(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 794 782**

(51) Int. CI.:

A61K 31/20 (2006.01)
A61K 31/192 (2006.01)
A61P 19/10 (2006.01)
A61P 19/08 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **08.10.2015 PCT/CA2015/000530**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **14.04.2016 WO16054725**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **08.10.2015 E 15849766 (9)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.01.2020 EP 3204000**

(54) Título: **Compuestos de carboxilato de fenilcetona y composiciones farmacéuticas para la prevención y el tratamiento de la osteoporosis**

(30) Prioridad:

10.10.2014 US 201462062660 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
19.11.2020

(73) Titular/es:

LIMINAL BIOSCIENCES LIMITED (100.0%)
Park Ground Floor, Unit 1 Iconix Park, London Road Sawston
Cambridge CB22 3EG, GB

(72) Inventor/es:

GAGNON, LYNE y
GROUIX, BRIGITTE

(74) Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

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

Compuestos de carboxilato de fenilcetona y composiciones farmacéuticas para la prevención y el tratamiento de la osteoporosis

CAMPO DE LA INVENCIÓN

La presente invención se refiere al campo de la medicina. Los aspectos particulares de la invención se refieren a compuestos, composiciones farmacéuticas y usos de los mismos para la prevención o el tratamiento de la osteoporosis.

ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

El hueso es un tejido altamente dinámico que se mueve y sustituye constantemente mediante un proceso que se conoce como remodelación ósea. La capacidad de remodelar un hueso asegura que un hueso viejo o un tejido dañado sea renovado y que la arquitectura del esqueleto pueda adaptarse más eficientemente a las demandas mecánicas. La remodelación ósea comienza con la eliminación de hueso viejo mediante las células de osteoclastos en una fase de resorción que dura varias semanas. A continuación, los osteoblastos migran a la cavidad de erosión y depositan un hueso nuevo al cabo de tres o cuatro meses. En el esqueleto normal, la remodelación ósea acopla las actividades de las células de osteoclasto y osteoblasto de modo tal que la cantidad de hueso nuevo previsto sea igual a la del hueso eliminado, manteniendo así una masa ósea saludable. Sin embargo, si la resorción ósea supera la formación ósea, habrá una pérdida neta de hueso. La afección resultante, la osteoporosis, se caracteriza por una resorción ósea excesiva y masa ósea baja posterior con aumento de la fragilidad ósea.

La osteoporosis es el término general que se usa para enfermedades del hueso de diversa etiología que se caracterizan por una reducción en la masa del hueso por volumen unitario a un nivel por debajo del requerido para un soporte mecánico adecuado (Krane, S.M. y col., "Metabolic Bone Disease" en Harrison's Principles of Internal Medicine, página 1889, Edición 11 (1987)). Una de las formas de la osteoporosis es la osteoporosis senil, la cual es responsable de una gran parte del dinero de salud gastado en la población geriátrica (Resnick, NM y col. "Senil Osteoporosis Reconsidered", JAMA 261, 1025-1029 (1989)). Las otras dos formas más comunes de la osteoporosis son la osteoporosis anterior o posterior a la menopausia y la osteoporosis inducida por corticosteroides. Los pacientes con enfermedad renal crónica (CKD) pueden desarrollar enfermedades óseas que pueden incluir osteoporosis como un resultado de los cambios en el metabolismo mineral y alteraciones posteriores en la estructura ósea. Muy a menudo, estos cambios empeoran con la pérdida progresiva de la función renal. En efecto, y tal como se resume en el siguiente párrafo, puede producirse una serie de condiciones patológicas que aumentan la probabilidad de desarrollar osteoporosis. La osteoporosis tipo osteomalacia comparte muchos de los síntomas con la osteoporosis, tales como la pérdida de calcio. La osteopenia se refiere a una densidad ósea más baja de lo normal, pero no tan baja como la que se observa en la osteoporosis. Se considera que es un precursor de la osteoporosis. La osteogénesis imperfecta es un trastorno óseo congénito caracterizado por huesos frágiles que son propensos a fracturarse. La osteopetrosis es una enfermedad hereditaria rara por la que los huesos se endurecen, pero son más frágiles de lo normal. La osteonecrosis es una enfermedad que causa la muerte del hueso y el colapso debido a la pérdida del suministro de sangre al hueso. La enfermedad ósea de Paget es causada por la excesiva degradación y formación de hueso, lo cual es seguido por la remodelación ósea desorganizada.

