clorofenil)-5-(2-(3-(metilsulfonil)benzoil)hidrazinocarbonil)-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo (**8**)

15 A una disolución agitada del compuesto **7** (500 mg, 1,78 mmol) en DMF (20 ml a 0°C, se añadió EDCl (500 mg, 2,6 mmol) y se agitó durante 15 min. Se añadió HOBt (351 mg, 2,6 mmol) a la mezcla de reacción y después de 30 minutos de agitación se añadió 3-(metilsulfonil)benzohidrazida **3** del Ejemplo 1 (450 mg, 2,1 mmol). Se dejó que la mezcla de reacción alcanzara la temperatura ambiente y se agitó durante la noche. Se añadió agua (100 ml) a la mezcla de reacción y se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 4). La capa orgánica combinada se lavó con agua, salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto en bruto usando purificación cromatográfica en columna con 2% de metanol en diclorometano dio el compuesto del título **8** (452 mg, 52%).

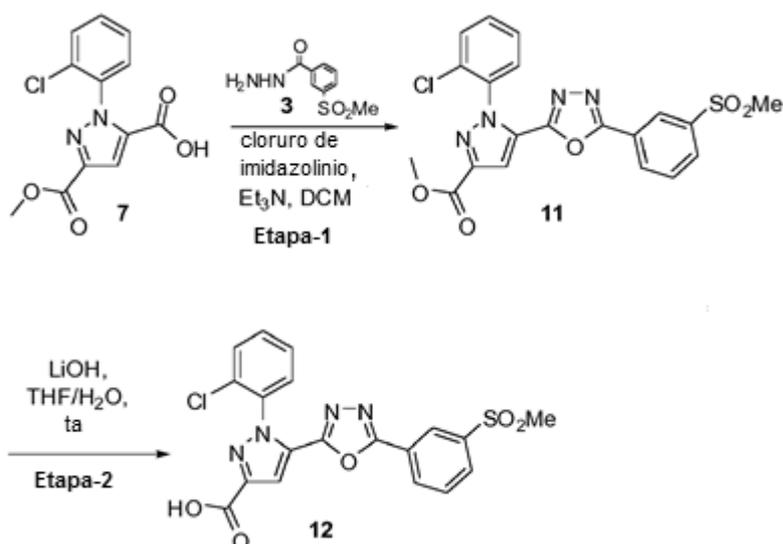
20 Etapa 5: Síntesis de 1-(2-clorofenil)-5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1H-pirazol-3-carboxilato de metilo (**9**)

25 A una mezcla agitada del compuesto **8** (500 mg, 1,05 mmol) y reactivo de Lawesson (637 mg, 1,57 mmol) en tolueno (10 ml) se añadió piridina (0,15 ml) y la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 3 h. Al finalizar, se retiró el disolvente y la mezcla de reacción en bruto se purificó por cromatografía en columna usando metanol al 0,5% en diclorometano y dio el compuesto del título **9** (250 mg, 51%). LCMS: 475,15 (M + 1)<sup>+</sup>; HPLC: 94,29% (@ 210 nm-370 nm) (R<sub>t</sub>: 6,771; método: columna: YMC ODS-A 150 mm x 4,6 mm x 5 μ; fase móvil: A; 0,05% de TFA en agua / B; 0,05% de TFA en acetonitrilo; volumen inicial: 10 μl, temperatura de la columna: 30°C; caudal: 1,4 ml/min, gradiente: de 5% de B a 95% de B en 8 min, mantener durante 1,5 min, 9,51-12 min 5% de B); <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8,38 (s, 1H), 8,23 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 8,06 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,70 (t, 1H, J = 8 y 7,6 Hz), 7,66 (s, 1 H), 7,62 - 7,50 (m, 4 H), 4,00 (s, 3 H), 3,09 (s, 3 H).

30 Etapa 6: Síntesis de ácido 1-(2-clorofenil)-5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)-1,3,4-tiadiazol-2-il)-1H-pirazol-3-carboxílico (**10**)

35 A una disolución agitada de compuesto **9** (120 mg, 0,25 mmol) en THF (6,0 ml) a temperatura ambiente, se añadió una disolución de hidróxido de litio (52 mg, 1,25 mmol) en agua (6,0 ml) y se continuó la agitación durante 2 h. Al finalizar, se retiró el disolvente, se diluyó con agua (20 ml) y se lavó con éter (30 ml x 3). La capa acuosa se acidificó con HCl 1 N y se extrajo con metanol al 10% en diclorometano (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto en bruto después del lavado con éter y pentano dio el compuesto del título **10** (80 mg, 69%). LCMS: 461,25 (M + 1)<sup>+</sup>; HPLC: 94,34% (@ 210 nm-370 nm) (R<sub>t</sub>: 5,989; método: columna: YMC ODS-A 150 mm x 4,6 mm x 5 μ; fase móvil: A; 0,05% de TFA en agua / B; 0,05% de TFA en acetonitrilo; volumen inicial: 10 μl, temperatura de la columna: 30°C; caudal: 1,4 ml/min, gradiente: 5% de B a 95% de B en 8 min, mantener durante 1,5 min, 9,51-12 min 5% de B); <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 8,39 (s, 1H), 8,24 (d, 1H, J = 8 Hz), 8,12 (d, 1H, J = 8 Hz), 7,85-7,60 (m, 6H), 3,30 (s, 3H).

40 Ejemplo 3: Síntesis de ácido 1-(2-clorofenil)-5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)-1H-pirazol-3-carboxílico (**12**)



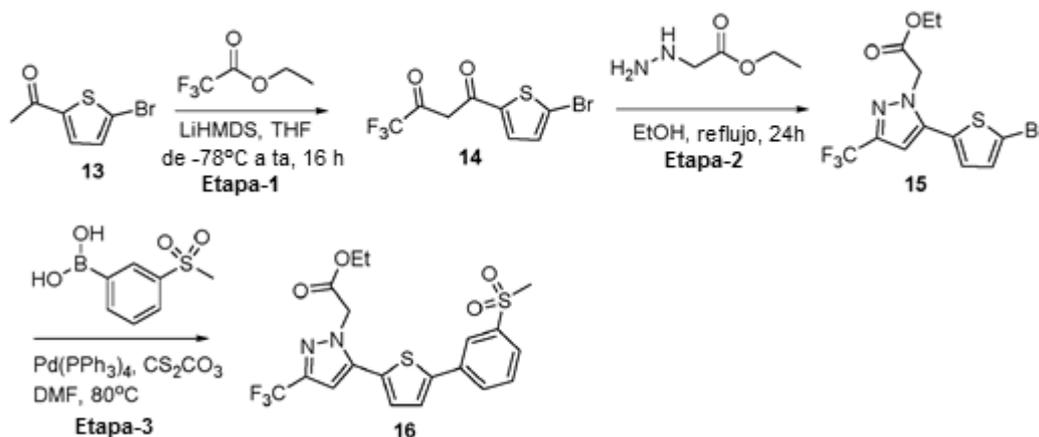
Etapa 1: Síntesis de 1-(2-clorofenil)-5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (**11**)

5 A una disolución agitada enfriada con hielo del compuesto **7** del Ejemplo 2 (750 mg, 2,67 mmol) y 3-  
 10 (metilsulfonyl)benzohidracida **3** del Ejemplo 1 (575 mg, 2,67 mmol) en diclorometano (25 ml) se añadió cloruro de  
 imidazolinio (902 mg, 5,34 mmol) y se agitó durante 30 min. Se añadió trietilamina (1,5 ml, 10,68 mmol) a la mezcla  
 de reacción lentamente durante un período de 30 minutos, se dejó que llegara a temperatura ambiente y se continuó  
 la agitación durante la noche. Se añadió agua (50 ml) a la mezcla de reacción y se extrajo con metanol al 10% en  
 diclorometano (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con una disolución saturada de bicarbonato de  
 sodio, salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. La mezcla de reacción en bruto por purificación en  
 columna cromatográfica usando metanol al 2% en diclorometano dio el compuesto del título **11** (350 mg, 50%).  
 LCMS: 459,25 (M + 1)<sup>+</sup>; HPLC: 93,72% (@ 210 nm-370 nm) (R<sub>t</sub>: 6,704; método: columna: YMC ODS-A 150 mm x  
 4,6 mm x 5 μ; fase móvil: A; 0,05% de TFA en agua / B; 0,05% de TFA en acetonitrilo; volumen inicial: 10 μl,  
 temperatura de la columna: 30°C; caudal: 1,4 ml/min, gradiente: de 5% de B a 95% de B en 8 min, mantener durante  
 1,5 min, 9,51-12 min 5% de B); <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8,28 (s, 1H), 8,26 (d, 1H), 8,11 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,75-  
 7,71 (m, 2H), 7,62-7,50 (m, 4H), 4,02 (s, 3H), 3,09 (s, 3H).

Etapa 2: Síntesis de ácido 1-(2-clorofenil)-5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1,3,4-oxadiazol-2-il)-1H-pirazol-3-carboxílico (**12**)

20 A una disolución agitada de compuesto **11** (100 mg, 0,21 mmol) en THF (4,0 ml) a temperatura ambiente, se añadió  
 una disolución de hidróxido de litio (44 mg, 1,05 mmol) en agua (4,0 ml) y se continuó la agitación durante 2 h. Al  
 finalizar, se retiró el disolvente, se diluyó con agua (20 ml) y se lavó con éter (30 ml x 3). La capa acuosa se acidificó  
 con HCl 1 N y se extrajo con metanol al 10% en diclorometano (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con  
 salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto en bruto después del lavado con éter y  
 pentano dio el compuesto del título **12** (30 mg, 31%). LCMS: 445,10 (M + 1)<sup>+</sup>; HPLC: 96,20% (@ 210 nm-370 nm)  
 (R<sub>t</sub>: 5,847; método: columna: YMC ODS-A 150 mm x 4,6 mm x 5 μ; fase móvil: A; 0,05% de TFA en agua / B; 0,05%  
 de TFA en acetonitrilo; volumen inicial: 10 μl, temperatura de la columna: 30°C; caudal: 1,4 ml/min, gradiente: de 5%  
 de B a 95% de B en 8 min, mantener durante 1,5 min, 9,51-12 min 5% de B); <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8,29 (s,  
 1H), 8,27 (d, 1H), 8,12 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,79 (s, 1H), 7,74 (t, 1H, J = 7,6 y 7,2 Hz), 7,64 - 7,50 (m, 4 H), 3,10 (s, 3  
 H).

30 Ejemplo 4: Síntesis de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)tiófen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**16**)



Etapa 1: Síntesis de 1-(5-bromotiofen-2-il)-4,4,4-trifluorobutano-1,3-diona (**14**)

A una disolución agitada de compuesto **13** (5,0 g, 24,0 mmol) en THF (50 ml) a  $-78^{\circ}\text{C}$ , se añadió LiHMDS (37 ml, 36,0 mmol) gota a gota. Después de 30 minutos, se añadió una disolución de oxalato de dimetilo (2,7 g, 36,0 mmol) en THF (20 ml). Se dejó que la mezcla de reacción volviera gradualmente a temperatura ambiente en un baño de refrigeración y se agitó durante la noche. El disolvente se retiró, se añadió agua (100 ml) y la disolución se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron para dar el compuesto en bruto **14** (6,0 g, 82,1%) que se usó sin purificación para reacciones posteriores.

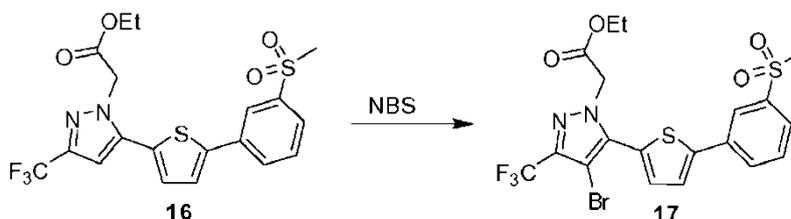
Etapa 2: Síntesis de 2-(5-(5-bromotiofen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**15**)

Una disolución agitada del compuesto **14** (5,2 g, 17,0 mmol) y 2-hidrazinilacetato de etilo (2,94 g, 19,0 mmol) en metanol (60 ml) se calentó a reflujo durante 1,5 h. Al enfriar a temperatura ambiente, se retiró el disolvente, se añadió agua (100 ml) y la disolución se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna usando 10% de acetato de etilo en hexano para dar compuesto **15** (1,5 g) y que se usó para otras reacciones.

Etapa 3: Síntesis de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)tiofen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**16**)

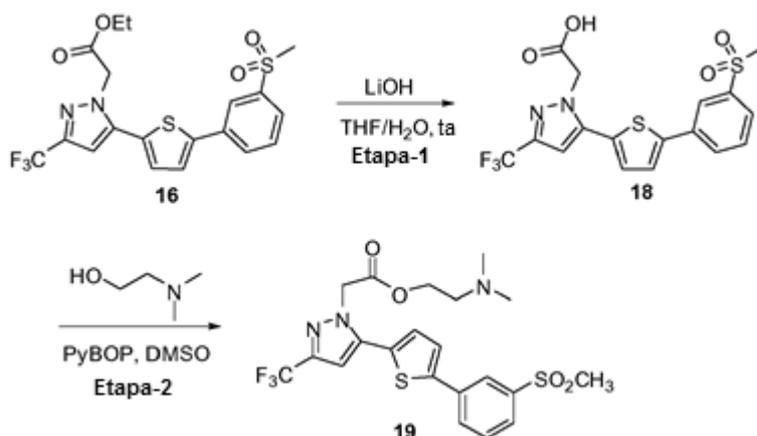
Una disolución agitada de compuesto **15** (1,5 g, 3,9 mmol) y ácido 3-(metilsulfonil)fenilborónico (1,2 g, 5,8 mmol) en DMF (10 ml) se desgasificó con argón. Se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (450 mg, 0,3 mmol) y la reacción se desgasificó durante 30 minutos. Se añadió carbonato de sodio (1,03 g, 9,0 mmol) a la mezcla de reacción, la reacción se desgasificó con argón durante 30 minutos y se calentó a  $90^{\circ}\text{C}$  durante 3 h. El disolvente se retiró y la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera saturada, se secaron sobre sulfato de sodio y se concentraron. La mezcla de reacción en bruto se purificó por cromatografía en columna usando acetato de etilo al 30% en hexano para dar **16** (1,2 g, 67%). LCMS: 459,20 ( $M + 1$ )<sup>+</sup>;  $^1\text{H}$  RMN (DMSO- $d_6$ , 400 MHz)  $\delta$  8,13 (s, 1H), 8,05 (d, 1H,  $J = 7,6$  Hz), 7,91 (d, 1H,  $J = 7,6$  Hz), 7,82 (d, 1H,  $J = 4$  Hz), 7,75 (t, 2H,  $J = 7,6$  Hz), 7,20 (s, 1H), 5,40 (s, 2H), 4,01-4,23 (m, 2H), 3,32 (s, 3H), 1,1-1,25 (m, 3H).

Ejemplo 5: Síntesis de 2-(4-bromo-5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)tiofen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**17**)



Después de la bromación con N-bromosuccinimida, el compuesto del título **17** se prepara a partir de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)tiofen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo **16**.

Ejemplo 6: Síntesis de 2-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)tiofen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de 2-(dimetilamino)etilo (**19**)



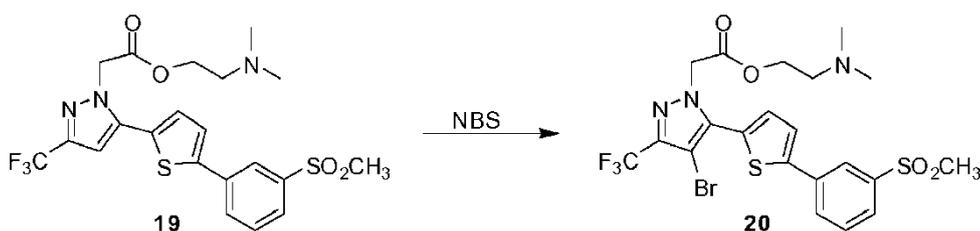
Etapa 1: Síntesis de ácido 2-(5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)tiofen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)ácético (**18**)

A una disolución agitada de **16** (1,2 g, 2,62 mmol) en THF (4,0 ml) a temperatura ambiente, se añadió una disolución de hidróxido de litio (94 mg, 3,930 mmol) en agua (4,0 ml) y la agitación se continuó durante 2 h. Al finalizar, se retiró el disolvente, la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se lavó con éter (30 ml x 3). La capa acuosa se acidificó con HCl 1 N y se extrajo con metanol al 10% en diclorometano (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto en bruto después del lavado con éter y pentano dio **18** (700 mg, 63%). LCMS: 431,15 (M + 1)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 13,6 (s, 1H), 8,15 (s, 1H), 8,05 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,91 (d, 1H, J = 8 Hz), 7,81 (d, 2H, J = 3,6 Hz), 7,76 (t, 1H, J = 7,6 Hz), 7,16 (s, 1 H), 5,23 (s, 2 H), 3,35 (s, 3 H).

Etapa 2: Síntesis de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)tiofen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de 2-(dimetilamino)etilo (**19**)

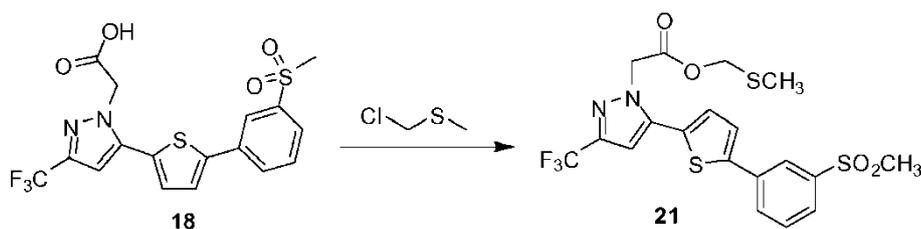
A una disolución agitada de compuesto **18** (0,2 g, 0,471 mmol), 2-(dimetilamino)etanol (0,14 ml, 1,41 mmol) y trietilamina (0,13 ml, 0,942 mmol) en DMSO (5 ml) a TA se añadió Pybop (0,360 g, 0,706 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche. La reacción se diluyó a continuación con agua (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. La mezcla de reacción en bruto se purificó por cromatografía en columna usando metanol al 3% en diclorometano para dar **19** (15 mg, 6%).

Ejemplo 7: Síntesis de 2-(4-bromo-5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)tiofen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de 2-(dimetilamino)etilo (**20**)



Después de la bromación con N-bromosuccinimida, el compuesto del título **20** se prepara a partir de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)tiofen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de 2-(dimetilamino)etilo **19**.

Ejemplo 8: Síntesis de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)tiofen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de metiltiometo (**21**)

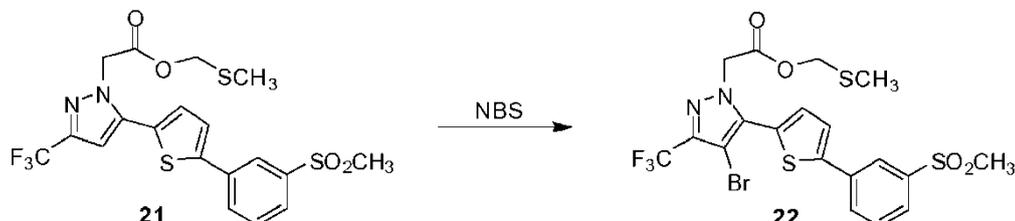


Una mezcla agitada de compuesto **18** (0,3 g, 0,690 mmol), (clorometil)(metil)sulfano (0,269 g, 2,79 mmol) y carbonato de potasio (0,480 g, 3,48 mmol) en DMF (5 ml,) se calentó a 100°C durante 10 h, se diluyó con agua (30

ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio, y se concentró. La mezcla de reacción en bruto se purificó por HPLC preparativa para dar **21** (0,020 g, 6%). LCMS: 491,20 (M + 1)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 13,6 (s, 1H), 8,18 (s, 1H), 8,08 (d, 1H, J=8 Hz), 7,92 (d, 1H, J=8 Hz), 7,85(d, 1H, J=3,6 Hz), 7,75 (t, 1H), 7,50 (d, 2H), 5,6-5,3 (m, 2H), 3,4-3,20 (m, 5H), 1,84 (s, 3H).

5

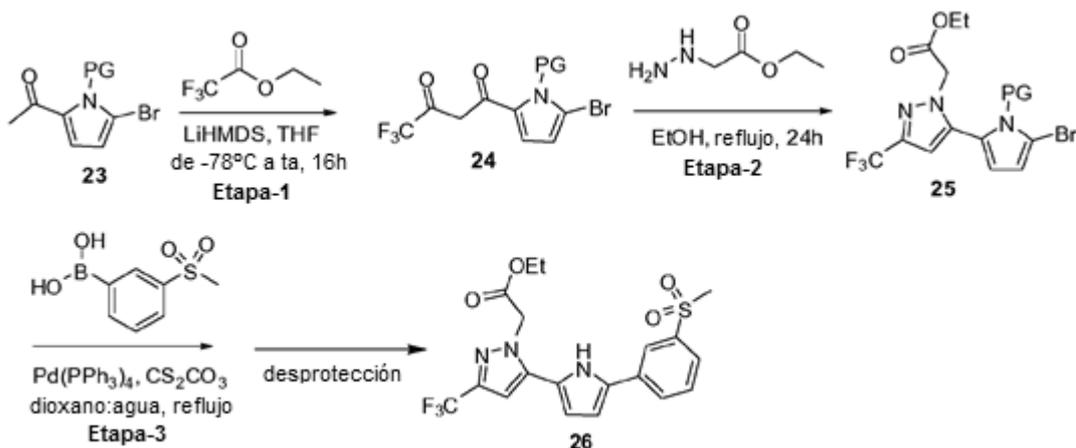
Ejemplo 9: Síntesis de 2-(4-bromo-5-(3-(metilsulfonyl)fenil)tiofen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de metiltiomtilo (**22**)



Después de la bromación con N-bromosuccinimida, el compuesto del título **22** se prepara a partir de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)tiofen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de metiltiomtilo **21**.

10

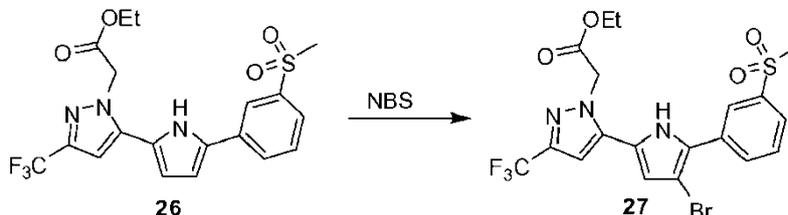
Ejemplo 10: Síntesis de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1H-pirrol-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**26**)



Si siguiendo la secuencia de reacción anterior, el compuesto del título **26** se prepara a partir de un pirrol apropiadamente protegido **23**.