Como es sabido, varias enfermedades y afecciones pueden causar osteoporosis: enfermedades autoinmunes, incluyendo artritis reumatoide, lupus y esclerosis múltiple; trastornos gastrointestinales, incluyendo celiaquía, enfermedad inflamatoria del intestino, gastrectomía y procedimientos de derivación gastrointestinal; trastornos endócrinos/hormonales incluyendo diabetes, hiperparatiroidismo, tirotoxicosis y síndrome de Cushing; trastornos hematológicos, incluyendo leucemia, linfoma, mieloma múltiple, anemia de la enfermedad de las células falciformes (trastornos de la médula ósea) y talasemia; cáncer, incluyendo cáncer de mama y de próstata; trastornos neurológicos, incluyendo depresión, enfermedad de Parkinson y lesión de la médula espinal; enfermedades de órganos, incluyendo enfermedades del pulmón (EPOC, enfisema), hígado y renales crónicas; espondilitis anquilosante; SIDA/VIH; fractura ósea; mala alimentación, incluyendo trastornos de alimentación y desnutrición; y menopausia (premenopausia y posmenopausia).

Históricamente, el osteoblasto ha sido considerado como la célula maestra en el control del desarrollo de los osteoclastos y, por lo tanto, de la resorción ósea. Actualmente, las interacciones entre las células del sistema inmunitario y las células óseas han redefinido la forma de pensar sobre la regulación de la resorción ósea. La identificación de los osteoclastos y su papel en la destrucción ósea permite que la terapia dirigida reduzca su capacidad resortiva. Dichas terapias incluyen el uso de agentes que pueden interferir con el activador del receptor del ligando NFκB (RANKL), una de las principales citoquinas que promueven la diferenciación de los osteoclastos. Esto puede conseguirse mediante el uso de Fc de osteoprotegerina recombinante (Fc-OPG) o un anticuerpo anti-RANKL humanizado (Denosumab) que está siendo desarrollado por Amgen. Ambos productos han demostrado eficacia en

modelos preclínicos de la pérdida ósea, con denosumab progresando a través de ensayos clínicos; el Fc-OPG fue retirado de los ensayos clínicos debido a efectos secundarios inmunológicos. Otros inhibidores de la actividad de osteoclastos incluyen los bisfosfonatos, inhibidores de c-src, inhibidores de catepsina K e inhibidores del canal de cloruro CLC7 (Gillespie, M.T. (2007) Arthritis Research & Therapy, Volumen 9, N.º 2, págs. 103-105). En particular, los bisfosfonatos han tenido éxito en limitar la pérdida ósea en modelos de roedores con artritis, aunque cabe señalar que los bifosfonatos que contienen nitrógeno (incluyendo aldronato, ibandronato, pamidronato y zoledronato) aumentan la proliferación de los linfocitos T γ/δ, mientras que los bifosfonatos que no contienen nitrógeno (por ejemplo, clondronato) no lo hacen (Gillespie, M.T. (2007) Arthritis Research & Therapy, Volumen 9, N.º 2, págs. 103-105).