15

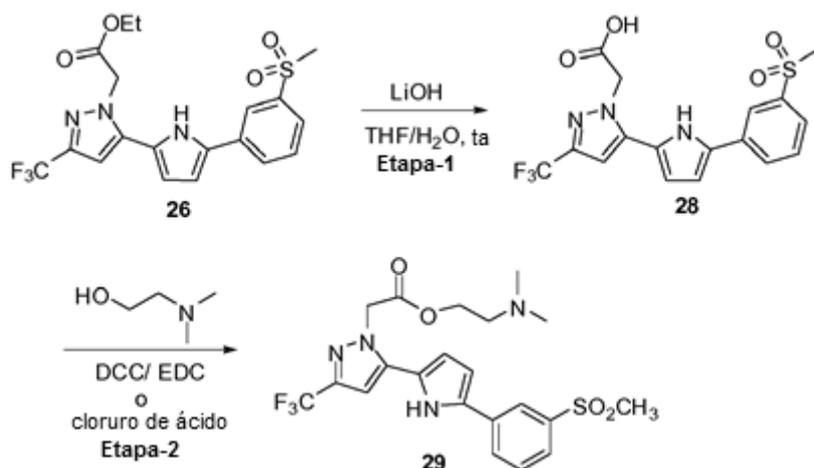
Ejemplo 11: Síntesis de 2-(5-(4-bromo-5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1H-pirrol-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**27**)



Después de la bromación con N-bromosuccinimida, el compuesto del título **27** se prepara a partir de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1H-pirrol-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo **26**.

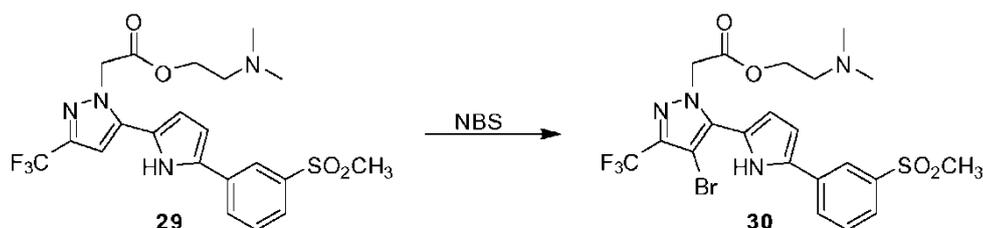
20

Ejemplo 12: Síntesis de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1H-pirrol-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de 2-(dimetilamino)etilo (**29**)



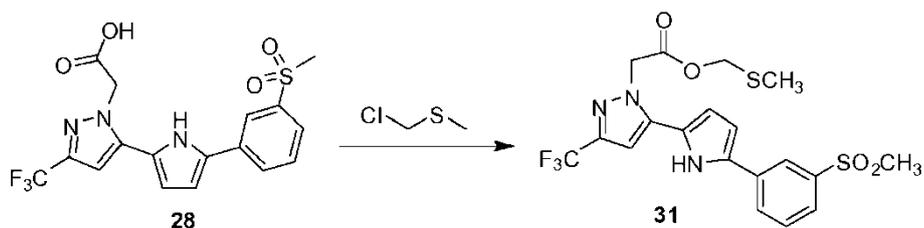
Seguindo la secuencia de reacción de dos etapas anterior, el compuesto del título **29** se prepara a partir de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1H-pirrol-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo **26**.

5 Ejemplo 13: Síntesis de 2-(4-bromo-5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)tiopen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de 2-(dimetilamino)etilo (**30**)



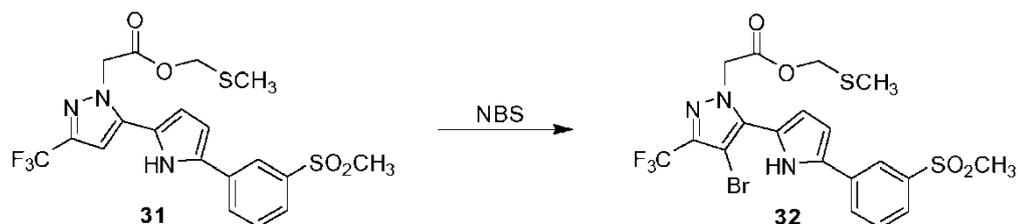
Después de la bromación con N-bromosuccinimida, el compuesto del título **30** se prepara a partir de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1H-pirrol-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de 2-(dimetilamino)etilo **29**.

10 Ejemplo 14: Síntesis de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1H-pirrol-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de metiltiometilo (**31**)



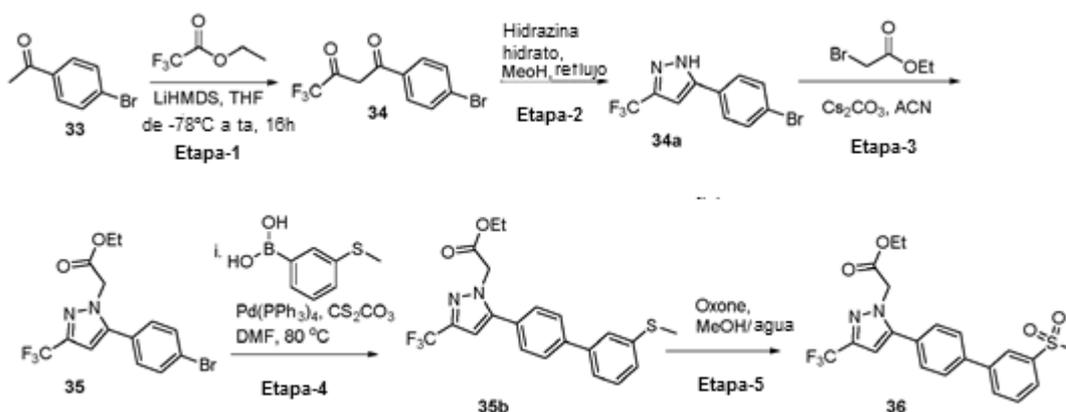
Después de la alquilación, el compuesto del título **31** se prepara a partir de ácido 2-(5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1H-pirrol-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acético **28**.

15 Ejemplo 15: Síntesis de 2-(4-bromo-5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1H-pirrol-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de metiltiometilo (**32**)



Después de la bromación con N-bromosuccinimida, el compuesto del título **32** se prepara a partir de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)-1H-pirrol-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de metiltiometilo **31**.

Ejemplo 16: Síntesis de 2-(5-(3'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**36**)



#### Etapa 1: Síntesis de 1-(4-bromofenil)-4,4,4-trifluorobutano-1,3-diona (**34**)

A una disolución agitada de compuesto **33** (15,0 g, 76,0 mmol) en THF (50 ml) a  $-78^{\circ}\text{C}$ , se añadió LiHMDS (114 ml, 114,0 mmol) gota a gota. Después de 30 minutos, se añadió una disolución de oxalato de dimetilo (13,6 ml, 114,0 mmol) en THF (100 ml). La mezcla de reacción se dejó gradualmente a temperatura ambiente en un baño de refrigeración y se agitó durante la noche. El disolvente se retiró, se añadió agua (100 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró para dar compuesto **34** (16 g, 71%) que se usó sin purificación en reacciones posteriores.

#### Etapa 2: Síntesis de 5-(4-bromofenil)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol (**34a**)

Una disolución agitada de compuesto **34** (15,0 g, 50,0 mmol) e hidracina hidrato (10,0 g, 56 mmol) en metanol 150 ml se calentó a reflujo durante 1 h. Después de enfriar en un baño de hielo durante 10 minutos, se retiró el disolvente, se añadió agua (100 ml) y la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna usando acetato de etilo al 10% en hexano, para dar el intermedio de pirazol en bruto **34a**.

#### Etapa 3: Síntesis de 2-(5-(4-bromofenil)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**35**)

A 6 g de **34a** en acetonitrilo (150 ml) se añadió carbonato de cesio (13,5 g, 41 mmol) seguido de bromoacetato de etilo (1,3 ml, 30 mmol) y la mezcla de reacción se calentó a  $80^{\circ}\text{C}$  durante 6 h. Al finalizar, el disolvente se retiró, se añadió agua (100 ml) y la mezcla de reacción en bruto se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto en bruto se purificó por cromatografía en columna usando 10% de acetato de etilo en hexano para dar **35** (2 g, 26%).

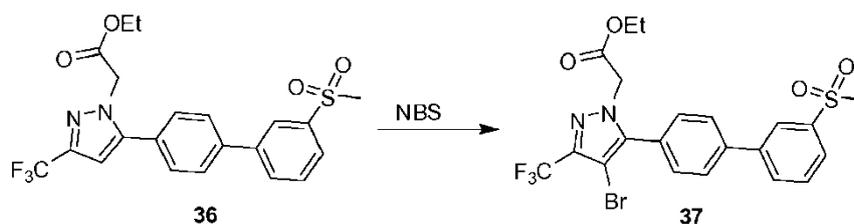
#### Etapa 4: Síntesis de 2-(5-(3'-(metilsulfonyl)-[1,1'-bifenil]-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**35b**)

Una disolución agitada de compuesto **35** (1,6 g, 4,0 mmol) y ácido (3-(metiltio)fenil)borónico (1,06 g, 6,0 mmol) en DMF (20 ml) se desgasificó con argón. Se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (462 mg, 0,4 mmol) y la reacción se desgasificó de nuevo durante 30 minutos. Se añadió carbonato de sodio (1,06 g, 10,0 mmol) a la mezcla de reacción, y la reacción se desgasificó de nuevo con argón durante otros 30 minutos. La mezcla de reacción se calentó a  $90^{\circ}\text{C}$  durante 3 h. El disolvente se retiró, la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. La mezcla de reacción en bruto se purificó por cromatografía en columna usando 30% de acetato de etilo en hexano para dar **35b** (1,5 g, 99%).

#### Etapa 5: Síntesis de 2-(5-(3'-(metilsulfonyl)-[1,1'-bifenil]-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**36**)

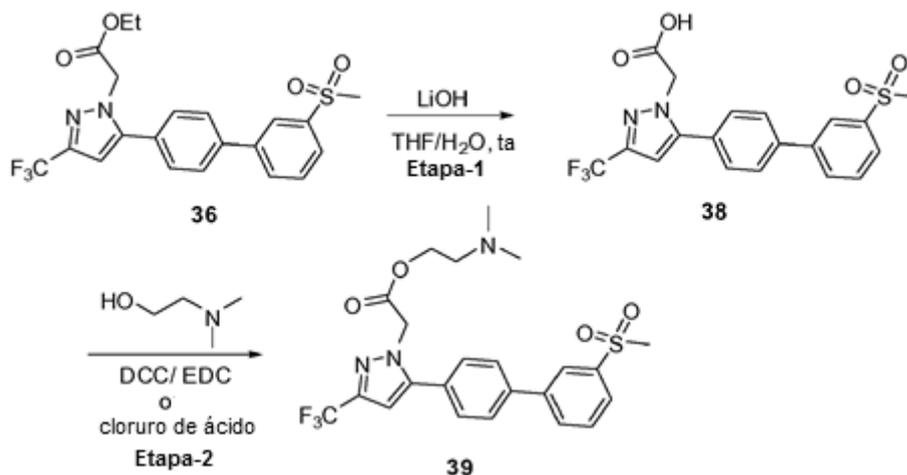
A una disolución agitada de **35b** (1,5 g, 3,5 mmol) en metanol (20,0 ml) y agua (20 ml) a temperatura ambiente, se añadió oxone (5,46 g, 8,9 mmol) y se continuó la agitación durante 1,5 h. Al finalizar, se retiró el disolvente y la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. La mezcla de reacción en bruto se purificó por cromatografía en columna usando acetato de etilo al 50% en hexano para dar **36** (1,3 g, 81%). LCMS: 453,20 ( $M + 1$ )<sup>+</sup>;  $^1\text{H}$  RMN ( $\text{CD}_3\text{OD}$ , 400 MHz)  $\delta$  8,24 (s, 1H), 8,04 (d, 1H,  $J = 7,6$  Hz), 7,99 (d, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,86 (d, 1H,  $J = 8$  Hz), 7,77 (m, 1H,  $J = 8,4$  Hz), 7,62 (d, 2H,  $J = 8,4$  Hz), 7,62 (d, 2H,  $J = 8,4$  Hz), 6,80 (s, 1H), 5,09 (s, 1H), 4,25 – 4,15 (m, 2H), 3,19 (s, 3H), 1,25 – 1,2 (m, 3H).