La mayoría de las estrategias de tratamiento actuales intentan reducir la pérdida ósea de calcio, a fin de retardar la aparición de la osteoporosis (Dawson-Hughes, B. y col., "A controllled trial of the effect of calcium supplementatin on bone density in postmenopausal women" NEJM 323, 878-883 (1990)). Como tales, los compuestos más comúnmente usados para el tratamiento de la osteoporosis pertenecen a la clase de fármacos de los bisfosfonatos. Los mismos se unen de manera ávida al hueso y se internalizan mediante los osteoclastos para inhibir la resorción ósea. Los bisfosfonatos se pueden administrar por vía oral o intravenosa. El alendronato (Fosmax™, oral) es el fármaco más comúnmente prescrito para el tratamiento de la osteoporosis posmenopáusica. Otros bisfosfonatos aprobados por la FDA de los EE.UU. son el risedronato (Actonel™, oral), el etidronato (Didronel™, oral), el zoledronato (Aclasta™, infusión) y el pamidronato (Aredial™, infusión). Los bifosfonatos orales se asocian a efectos secundarios gastrointestinales. Los efectos secundarios asociados a los bifosfonatos en general incluyen fracturas inusuales en el fémur (hueso del muslo) en lugar de en la cabeza del hueso, que es el sitio más común de fractura. Sin embargo, estas fracturas, que se asocian al uso de bisfosfonatos a largo plazo son raras en comparación con la frecuencia de las fracturas de cadera comunes que se asocian a la osteoporosis. No obstante, existe la preocupación de que el uso a largo plazo de los bisfosfonatos puede provocar la supresión excesiva del recambio óseo con la posterior dificultad de curar microgrietas en el hueso, la propagación de estas grietas y fracturas atípicas en última instancia. Adicionalmente, un aumento del riesgo de cáncer de esófago se asocia al uso de bifosfonatos orales a largo plazo. Además, se ha notificado que el uso de bisfosfonatos, específicamente de zoledronato y alendronato, representa un factor de riesgo para la fibrilación auricular. Por último, los bifosfonatos administrados por vía intravenosa para el tratamiento del cáncer se han asociado a la osteonecrosis de la mandíbula.

La hormona paratiroidea (1-84 PTH) desempeña un papel central en la homeostasis del calcio y, tras la administración intermitente, un efecto anabólico sobre la remodelación ósea. La teriparatida, aprobada por la FDA de los EE.UU. (Forteo), es una forma recombinante de una porción (aminoácidos 1-34) de la PTH usada para el tratamiento de la osteoporosis en hombres y mujeres posmenopáusicas que corren un alto riesgo de sufrir una fractura ósea. Se puede encontrar algún uso no autorizado para acelerar la curación de una fractura ósea. La teriparatida aumenta la formación de osteoblastos y previene la apoptosis de los osteoblastos. Sin embargo, a pesar del efecto anabólico de la teriparatida sobre el hueso, se ha vigilado el uso para el tratamiento de la osteoporosis debido a la alta incidencia asociada de osteosarcoma en modelos animales. Por lo tanto, la teriparatida no está recomendada para el uso en pacientes con mayor riesgo de tumores óseos.

Como resultado de los posibles efectos adversos de la terapia de sustitución hormonal a largo plazo (trastornos de tipo cardiovascular, uterino y cánceres, etc.), la misma ya no se recomienda para la prevención de la osteoporosis. Como tal, la misma ha sido sustituida, de alguna manera, por la introducción de la clase de fármacos moduladores de receptores de estrógenos selectivos (MRES), como lo ejemplifican el tamoxifeno y raloxifeno. El clorhidrato de raloxifeno fue aprobado por la FDA de los EE.UU. (Evista) para la prevención de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas. De hecho, una comparación directa con el alendronato oral diario (bisfosfonato) demostró que el raloxifeno oral diario era igual de efectivo a la hora de reducir el riesgo de fractura ósea. Sin embargo, los efectos secundarios del raloxifeno incluyen un mayor riesgo de accidente cerebrovascular fatal y tromboembolismo venoso. Otros efectos adversos incluyen inflamación de las piernas, dificultad para respirar y cambios en la visión.

El denosumab es un anticuerpo monoclonal totalmente humano para el tratamiento de la osteoporosis, la pérdida ósea inducida por el tratamiento, la metástasis ósea, el mieloma múltiple y el tumor de células gigantes del hueso. El denosumab fue aprobado por la FDA de los EE.UU. (Prolia) para la prevención de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas y (Xgeva) para la prevención de eventos relacionados con el esqueleto en pacientes con metástasis óseas de tumores sólidos. Este anticuerpo se une a RANKL (el ligando RANK) y lo inhibe, el cual es una proteína que actúa como la señal primaria para la eliminación de hueso en muchas condiciones de pérdida de hueso. Los precursores de células de osteoclastos (preosteoclastos) expresan receptores de RANK. La posterior unión de RANKL induce la activación del receptor y la maduración de los preosteoclastos en osteoclastos. Sin embargo, los efectos secundarios del denosumab incluyen infecciones de las vías urinarias y respiratorias, cataratas, estreñimiento, erupción cutánea y dolor en las articulaciones.

Como puede deducirse a partir de lo anterior, hay múltiples opciones disponibles para la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis, pero, de manera implícita con esta elección, está el hecho de que no hay ningún fármaco

universalmente disponible para la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis. Como también es evidente a partir de lo anterior, cada una de las opciones de tratamiento citadas está acompañada por varios efectos secundarios. En efecto, tanto los fármacos anteriores que han sido aprobados para su uso como los efectos secundarios en humanos están bien documentados en la bibliografía científica. Por ejemplo, un artículo de revisión relativamente reciente sobre el tema de la osteoporosis y las terapias actuales y sus efectos secundarios es "Osteoporosis - a current view of pharmacological prevention and treatment" Das, S. Crockett, J.C. Drug Design, Development and Therapy 7, 435-448 (2013). Como tal, existe una necesidad de un fármaco más universal, más seguro (especialmente en vistas del aumento de la longevidad y, por lo tanto, la mayor duración de la administración del fármaco) para la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis. Por lo tanto, existe una necesidad de nuevos procedimientos de tratamiento.

La patente de los EE.UU. N.º 6.372.728 (2002), asignada a AstraZeneca AB, describe una formulación oral mejorada de los bisfosfonatos, por ejemplo, del alendronato. Según esta patente, la biodisponibilidad oral de muchos bisfosfonatos es del 1-10 % entre comidas. La formulación mejorada emplea una potenciador de absorción de glicéridos de cadena media. La patente de los EE.UU. N.º 5.070.108 (1991), asignada a la Universidad de Pensilvania, reivindica el tratamiento de la osteoporosis con un retinoide tal como etretinato. Si bien fue aprobado inicialmente por la FDA para el tratamiento de la psoriasis, el etretinato ha sido retirado del mercado norteamericano debido al alto riesgo de defectos congénitos. El odanacatib es un fármaco novedoso, un inhibidor de la enzima catepsina K, que está bajo desarrollo clínico para el tratamiento de la osteoporosis y la metástasis ósea.

El documento WO 2012/055014 A1describe compuestos de carboxilato de fenilcetona que pueden usarse para tratar una afección relacionada con (i) trastornos sanguíneos, (ii) enfermedades relacionadas con la inflamación, (iii) trastornos renales y/o complicaciones de trastorno renal, o (iv) disfunción de órganos relacionada con fibrosis.

El documento WO 2012/097427 A1describe usos de compuestos de carboxilato de fenilcetona en el tratamiento contra el cáncer.

El documento WO 2006/124662 A1 describe compuestos de hidracina cíclicos y se explica que pueden usarse para modular la producción de IL-12 y los procesos mediados por IL-12.

Queiroz-Junior y col. ("A Controversial Role for IL-12 in Immune Response and Bone Resorption at Apical Periodontal Sites", Clinical & Developmental Immunology, vol. 2010, Article ID 327417) es una reseña que se concentra en los papeles de la IL-12 en las lesiones periapicales.

Kling y col. ("Osteoporosis Prevention, Screening, and Treatment: A Review", Journal of Women's Health, vol. 23, n.º 7, páginas 563-572) es una reseña que explora las recomendaciones de detección actuales para la osteoporosis a la luz de la nueva evidencia.

La presente invención tiene como objetivo abordar la necesidad de nuevos procedimientos de tratamiento, compuestos y composiciones farmacéuticas para pacientes afectados por, o susceptibles a, la osteoporosis.

Las características adicionales de la invención serán evidentes a partir de una reseña de la discusión, las figuras y la descripción de la invención en esta solicitud.

BREVE RESUMEN DE LA INVENCIÓN

La descripción se refiere al uso farmacéutico de los compuestos según la Fórmula I, como se define en esta solicitud, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. La invención se define mediante las reivindicaciones adjuntas.