#### Ejemplo 17: Síntesis de 2-(4-bromo-5-(3'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**37**)



Después de la bromación con N-bromosuccinimida, el compuesto del título **37** se prepara a partir de 2-(5-(3'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo **36**.

5 Ejemplo 18: Síntesis de 2-(5-(3'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de 2-(dimetilamino)etilo (**39**)



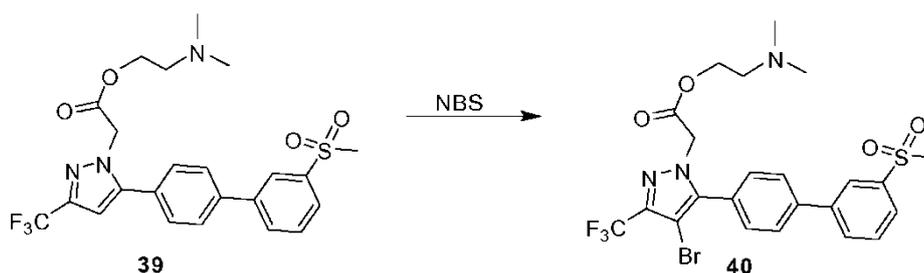
Etapa 1: Síntesis de ácido 2-(5-(3'-(metilsulfonyl)-[1,1'-bifenil]-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acético (**38**)

10 A una disolución agitada de **36** (1,3 g, 2,0 mmol) en THF (10,0 ml) a temperatura ambiente, se añadió una disolución de hidróxido de litio (103 mg, 4,0 mmol) en agua (10,0 ml) y se continuó la agitación durante 2 h. Al finalizar, el disolvente se retiró y la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se lavó con éter (30 ml x 3). La capa acuosa se acidificó con HCl 1 N y se extrajo con metanol al 10% en diclorometano (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. El producto en bruto después del lavado con éter y pentano dio **38** (1g, 83%). LCMS: 425,15 (M + 1)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 13,3 (s, 1H), 8,24 (s, 2H), 8,12 (d, 1H, J = 8 Hz), 7,78 (t, 1H, J = 8 Hz), 7,67 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,04 (s, 1 H), 5,13 (s, 1 H), 3,25 (s, 3 H).

15 Etapa 2: Síntesis de 2-(5-(3'-(metilsulfonyl)-[1,1'-bifenil]-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de 2-(dimetilamino)etilo (**39**)

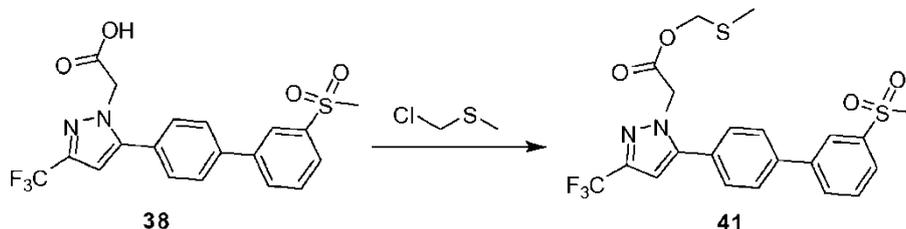
20 A una disolución agitada de compuesto **38** (0,2 g, 0,471 mmol), 2-(dimetilamino)etanol (0,14 ml, 1,41 mmol) y trietilamina (0,126 ml, 0,942 mmol) en DMSO (5 ml) a TA se añadió Pybop (0,360 g, 0,706 mmol) y la mezcla de reacción se agitó durante la noche. La reacción se diluyó a continuación con agua (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. La mezcla de reacción en bruto se purificó por cromatografía en columna usando metanol al 3% en diclorometano para proporcionar **39** (15 mg, 6%). LCMS: 496,25 (M + 1)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H RMN (CD<sub>3</sub>OD, 400 MHz) δ 8,23 (s, 1H), 8,05 (d, 1H, J = 8 Hz), 8,01 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,88 (d, 1H, J = 8,4 Hz), 7,78 (t, 3H, J = 8 Hz), 7,64 (d, 2H, J = 8 Hz), 6,84 (s, 1H), 5,2 (s, 2H), 4,5 (t, 2H, J = 4,8 Hz), 3,49 (d, 2H, J = 4,8 Hz), 3,20 (s, 3H), 2,9 (s, 6H).

25 Ejemplo 19: Síntesis de 2-(4-bromo-5-(3'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de 2-(dimetilamino)etilo (**40**)



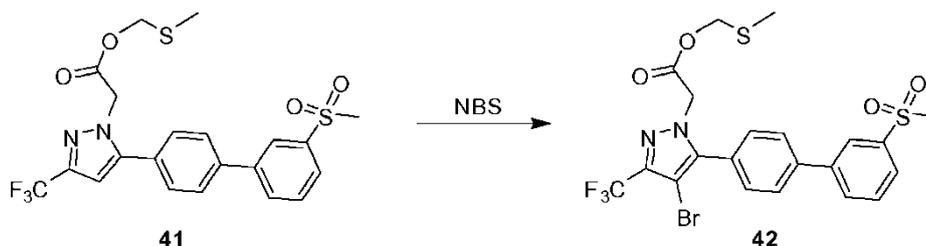
Después de la bromación con N-bromosuccinimida, el compuesto del título **40** se prepara a partir de 2-(5-(3'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de 2-(dimetilamino)etilo **39**.

Ejemplo 20: Síntesis de 2-(5-(3'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de metiltiometilo (**41**)



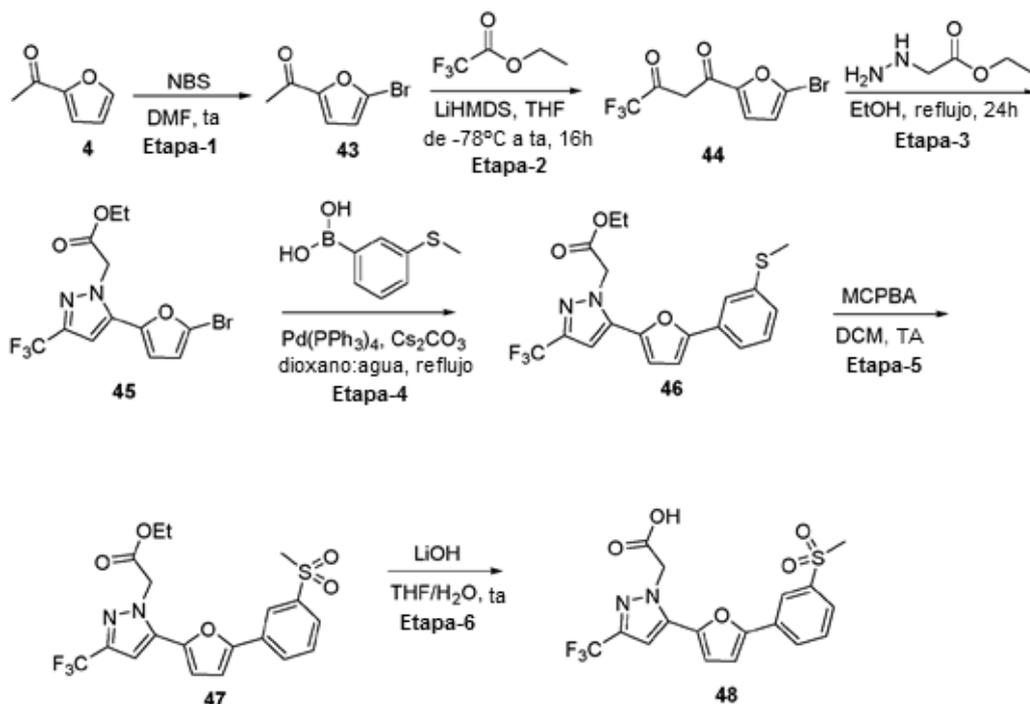
- 5 Una mezcla de compuesto **38** (0,2 g, 0,471 mmol), clorometilmetilsulfano (0,182 g, 1,89 mmol) y carbonato de potasio (0,324 g, 2,36 mmol) en DMF (5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, a continuación se calentó a 100°C durante 10 h. Al finalizar, la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró. La mezcla de reacción en bruto se purificó por HPLC preparativa para dar **41** (15 mg, 7%). LCMS: 485,20 (M + 1)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 8,26 (s, 1H), 8,06 (d, 1H, J = 7,2 Hz), 7,99 (d, 1H, J = 8 Hz), 7,93 (d, 2H, J = 8,4 Hz), 7,8-7,6 (m, 3H), 6,75 (s, 1H), 5,10-5,25 (m, 2H), 3,45-3,3 (m, 2H), 3,30 (s, 3H), 1,78 (s, 3H),

Ejemplo 21: Síntesis de 2-(4-bromo-5-(3'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de metiltiometilo (**42**)



- 15 Después de la bromación con N-bromosuccinimida, el compuesto del título **42** se prepara a partir de 2-(5-(3'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de metiltiometilo **41**.

Ejemplo 22: Síntesis de ácido 2-(5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)furan-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acético (**48**)



Etapa 1: Síntesis de 1-(5-bromofuran-2-il)etanona (**43**)

A una disolución agitada de compuesto **4** (5,0 g, 45,45 mmol) y DMF (50 ml), se añadió NBS (8,8 g, 50 mmol) porción a porción a temperatura ambiente con agitación. La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante la noche. Quedaba el 50% de material de partida por TLC y LCMS. La mezcla de reacción se vertió en agua fría y el compuesto se extrajo con éter dietílico (150 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía en columna usando 5% de acetato de etilo en n-hexano como eluyente para dar el compuesto **43** (2,4 g, 28%) en forma de un sólido blanco.

Etapa 2: Síntesis de 1-(5-bromofuran-2-il)-4,4,4-trifluorobutano-1,3-diona (**44**)

A una disolución agitada de compuesto **43** (4,8 g, 25,4 mmol) en THF (60 ml) a -78°C, se añadió LiHMDS (38 ml, 38,1 mmol) gota a gota y la reacción se agitó a -78°C durante 1 h. A continuación se añadió gota a gota 2,2,2-trifluoroacetato de etilo (4,5 g, 38,1 mmol). La mezcla de reacción se dejó calentar gradualmente a temperatura ambiente en un baño de refrigeración y se agitó durante la noche. El disolvente se retiró, se añadió agua fría (50 ml) y la mezcla de reacción se extrajo con éter dietílico (100 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El compuesto en bruto se lavó con éter dietílico y hexano para dar compuesto **44** (5 g, 69%) en forma de un sólido blanco.

Etapa 3: Síntesis de 2-(5-(5-bromofuran-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**45**)

Una mezcla de compuesto **44** (4 g, 14,0 mmol), 2-hidrazinilacetato de etilo (2,37 g, 15,0 mmol) y metanol (60 ml) se calentó durante 1,5 h. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y el disolvente se retiró a presión reducida. Se añadió agua (100 ml) y la mezcla de reacción se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía en columna usando acetato de etilo al 10% en n-hexano como eluyente para proporcionar el isómero separado **45** (1,2 g, 24%).