Por ejemplo, la descripción describe el uso de compuestos y composiciones para la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis. Ciertos aspectos se refieren a los compuestos según la Fórmula I, como se define en esta solicitud, y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, como agentes profilácticamente efectivos y/o terapéuticamente efectivos contra varias formas de osteoporosis en sujetos. El sujeto es afectado por, o es susceptible de ser afectado por, pérdida ósea, fractura ósea y similares.

La descripción explica que los compuestos y composiciones descritos en esta solicitud son útiles para estimular la formación ósea y/o para estimular la remodelación ósea y/o para inhibir la resorción ósea.

Según el primer aspecto de la invención, se proporciona un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis. En algunas realizaciones, la osteoporosis se selecciona de entre el grupo que consiste en osteoporosis posmenopáusica (primaria de tipo 1), osteoporosis primaria de tipo 2, osteoclastogénesis anormalmente alta a osteoporosis secundaria, osteoporosis tipo osteomalacia, osteopenia, osteogénesis imperfecta, osteopetrosis, osteonecrosis, enfermedad de

los huesos de Paget, hipofosfatemia y combinaciones de las mismas. En una realización particular, la osteoporosis es osteoporosis posmenopáusica (primaria de tipo 1), osteoporosis primaria de tipo 2 u osteoporosis secundaria. En realizaciones más específicas, la osteoporosis es osteoporosis posmenopáusica (primaria de tipo 1).

La descripción también proporciona procedimientos de tratamiento donde los compuestos presentan una o más de las siguientes actividades biológicas en un sujeto: inhibición de la osteoclastogénesis; estimulación de la producción de interleucina-12 (IL-12) mediante una célula precursora de osteoclastos estimulada; reducción de la actividad de la fosfatasa ácida en células óseas (demuestra una reducción en la osteoclastogénesis); reducción del activador del receptor de la relación del ligando NF-κB (RANKL) sobre la osteoprotegerina (OPG) (relación RANKL/PG) en el hueso, lo que indica una reducción en la osteoclastogénesis; y el aumento del contenido de colágeno en el hueso.

Según el segundo aspecto, se proporciona un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la prevención y/o reducción de la pérdida ósea en un sujeto en necesidad del mismo. En una realización, la administración del compuesto reduce la pérdida de calcio. En una realización, el sujeto está afectado por, o es susceptible de padecer osteoporosis. En una realización, el sujeto es una mujer posmenopáusica.

La descripción también proporciona un procedimiento para inhibir la osteoclastogénesis, que comprende poner en contacto una célula precursora de osteoclastos con un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en esta solicitud, donde el compuesto inhibe la diferenciación de la célula precursora en una célula de osteoclastos.

La descripción también proporciona un procedimiento para estimular la producción de interleucina-12 (IL-12) mediante una célula precursora de osteoclastos estimulada, que comprende poner en contacto dicha célula precursora de osteoclastos estimulada con un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en esta solicitud, donde un aumento de la producción de IL-12 puede medirse en presencia del compuesto.

La descripción también proporciona un procedimiento para reducir la actividad de la fosfatasa ácida en las células óseas, que comprende poner en contacto las células óseas con un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en esta solicitud, donde una reducción en la actividad de la fosfatasa puede medirse en presencia del compuesto.

La descripción también proporciona un procedimiento para reducir la expresión y/o la actividad del activador del receptor de la relación del ligando NF-κB/osteoprotegerina (relación RANKL/OPG) en las células óseas, que comprende poner en contacto las células óseas con un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en esta solicitud.

La descripción también proporciona un procedimiento para aumentar el contenido de colágeno en el hueso, que comprende poner el hueso en contacto con un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en esta solicitud.

Según el tercer aspecto, se proporciona un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la estimulación de la formación ósea y/o para la estimulación de la remodelación ósea y/o para la inhibición de la resorción ósea.

El compuesto está destinado al uso de manera concomitante con un fármaco seleccionado de entre el grupo que consiste en: bifosfonatos, odanacatib, alendronato, risendronato, etidronato, zoledronato, pamidronato, teriparatida, tamoxifeno, raloxifeno y denosumab.

La descripción también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de Fórmula I para la fabricación de un medicamento, por ejemplo, un medicamento para la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis. Un ejemplo particular es una composición farmacéutica para impedir o tratar la osteoporosis, que comprende un compuesto representado por la Fórmula I, como se define en esta solicitud, y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Otro ejemplo particular es una composición farmacéutica para impedir o tratar la osteoporosis, que comprende un compuesto, como se define en la **Tabla 1**, y más particularmente, una composición farmacéutica que comprende el Compuesto I. Un aspecto relacionado se refiere a procedimientos para la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis, que comprenden administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente efectiva de una composición farmacéutica, como se define en esta solicitud.

La descripción también proporciona un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en esta solicitud, o una composición que comprende el mismo, para su uso en

la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

La Figura 1 es un gráfico de líneas que demuestra el efecto del Compuesto I sobre el peso corporal de ratas ovariectomizadas (OVX), según el Ejemplo 3.

La Figura 2 es un panel con gráficos de barras que demuestra el efecto del Compuesto I sobre el calcio en la orina de ratas ovariectomizadas (OVX), según el Ejemplo 4.

La Figura 3 es un panel con gráficos de barras que demuestra el efecto del Compuesto I sobre la actividad de la fosfatasa ácida en suero de ratas ovariectomizadas (OVX), según el Ejemplo 4.

La Figura 4 es un gráfico de barras que demuestra el efecto del Compuesto I sobre la expresión de ARNm de RANKL/OPG del marcador de osteoclastos en la tibia de ratas ovariectomizadas (OVX), según el Ejemplo 4.

La Figura 5 es un gráfico de barras que demuestra el efecto del Compuesto I sobre el contenido de colágeno en la metáfisis del fémur de rata, según el Ejemplo 4.

La Figura 6 es un panel con imágenes que ilustran el efecto del Compuesto I sobre el contenido de colágeno en la metáfisis del fémur de rata, según el Ejemplo 4.

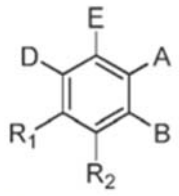
Figura 7 es un panel con imágenes ampliadas correspondientes a las imágenes de la Figura 6.

DESCRIPCIÓN DETALLADA

La presente descripción proporciona los compuestos de Fórmula I, sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, composiciones que comprenden los mismos y usos de los mismos.

A) Compuestos

La descripción se refiere a los usos farmacéuticos de compuestos representados por la **Fórmula I** o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos:

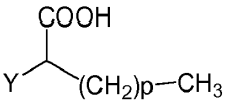


Fórmula I

donde:

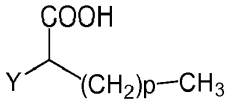
R_1 y R_2 son independientemente iguales a H, F u OH;

A es $(CH_2)_mCOOH$, $W(CH_2)_mCOOH$ o



cuando B es H; o B es $(CH_2)_mCOOH$,

$W(CH_2)_mCOOH$ o



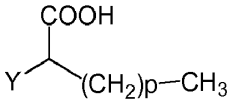
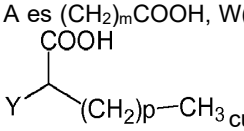
cuando A es H; o

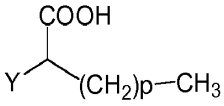
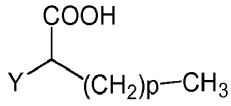
A y B se unen covalentemente para formar un cicloalquilo de cinco (5), seis (6) o siete (7) miembros sustituido con COOH;
donde:

Y es O, S, NH, o CH_2;
W es O, S, o NH;
m es 0-2; y
p es 3-7;

D es $CO(CH_2)_nCH_3$ o $CHOH(CH_2)_nCH_3$ o $O(CH_2)_nCH_3$ cuando n es 2-6; y

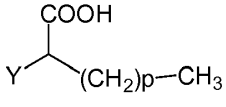
E es H o F.

Según una realización particular, A es $(CH_2)_mCOOH$, $W(CH_2)_mCOOH$ o  cuando B es H; o B es $(CH_2)_mCOOH$, $W(CH_2)_mCOOH$ o  cuando A es H; y A y B no se unen covalentemente entre sí para formar un cicloalquilo sustituido con COOH.