Etapa 4: Síntesis de 2-(5-(5-(3-(metiltio)fenil)furan-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**46**)

Una mezcla de compuesto **45** (1,25 g, 3,42 mmol) y ácido (3-(metiltio)fenil)borónico (1,15 g, 6,84 mmol) en DMF (50 ml) se desgasificó con argón durante 30 minutos. A la mezcla se añadió tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (390 mg, 0,34 mmol), se desgasificó durante 30 minutos seguido de carbonato de sodio (0,91 g, 8,56 mmol). La reacción se desgasificó de nuevo con argón durante 30 minutos y se calentó a 90°C durante 3 h. Una vez completada la reacción, el disolvente se retiró a presión reducida y la mezcla de reacción se diluyó con agua (30 ml). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3) y la capa orgánica combinada se lavó con salmuera saturada (50 ml x 2), se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El compuesto en bruto se purificó por cromatografía en columna usando acetato de etilo al 5% en n-hexano como eluyente para dar compuesto **46** (1 g, 71%).

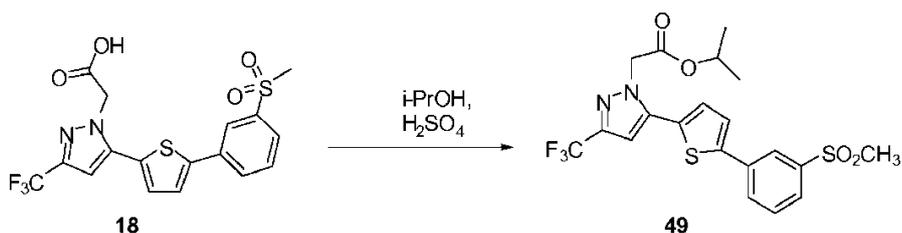
Etapa 5: Síntesis de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)furan-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**47**)

A una disolución de compuesto **46** (1 g, 2,44 mmol) en DCM (150 ml), se añadió mCPBA (1,26 g, 7,31 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 90 minutos. La mezcla de reacción se diluyó con DCM (100 ml) y se lavó con agua (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. La mezcla de reacción en bruto se purificó por cromatografía en columna usando 40% de acetato de etilo y n-hexano como eluyente, para dar **47** (0,5 g, 46%). LCMS: 443,20 (M + 1)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>, 400 MHz) δ 8,19 (s, 1H), 7,92-7,87 (m, 2H), 7,65-7,62 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 6,92-9,91 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 6,85 (s, 1H), 6,77-6,76 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 5,28 (s, 2H), 4,27-4,22 (q, J = 7,06 Hz, 2H), 3,13 (s, 3H), 1,21-1,18 (t, J = 7 Hz, 3H).

Etapa 6: Síntesis de ácido 2-(5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)furan-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acético (**48**)

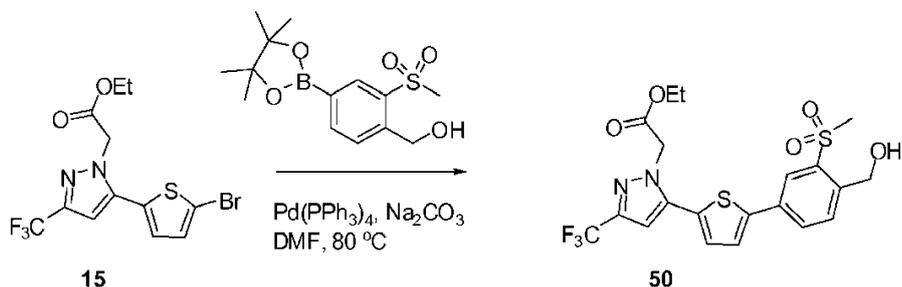
A una disolución agitada de compuesto **47** (0,5 g, 1,13 mmol) en THF (5,0 ml) se añadió hidróxido de litio (41 mg, 1,69 mmol) en agua (5,0 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Al finalizar, el disolvente se retiró a presión reducida y la mezcla de reacción se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con éter dietílico (30 ml x 3). La capa acuosa se acidificó con HCl 1N (pH = 3) y se extrajo con metanol al 10% en diclorometano (50 ml x 3). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró a presión reducida. El producto en bruto después del lavado con éter y pentano dio **48** (0,4 g, 86%). LCMS: 415,10 (M + 1)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H RMN (DMSO-d<sub>6</sub>, 400 MHz) δ 13,50 (br, 1H), 8,28 (s, 1H), 8,13 a 8,11 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,89-7,87 (d, J = 8 Hz, 1H), 7,76 - 7,72 (t, J = 8 Hz, 1H), 7,41 - 7,40 (d, J = 3,6 Hz, 1 H), 7,34 (s, 1 H), 7,19-7,18 (d, J = 3,6 Hz, 1 H), 5,43 (s, 2 H), 3,30 (s, 3 H).

Ejemplo 23: Síntesis de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonil)fenil)tiopen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**49**)



A una disolución de **18** (1 eq) en i-PrOH (50 ml) se añadieron 5 gotas de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. y la reacción se calentó a 90°C durante 16 h: TLC y LCMS en bruto mostraron la formación del éster deseado purificado por cromatografía en columna para dar 100 mg de **49**. LCMS: 473,6 (M + 1)<sup>+</sup>.

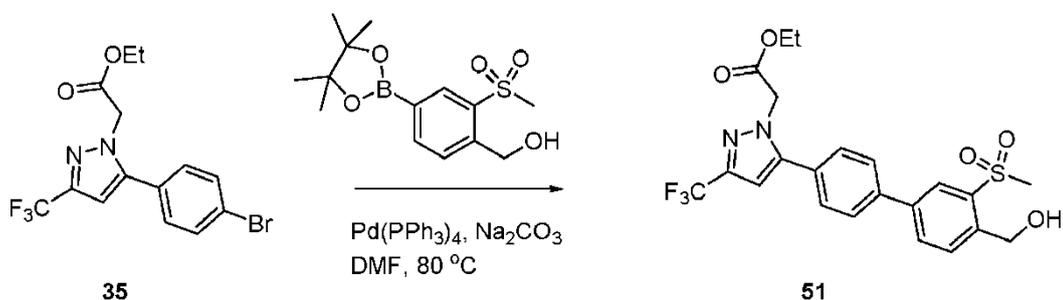
- 5 Ejemplo 24: Síntesis de 2-(5-(5-(4-(hidroximetil)-3-(metilsulfonyl)fenil)tiopen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**50**)



La copulación de Suzuki de **15** (300 mg) con 2 eq del boronato, 0,1 eq de tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0), y 2,5 equivalentes de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en 20 ml de DMF a 80°C durante 2 horas dio después de purificación en columna, 160 mg de compuesto **50**. LCMS: 489,10 (M + 1)<sup>+</sup>.

10

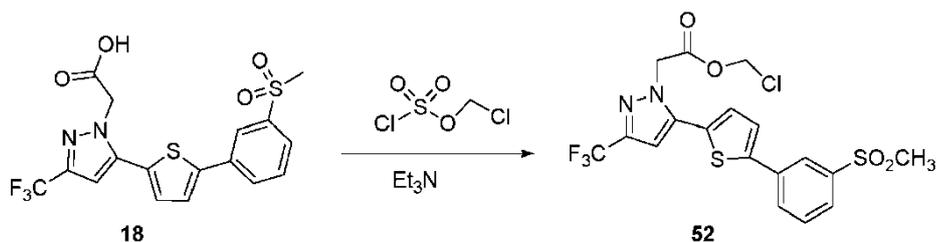
Ejemplo 25: Síntesis de 2-(5-(4'-(hidroximetil)-3'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de etilo (**51**)



La copulación de Suzuki de **35** (300 mg) con 2 eq de la boronato, 0,1 eq de tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0), y 2,5 equivalentes de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> en 20 ml de DMF a 80°C durante 2 horas dio después de purificación en columna, 100 mg de compuesto **51**. LCMS: 483,20 (M + 1)<sup>+</sup>.

15

Ejemplo 26: Síntesis de 2-(5-(5-(3-(metilsulfonyl)fenil)tiopen-2-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-1-il)acetato de clorometilo (**52**)



La esterificación del ácido carboxílico **18** con cloruro de clorometilsulfurilo como se muestra anteriormente dio el éster de clorometilo **52**. CMS: 479,2 (M + 1)<sup>+</sup>.

20

Ejemplo 27: Extracción de ARN

Añada reactivo de lisis QIAzol® (QIAGEN, número de catálogo 79306) a las células. Raspe las células y colóquelas

en un tubo de polipropileno Falcon. Deje reposar a temperatura ambiente durante 5 minutos. Añada 1 ml de células a los tubos de microcentrífuga. Añada 200 µl de cloroformo, agite en vórtex, deje reposar durante 5 minutos. Centrifugue a 4°C durante 15 minutos a 14,000 RPM. Añada un volumen igual de 70% de EtOH (diluido con agua DEPC). Añada 600 µl a la columna RNeasy® del RNeasy® Mini Kit (QIAGEN, número de catálogo 74106), centrifugue a 14.000 RPM a temperatura ambiente durante 1 minuto, deseche el filtrado. Añada el resto de la muestra a la columna, centrifugue, deseche el filtrado. Añada 350 µl de tampón RW1 del RNeasy® Mini Kit a la columna, centrifugue a temperatura ambiente durante 1 minuto, descarte el filtrado. Columna de DNasa con RNase-Free DNase Set (QIAGEN, número de catálogo 79254) mediante la preparación de la disolución patrón de DNasa I, añada 550 µl de agua a la DNasa, añada 10 µl de DNasa a 70 µl de BufferRDD para cada muestra, mezcle, añada 80 µl a la columna, deje reposar durante 15 minutos. Añada 350 µl de buffer RW1 a la columna, centrifugue durante 1 minuto, descarte el filtrado. Añada 500 µl de tampón RPE a la columna, centrifugue durante 1 minuto, deseche el filtrado. Añada 500 µl de tampón RPE a la columna, centrifugue durante 1 minuto, deseche el filtrado. Coloque la columna en un tubo de microcentrífuga de 2,0 ml, centrifugue durante 2 minutos. Coloque la columna en un tubo de microcentrífuga, añada 50 µl de agua, deje reposar la columna durante 2 minutos y centrifugue durante 1 minuto.

#### 15 PCR cuantitativa

Se usa Tecnología TaqMan para la PCR cuantitativa para la evaluación de la expresión del gen de MMP, TNF, TIMP, IL-8, ASA1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, decorina, y LXRα/β en queratinocitos y fibroblastos.

Condiciones para el uso de reactivos de transcriptasa inversa TaqMan (Applied Biosystems, número de catálogo N808-0234): 10 × tampón RT: 10 µl, disolución de MgCl<sub>2</sub>: 22 l, mezcla de DNTP: 20 µl, hexámeros aleatorios: 5 µl, Multi Scribe RT: 2,5 µl, inhibidor de la RNase: 2,5 µl, 2 µg de ARN. Termociclador: 25°C - 10 minutos, 48°C - 30 minutos, 95°C - 5 minutos.

Configuración del TaqMan con el kit de PCR QuantiTect Multiplex (QIAGEN cat. Number 204543): 2 × mezcla patrón: 25 µl; ensayo en un solo tubo: 2,5 µl; conjunto de sonda de cebadores de Applied Biosystems (número de parte 4308329)-18S cebador directo: 0,25 µl, cebador inverso 18S: 0,25 µl, sonda 18S: 0,25 µl; agua hasta 50 µl; 5 µl de ADNc. Termociclador: 50°C. - 2 minutos, 95°C - 10 minutos, 95°C - 15 segundos, 60°C - 1 minuto.

#### Ejemplo 28: Inducción de la expresión de los receptores LXR

Los queratinocitos normales epidérmicos humanos Clonetics® (NHEKs) se obtienen de Cambrex Bio Science, Inc. Los queratinocitos neonatales T-25 (C2503TA25) agrupados proliferantes se expanden en medio libre de suero Clonetics® KGM-2 (CC-3107) y se subcultivan según sea necesario usando el recomendado Clonetics® ReagentPack™ (CC-5034). Debido a un componente sensible a la luz en el medio, todas las manipulaciones se realizan con poca luz.

Para los experimentos, se sembraron en placas 1,6 millones de células NHEK en medio de cultivo en placas de 100 mm y se dejaron crecer hasta aproximadamente el 75% de confluencia. El día del tratamiento, las placas se lavan una vez con KGM-2 menos hidrocortisona; a continuación, se añade vehículo (DMSO al 0,1%) o 1 µM o un agonista de LXR descrito aquí, durante 6 h en KGM-2 deficiente en hidrocortisona. Después de 6 h, el medio de tratamiento se retira temporalmente, las placas se lavan con disolución salina tamponada con fosfato de Dulbecco y a continuación la mitad de los tratamientos se exponen a luz ultravioleta 8 J/m<sup>2</sup> usando un Stratagene UV Stratalinker® 2400. Los tratamientos se reemplazan y 18 h más tarde, las muestras se recogen para el procesado de ARN usando el Reactivo TRIzol®D (Invitrogen).

El ARN se extrae como se describe anteriormente. La irradiación UV de las NHEKs redujo ligeramente la expresión de LXRα. El tratamiento de los queratinocitos con el modulador de LXR (1 µM) induce la expresión de LXRα en queratinocitos tanto no expuestos a los rayos UV como expuestos a los rayos UV. El tratamiento UV de NHEKs disminuye la expresión de LXRβ, y esta inhibición mediada por UV de la expresión de LXRβ se revierte mediante el tratamiento con el modulador de LXR. Por lo tanto, la inducción de la expresión de ambos receptores LXR en los queratinocitos expuestos a los rayos UV mediante un modulador de LXR indica la eficacia del modulador de LXR. Además, los moduladores de LXR pueden ayudar a que los queratinocitos/piel expuestos a los rayos UV respondan mejor a sus efectos.

#### Ensayo de cotransfección de Gal4 LXRβ

Para la transfección transitoria de células HEK 293, se depositaron 6 x 10<sup>3</sup> células en placas de 96 pocillos. Cada pocillo se transfectó con 25 ng de 5 x indicador de UAS-luciferasa (pG5luc) y 25 ng de plásmido pM LXRβ (AA 153-461) LBD humano usando reactivo Eugene 6 (Roche, Indianapolis, IN). Se verificó la capacidad de la proteína quimérica para transactivar un plásmido indicador de luciferasa que responde a Gal4 de una manera que responde a la concentración a compuestos (0,01 - 10 µM). La actividad de la luciferasa a cada concentración de dosis se midió por triplicado usando reactivos de sustrato estándar (BD Biosciences, San Diego, CA). Los datos se expresan como unidades de luz relativa y se muestran a continuación en la Tabla 1.

Tabla 1. Valores de EC<sub>50</sub> para moduladores de LXR en el ensayo de fusión LXRβ Gal.

Compuesto	LXR $\beta$ Gal (EC <sub>50</sub> ) $\mu$ M
9	B
10	C
11	A
12	C
16	A
18	C
36	A
38	C
41	B
49	A
50	A
51	A
52	A

A, EC<sub>50</sub> < 1  $\mu$ M; B, EC<sub>50</sub> = 1-10  $\mu$ M; C, EC<sub>50</sub> > 10  $\mu$ M

#### Ejemplo 29: Expresión de ABCG1

5 Los NHEKs (Cambrex/Lanza, Walkersville, MD) se cultivaron según las recomendaciones del proveedor. En general, las células se tripsinizaron y se sembraron en el día 0, y se trataron con Compuestos (1  $\mu$ M) el día 1. Las células se cosecharon el día 2 con tampón de lisis (AppliedBiosystems/Ambion, Foster City, CA) directamente añadido a las células cultivadas después de un lavado con PBS. Los NHEKs se usaron para la purificación de ARN usando la columna de purificación de ARN Qiagen RNeasy (Qiagen, Hilden, Alemania) según el protocolo del vendedor o se procesaron directamente a ADNc usando tampón de lisis "Cell-to-cDNA" (Ambion, Foster City, CA). El ARN se aisló y la expresión del gen ABCG1 analizada mediante PCR en tiempo real se muestra en la Figura 1 para tres compuestos de Fórmula I-VI: Compuesto A, Compuesto B y Compuesto C. Como se muestra en la Figura 1, el Compuesto A, Compuesto B y compuesto C induce ABCG1 en queratinocitos humanos.

#### Ejemplo 30: Expresión de TNF $\alpha$

15 Los NHEKs se tratan y se extrae el ARN como se describe en el Ejemplo 27. La exposición a los rayos UV de los queratinocitos provoca la inducción de la expresión de TNF $\alpha$ . Una expresión reducida de la expresión de TNF $\alpha$  inducida por UV en presencia de un agonista de LXR descrito aquí indica menos activación de los fibroblastos dérmicos y menos producción de metaloproteasas que degradan la matriz dérmica.

#### Ejemplo 31: Expresión de MMP3

20 Los NHEK se tratan y se extrae el ARN como se describe en el Ejemplo 27. La exposición a los rayos UV de los queratinocitos provoca la inducción de la expresión de MMP3. Una expresión reducida de la expresión de MMP-3 inducida por UV en presencia de un agonista de LXR descrito aquí indica una degradación reducida de la matriz dérmica.

#### Ejemplo 32: Expresión de TIMP1

25 Los NHEK se tratan y se extrae el ARN como se describe en el Ejemplo 27. La exposición a los rayos UV de los queratinocitos provoca la reducción del nivel basal de expresión de la expresión de TIMP1. Se espera que una

expresión reducida de la expresión de TIMP1 inducida por UV en presencia de un agonista de LXR descrito aquí neutralice las actividades de metaloproteasas, dando como resultado la protección de la matriz dérmica de la acción de las MMPs.

#### Ejemplo 33: Expresión de IL-8

5 Los NHEK se tratan y se extrae el ARN como se describe en el Ejemplo 27. La exposición a los rayos UV de los queratinocitos provoca la inducción de la expresión de IL-8. Debido a que la IL-8 es una molécula quimiotáctica, se espera que una expresión reducida de la expresión de IL-8 inducida por UV en presencia de un agonista de LXR descrito aquí dé como resultado un menor reclutamiento de neutrófilos activados en la dermis. Los neutrófilos activos también son una fuente de MMP y elastasa que degradan la matriz dérmica en el fotoenvejecimiento.

#### 10 Ejemplo 34: Síntesis de lípidos

La piel fotoenvejecida o fotodañada muestra una función de barrera epidérmica defectuosa. El ABCA12 es un transportador de lípidos que es esencial para el mantenimiento y el desarrollo de la función de barrera epidérmica de la piel. Por lo tanto, los ligandos de LXR pueden inducir la síntesis de lípidos y su carga en cuerpos lamelares epidérmicos al inducir la expresión de proteínas de unión a lípidos y miembros de la familia de transportadores ABC requeridos para el flujo de salida de lípidos y colesterol. Estas regulaciones génicas también indican que los ligandos de LXR pueden exhibir efecto terapéutico de xerosis, aliviando así uno de los principales síntomas de la piel envejecida que conduce al deterioro de la función de barrera epidérmica y responsable de iniciar otras afecciones cutáneas graves.

20 Las células NHEK se tratan y se extrae el ARN como se describe en el Ejemplo 27. La exposición a los rayos UV de los queratinocitos provoca la disminución de la expresión de ABCA12 en los queratinocitos expuestos a los rayos UV. Se espera que una reversión de la expresión de la expresión de ABCA12 inducida por UV mediante tratamiento con un agonista de LXR descrito aquí dé como resultado la normalización de la función de barrera epidérmica en la piel fotoenvejecida. Se espera que la función de barrera epidérmica mejorada reduzca la sequedad de la piel, una característica distintiva de la piel fotodañada/fotoenvejecida. Se espera que la función de barrera epidérmica mejorada reduzca la sequedad de la piel, una característica distintiva de la piel fotodañada/fotoenvejecida.

#### Ejemplo 35: Colágeno

30 La piel fotoenvejecida y envejecida cronológicamente muestra niveles reducidos de colágeno. El colágeno es un componente de la matriz extracelular que se requiere para impartir rigidez a las estructuras de la matriz celular y dérmica. Las moléculas de colágeno están dispuestas en forma de fibrillas de colágeno que se requieren para la arquitectura normal de la piel. Esta arquitectura fibrilar del colágeno se degrada en la piel envejecida/arrugada. Por lo tanto, también se espera que la restauración de la estructura fibrilar de colágeno dé como resultado una mejora terapéutica de la piel fotodañada/fotoenvejecida.

35 La decorina es un componente de la matriz extracelular que se asocia con el colágeno I. Además, se requiere la interacción decorina-colágeno para la formación de fibrillas de colágeno. En otras palabras, la decorina es un regulador crítico de la génesis fibrilar del colágeno 1. Por lo tanto, se espera que el aumento de la expresión de la decorina en la piel fotodañada expuesta a los rayos UV induzca la generación de fibrillas de colágeno, un proceso que puede mejorar la laxitud y las arrugas de la piel.

40 Las células NHEK se tratan y se extrae el ARN como se describe en el Ejemplo 27. La exposición a UV de los NHEKs provoca la inhibición de la expresión de decorina. Se espera que una reversión de la inhibición mediada por UVB de la expresión de decorina mediante el tratamiento con un agonista de LXR descrito aquí dé como resultado una expresión de decorina normalizada en los queratinocitos expuestos a UV. Se espera que la inducción de la expresión de decorina dé como resultado una mayor formación de matriz extracelular.

#### Ejemplo 36: Expresión de MMP1

45 La línea celular BJ (ATCC # CRL-2522) se obtiene de ATCC. Es una línea celular de fibroblastos humanos normales derivada originalmente del prepucio, que demuestra una vida útil prolongada en cultivos de 80-90 duplicaciones de población. Las células se mantienen en medio mínimo esencial de Eagle con BSS de Earle (EMEM) complementado con penicilina-estreptomina, piruvato de sodio 1,0 mM, aminoácidos no esenciales 0,1 mM, GlutaMAX-1™ 2 mM y suero bovino fetal (FBS) HyClone al 10%. Con la excepción del suero, todos los reactivos se obtienen de Invitrogen. Las células se subcultivaron con 0,05% de tripsina-EDTA dos veces a la semana y se mantuvieron en un incubador humidificado a 37°C y 5% de CO<sub>2</sub>.

Para los experimentos, 5 millones de células BJ se depositan en placas de 150 mm en medio de cultivo. Al día siguiente, se retira el medio de cultivo que contiene rojo fenol y las placas se lavan una vez con EMEM libre de rojo de fenol sin suero. El medio experimental es EMEM libre de rojo de fenol complementado como anteriormente con la adición de Suero Deficiente en Lipoproteínas al 5% (Sigma S-5394) en lugar de HyClone FBS.

55 Vehículo DMSO (0,1%) o 1 μM o un agonista de LXR descrito aquí se añade a las placas durante 6 h; en ese

momento se añade 5 ng/ml de rhTNF $\alpha$  (R & D 210-TA) a la mitad de los tratamientos. Las muestras se recogen con TRIzol® 18 h más tarde y se procesan.

5 El ARN se extrae como se describe anteriormente. El tratamiento con TNF $\alpha$  de fibroblastos humanos BJ provoca la inducción de la expresión de MMP1. Se espera que la inhibición de la expresión de MMP1 inducida por TNF $\alpha$  tras el tratamiento de fibroblastos humanos con un agonista de LXR descrito aquí dé como resultado una degradación reducida de la matriz dérmica debido a que la MMP1 es el principal destructor del colágeno de la matriz dérmica.

#### Ejemplo 37: Expresión de MMP3

10 Las células BJ se tratan y se extrae el ARN como se describe en el Ejemplo 27. El tratamiento con TNF $\alpha$  de fibroblastos humanos BJ provoca la inducción de la expresión de MMP3. Se espera que la inhibición de la expresión de MMP-3 inducida por TNF $\alpha$  tras el tratamiento de fibroblastos humanos con un agonista de LXR descrito aquí dé como resultado una degradación reducida de la matriz dérmica.

#### Ejemplo 38: Expresión de TIMP1

15 Las células BJ se tratan y se extrae el ARN como se describe en el Ejemplo 27. La exposición a TNF $\alpha$  de fibroblastos BJ humanos no provoca la reducción de la expresión a nivel basal de la expresión de TIMP1. Se espera que un agonista de LXR descrito aquí que induce la expresión de TIMP1 tanto en fibroblastos expuestos al TNF $\alpha$  como en fibroblastos expuestos al TNF $\alpha$  neutralice las actividades de las metaloproteasas, dando como resultado la protección de la matriz dérmica de la acción de las MMP.

#### Ejemplo 39: Ruta biosintética de esfingolípidos segundos mensajeros ceramida y lípidos

20 Las células NHEK se tratan y el ARN se extrae como se describe en el Ejemplo 27. La ceramida es uno de los principales lípidos en los queratinocitos diferenciados y desempeña un papel fundamental en la función de barrera de la piel. Una comparación de la piel envejecida cronológicamente y la piel joven reveló una disminución en el contenido de ceramida con la edad. La disminución del contenido de ceramida se puede deber a una menor diferenciación de los queratinocitos y a la reducción de las actividades de fosfodiesterasa de la ceramida sintasa y la esfingomielina (SM) en el envejecimiento cronológico. La serina palmitoiltransferasa (SPTLC1) cataliza la formación de esfinganina a partir de serina y palmitoil-CoA. La ceramida sintasa (LASS2) convierte la esfinganina en ceramida. La fosfodiesterasa SM (SMPD) también produce ceramida a partir de SM, y la ceramidasa ácida (ASAH1) produce lípido segundo mensajero esfingosina a partir de ceramida.

25 Una inducción de la expresión de enzimas implicadas en la ruta biosintética de los esfingolípidos de segundo mensajero ceramida y lípido mediante un agonista de LXR descrito aquí es indicativa de eficacia terapéutica. Dado que las ceramidas y otros esfingolípidos están implicados en la proliferación, diferenciación y descamación de queratinocitos, un incremento en la expresión de enzimas implicadas en la síntesis de esfingolípidos puede ayudar en estos procesos y aliviar los problemas epidérmicos (piel seca, disminución de la proliferación y diferenciación de queratinocitos, escamas finas) que se derivan de la disminución de la producción de esfingolípidos.

#### Ejemplo 40: Actividades antioxidantes en queratinocitos

35 Las células NHEK se tratan y se extrae el ARN como se describe en el Ejemplo 27. El daño oxidativo acumulativo mediado por UV tanto en la epidermis como en la dermis debido a la acumulación de radicales libres durante toda la vida con toda probabilidad también promueve el envejecimiento celular. Los radicales libres o las especies de oxígeno reactivo causan daño a los lípidos, proteínas y ADN, y hacen que las células entren en una etapa de tipo senescente. Hay muchos informes que describen la reducción de las enzimas antioxidantes en la piel con la edad, incluida la superóxido dismutasa, la catalasa y la glutatión peroxidasa.

40 Una inducción de la expresión de enzimas implicadas en la expresión de enzimas implicadas en actividades antioxidantes en queratinocitos, por ejemplo, la expresión de enzimas antioxidantes, glutatión peroxidasa (GPX3), tiorredoxina reductasa, glutatión reductasa y catalasa, mediante un agonista de LXR descrito aquí es indicativa de eficacia terapéutica. Los moduladores de LXR incrementan el sistema de defensa del cuerpo contra los radicales libres, lo que puede reducir el ataque del peróxido de hidrógeno y los radicales libres sobre las proteínas de las células de la piel, los lípidos y el ADN.

#### Ejemplo 41: Dermatitis de contacto alérgica de la oreja de ratón

50 El modelo de dermatitis de contacto de ratón (modelo de edema de oreja) se ha usado previamente para la caracterización de la aplicación tópica de activadores de LXR por su efecto sobre la inflamación de la piel (Fowler et al., J Invest Dermatol 120: 246 (2003)). Se aplicó 12-miristato-13-acetato de forbol (PMA) tópicamente tanto a la superficie interna como externa (10  $\mu$ l en cada superficie, 20  $\mu$ l en total) de las orejas izquierdas para inducir dermatitis de contacto irritante. Se aplicó acetona (vehículo) sola a las orejas derechas. 30 minutos antes y 15 minutos después de la aplicación de PMA, se aplicaron 20  $\mu$ l de compuestos de ensayo a ambas superficies de la oreja izquierda (40  $\mu$ l en total). Se realizaron tratamientos idénticos con 20  $\mu$ l del control positivo, clobetasol al 0,05%, mientras que el grupo de vehículo recibió solo la aplicación de acetona. Después de 6 h, se recogieron

- muestras de sangre (aproximadamente 60 µl) del plexo retroorbital de 5 ratones (de cada grupo) en el punto de tiempo de 6 h, en microtubos marcados, que contenían disolución de K<sub>2</sub>EDTA como anticoagulante. El plasma se recogió inmediatamente por centrifugación a 4.000 rpm durante 10 minutos a 4 ± 2°C y se almacenó a por debajo de -70°C hasta el bioanálisis. El ataque inflamatorio inducido por PMA se evaluó como el incremento porcentual del grosor de la oreja y/o el peso de la oreja en la oreja izquierda tratada frente a la oreja derecha tratada con el vehículo. Se midió el grosor de la oreja con un calibre digital seguido del peso total de la oreja para determinar los cambios en los pesos de las orejas. El grado de inflamación se cuantificó según la siguiente ecuación: hinchazón de la oreja (%) = 100 × (a-b)/b, en la que a es el grosor/peso de la oreja izquierda (tratada) y b es el grosor/peso de la oreja derecha (control no tratado). Después de obtener las muestras para la evaluación del grosor/peso de la oreja, se obtuvieron biopsias de sitios adyacentes para la fijación histopatológica de rutina en paraformaldehído recién preparado al 4% en disolución salina tamponada con fosfato. La hinchazón de la oreja y el peso de la oreja para el Compuesto A en comparación con Clobetasol (corticosteroide usado para tratar diversos trastornos de la piel) se muestra en la Figura 2. El Compuesto A reduce el hinchamiento y el peso de la oreja en el modelo de dermatitis de contacto de ratón.
- 5
- 10
- 15 Ejemplo 42: Ensayo clínico de Fase II de la seguridad y eficacia de los compuestos de Fórmula (I), (II), (III), (IV), (V) o (VI) en pacientes con psoriasis en placas crónica de leve a moderada
- El objetivo de este ensayo de fase II es investigar la seguridad y eficacia de una administración tópica de un compuesto de Fórmula (I), (II), (III), (IV), (V) o (VI) en pacientes con psoriasis en placas crónica de leve a moderada.
- Pacientes: los sujetos elegibles serán hombres y mujeres de 18 años de edad y mayores.
- 20 Criterios:
- Criterios de inclusión:
- Psoriasis en placas crónica de leve a moderada (psoriasis vulgaris), con una duración de por lo menos 6 meses;
- Una placa objetivo de por lo menos 9 cm<sup>2</sup>.
- Criterios de exclusión:
- 25 Demuestra "rebote" o "brote" de psoriasis en placas crónica;
- Forma de psoriasis sin placas;
- Actualmente tiene o historial de artritis psoriásica;
- Actualmente psoriasis inducida por fármacos;
- Actualmente en terapia sistémica o estaba en terapia sistémica para psoriasis en los 6 meses anteriores;
- 30 Actualmente en fototerapia para psoriasis o estuvo en fototerapia en los 3 meses anteriores.
- Diseño del estudio:
- Asignación: aleatorizada
- Clasificación de punto final: estudio de seguridad/eficacia
- Modelo de intervención: asignación paralela
- 35 Enmascaramiento: doble ciego (sujeto, investigador)
- Propósito principal: tratamiento
- Medidas del resultado principal:
- Cambio porcentual respecto al valor de referencia en la semana 4 en el índice de severidad de la placa objetivo (TPSS)
- 40 Medidas del resultado secundario:
- Proporción de sujetos con respuesta de severidad general del área de tratamiento de la psoriasis "clara" (0) o "casi clara" (1) en las semanas 1, 2, 3 y 4;
- Proporción de sujetos con una diferencia respecto al valor de referencia > = 2 etapas en el índice de severidad total del área de tratamiento de la psoriasis en las semanas 1, 2, 3 y 4
- 45 Cambio porcentual respecto al valor de referencia en las semanas 1, 2, 3 y 4 en el área de placa objetivo

Cambio respecto al valor de referencia en las semanas 1, 2, 3 y 4 en los subíndices TPSS para eritema, endurecimiento y descamación

Cambio porcentual respecto al valor de referencia en TPSS en las semanas 1, 2 y 3

5 Actual y cambio respecto al valor de referencia de la severidad del prurito (Itch Severity Item (ISI)) del área de tratamiento en las semanas 1, 2, 3 y 4

Proporción de sujetos en cada categoría de respuesta de la satisfacción del paciente con medicación de estudio (PSSM) en la semana 4

Incidencia, naturaleza y severidad de los eventos adversos observados y reportados en el sitio de administración durante 4 semanas de tratamiento

10 Incidencia y severidad del ardor/escozor de la piel psoriásica o perilesional en el área de tratamiento durante 4 semanas de tratamiento

Incidencia y severidad de las reacciones de la piel perilesional en el área de tratamiento medida por puntuación de Draize durante 4 semanas de tratamiento

Incidencia y severidad de los eventos adversos durante 4 semanas de tratamiento

15 Incidencia de anomalías de laboratorio clínico y cambio respecto al valor de referencia de los valores de laboratorio clínico durante 4 semanas de tratamiento

Incidencia de cambios clínicamente significativos en el examen físico respecto al valor de referencia durante más de 4 semanas de tratamiento

20 Incidencia de anomalías de las constantes vitales (presión sanguínea y frecuencia cardíaca) y cambio respecto al valor de referencia de las medidas de constantes vitales durante 4 semanas de tratamiento

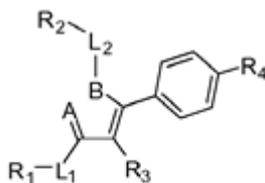
Incidencia de anomalías en el electrocardiograma (ECG) y cambio respecto al valor de referencia de las medidas del ECG durante 4 semanas de tratamiento

Concentraciones en plasma de CP-690,550, de muestras de sangre en la semana 4 (día 29)

Brazos	Intervenciones asignadas
Grupo de tratamiento A: Experimental Intervención: Fármaco: Compuesto de Fórmula I, II, III, IV, V, o VI Pomada 1	Fármaco: Compuesto de Fórmula I, II, III, IV, V, o VI Pomada 1 Pomada 1 dos veces al día durante 4 semanas
Grupo de Tratamiento B: Placebo Comparador Intervención: Fármaco: Vehículo 1	Fármaco: Vehículo 1 Vehículo 1 dos veces al día durante 4 semanas
Grupo de tratamiento C: Experimental Intervención: Fármaco: Compuesto de Fórmula I, II, III, IV, V, o VI Pomada 2	Fármaco: Compuesto de Fórmula I, II, III, IV, V, o VI Pomada 2 2% CP-690,550 Pomada 2 dos veces al día durante 4 semanas.
Grupo de Tratamiento D: Placebo Comparador Intervención: Fármaco: Vehículo 2	Fármaco: Vehículo 2 Vehículo 2 dos veces al día durante 4 semanas

## REIVINDICACIONES

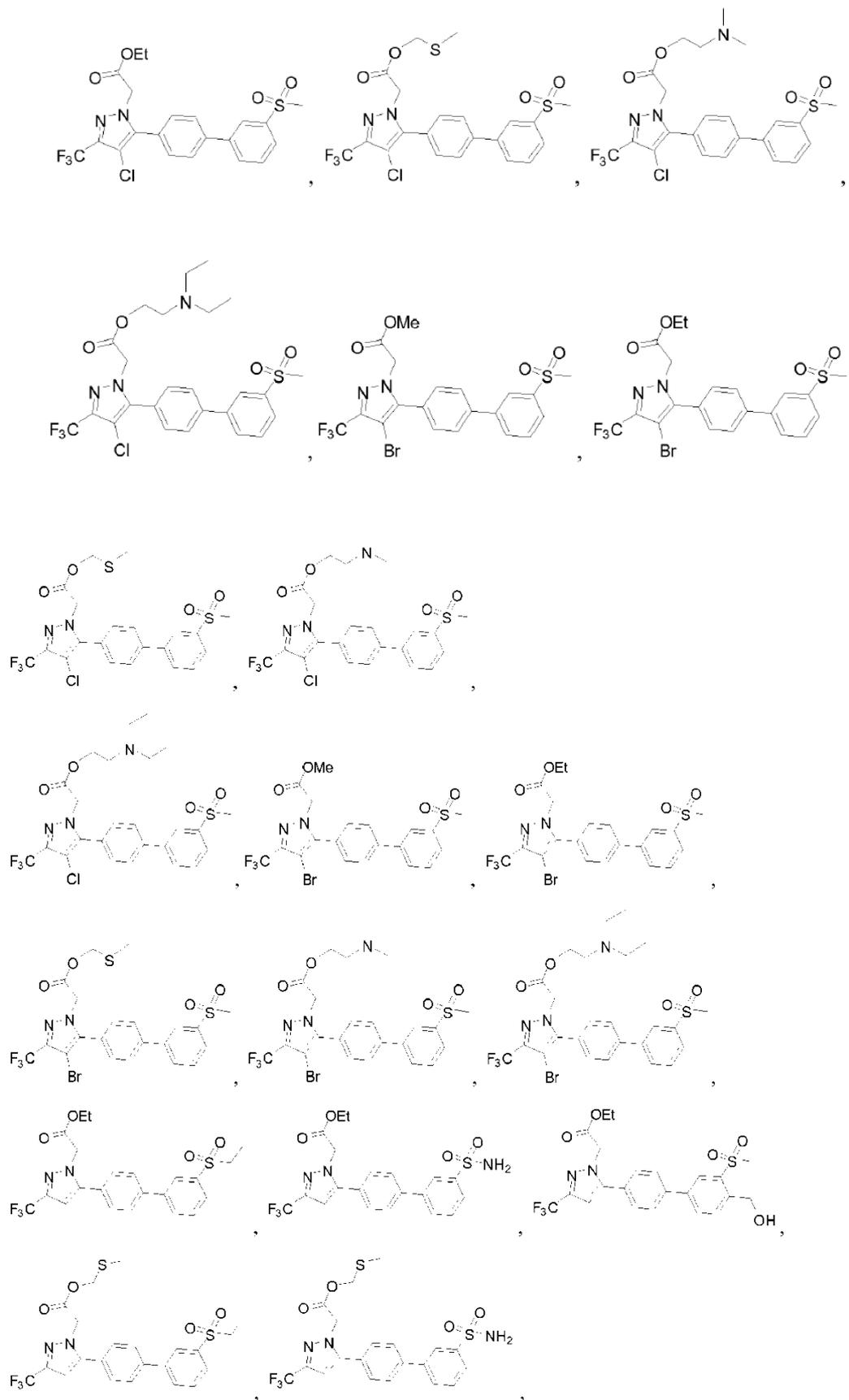
1. Un compuesto que tiene la estructura de la Fórmula (E):

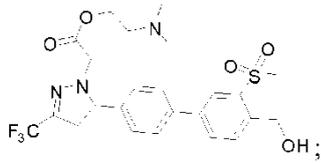


Fórmula (E);

en la que:

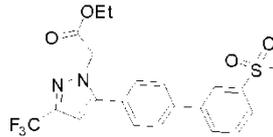
- 5 A y B son cada uno nitrógeno, en la que A y B están unidos entre sí para formar un anillo heteroarilo de cinco miembros;
- L<sub>1</sub> es un enlace, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;
- L<sub>2</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;
- 10 R<sub>1</sub> es hidrógeno, halógeno, -CF<sub>3</sub>, -OR<sub>8</sub>, -N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=O)R<sub>8</sub>, -C(=O)OR<sub>8</sub>, -C(=O)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=N-OH)R<sub>8</sub>, -C(=S)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, -C(=CH<sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>, o -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>;
- R<sub>2</sub> es -C(=O)OR<sub>9</sub>, -C(=O)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>, -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>9</sub>, -C(=N-OH)R<sub>9</sub>, -C(=S)N(R<sub>9</sub>)<sub>2</sub>, o -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>;
- R<sub>3</sub> es hidrógeno, halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, o haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>;
- R<sub>4</sub> es arilo o heteroarilo; en el que el arilo o heteroarilo está sustituido con por lo menos un R<sub>11</sub>;
- 15 cada R<sub>8</sub>, y cada R<sub>10</sub> son cada uno independientemente hidrógeno, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo, o heteroarilo;
- cada R<sub>9</sub> es independientemente, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo, o heteroarilo;
- 20 R<sub>11</sub> es independientemente halógeno, nitro, -OR<sub>10</sub>, -N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -CN, -C(=O)R<sub>10</sub>, -C(=O)OR<sub>10</sub>, -C(=O)N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -NR<sub>10</sub>C(=O)R<sub>10</sub>, NR<sub>10</sub>SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, -SOR<sub>10</sub>, -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub>, -SO<sub>2</sub>N(R<sub>10</sub>)<sub>2</sub>, -C(=O)OCH<sub>2</sub>SCH<sub>3</sub>, alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, cicloalquilo de C<sub>3</sub>-C<sub>8</sub>, haloalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, -alquil de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>-arilo, arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido;
- o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R<sub>4</sub> es arilo.
- 25 3. El compuesto de la reivindicación 2, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R<sub>2</sub> es -C(=O)OR<sub>9</sub>; y R<sub>9</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub> o heteroalquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.
4. El compuesto de la reivindicación 3, en el que L<sub>2</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.
5. El compuesto de la reivindicación 4, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que L<sub>2</sub> es -CH<sub>2</sub>-.
- 30 6. El compuesto de la reivindicación 5, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que L<sub>1</sub> es un enlace.
7. El compuesto de la reivindicación 6, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R<sub>1</sub> es -CF<sub>3</sub>, -C(=O)R<sub>8</sub>, -C(=O)OR<sub>8</sub>, -C(=O)N(R<sub>8</sub>)<sub>2</sub>, o -C(=CH<sub>2</sub>)CH<sub>3</sub>.
- 35 8. El compuesto de la reivindicación 7, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R<sub>4</sub> es fenilo; en el que el fenilo está sustituido con un R<sub>11</sub>.
9. El compuesto de la reivindicación 8, o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que R<sub>11</sub> es -SO<sub>2</sub>R<sub>10</sub> y R<sub>10</sub> es alquilo de C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>.
10. Un compuesto seleccionado de:





o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. Un compuesto, que es:



5 o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

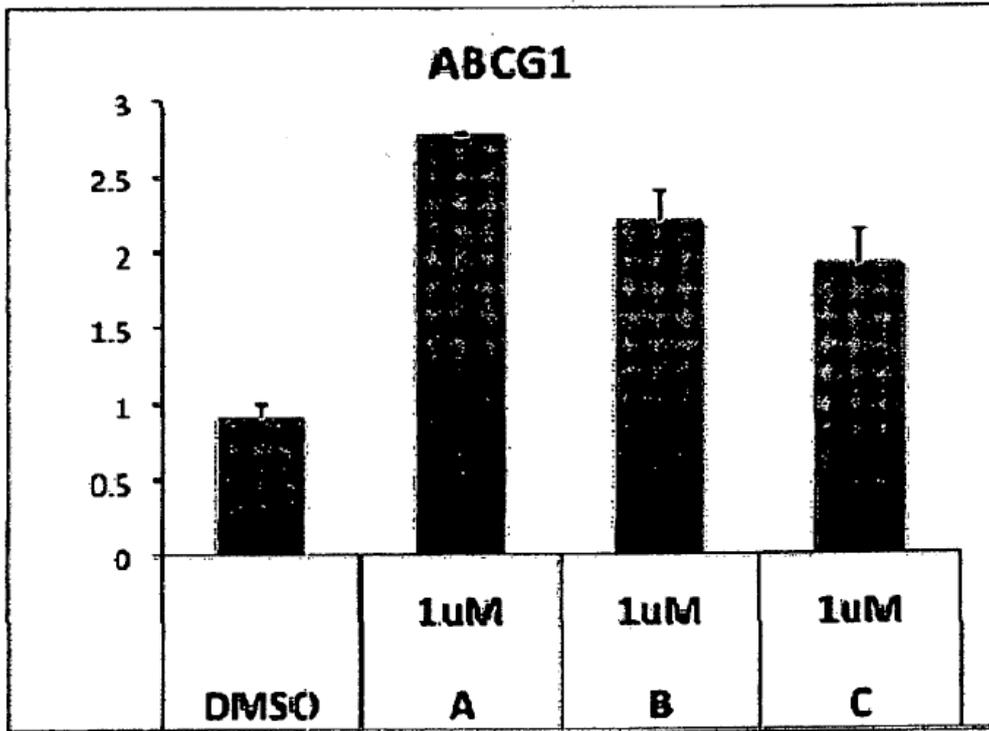
12. Una composición farmacéutica que comprende un diluyente, excipiente o aglomerante farmacéuticamente aceptable, y un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11; o una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 13. Un compuesto, sal o solvato de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para uso en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección dérmica en un mamífero que se beneficiaría de la modulación de LXR.

14. El compuesto, sal o solvato para su uso según la reivindicación 13, en el que la enfermedad, trastorno o afección dérmica se selecciona de envejecimiento de la piel, cicatrización, psoriasis, dermatitis, eczema, urticaria, rosácea, quemaduras, acné, ictiosis, vitíligo, melanoma metastásico y xerosis

15 15. El compuesto, sal o solvato para su uso según la reivindicación 14, en el que la dermatitis es una dermatitis atópica.

FIG. 1



**FIG. 2**