Según una realización particular, A es  cuando B es H; o B es  cuando A es H; o A y B se unen covalentemente entre sí para formar un cicloalquilo de cinco (5), seis (6) o siete (7) miembros sustituido con COOH.

Según una realización particular, n es 3-6, o n es 4-6, o n es 6.

Según una realización particular, R_1 es H y R_2 es H.

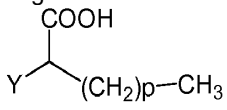
Según una realización particular, A es H y B es  donde Y es O, y p es 5-7, y preferentemente p es 7.

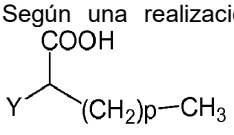
Según una realización particular, m es 1-2; y preferentemente m es 1 o preferentemente m es 2.

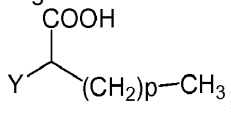
Según una realización particular, E es H; y D es $CO(CH_2)_nCH_3$ o $CHOH(CH_2)_nCH_3$ o $O(CH_2)_nCH_3$ donde n es 2-6, o n es 4-6.

Según una realización particular, D es $CO(CH_2)_nCH_3$ donde n es 2-6, o n es 4-6.

Según una realización particular, E es H; y D es $CO(CH_2)_nCH_3$ donde n es 2-6, o n es 4-6.

Según una realización particular, el compuesto es de Fórmula I; donde R_1 y R_2 son H; A es H; B es  donde Y es O, y p es 5-7; E es H; D es $CO(CH_2)_nCH_3$ o $CHOH(CH_2)_nCH_3$ o $O(CH_2)_nCH_3$; y n es 2-6, o n es 4-6.

Según una realización particular, el compuesto es de Fórmula I; donde R_1 y R_2 son H; A es H; B es  donde Y es O y p es 5-7; E es H; D es $CO(CH_2)_nCH_3$; y n es 2-6, o n es 4-6.

Según una realización particular, el compuesto es de Fórmula I; donde n es 4-6; R_1 y R_2 son H; B es H; A es  ; Y es O; y p es 5-7; E es H; D es $CO(CH_2)_nCH_3$ o $CHOH(CH_2)_nCH_3$ o $O(CH_2)_nCH_3$; y n es 2-6, o n es 4-6.

Como se usa en esta solicitud, el término "cicloalquilo" tiene por objeto significar un grupo de hidrocarburo alifático saturado monocíclico que tiene el número especificado de átomos de carbono en el mismo, por ejemplo, como en cicloalquilo C_5-C_7 se define como que incluye grupos que tienen 5, 6 o 7 carbonos en una disposición monocíclica. Ejemplos de cicloalquilo C_5-C_7 incluyen, entre otros, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo.

Ejemplos de compuestos de Fórmula I incluyen, entre otros, los Compuestos I a VII enumerados en la Tabla 1 más adelante. En una realización preferida, el compuesto está representado por la forma ácida o una sal farmacéuticamente aceptable de uno cualquiera de los Compuestos I a VII.

Los solicitantes han descrito en otra parte los compuestos cuya estructura está relacionada con la estructura de algunos de los compuestos de Fórmula I. Se hace referencia por ejemplo a los compuestos descritos en la solicitud PCT internacional WO 2012/055014. Por consiguiente, en realizaciones particulares, uno cualquiera o todos los Compuestos descritos en esta PCT se excluyen del alcance de la Fórmula I.

Sales

Como se usa en esta solicitud, el término "sal farmacéuticamente aceptable" tiene por objeto significar sales de adición de bases. Un ejemplo de sales farmacéuticamente aceptables también se describe, por ejemplo, en Berge y col., "Pharmaceutical Salts", J. Pharm. Sci. 66, 1-19 (1977). Las sales farmacéuticamente aceptables se pueden sintetizar a partir del agente parental que contiene una fracción ácida, mediante procedimientos químicos convencionales. En general, dichas sales se preparan mediante la reacción de las formas de ácido libre de estos agentes con una cantidad estequiométrica de la base apropiada en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de ambos. Las sales se pueden preparar *in situ,* durante el aislamiento o purificación final del agente, o mediante la reacción por separado de un compuesto purificado de Fórmula I en su forma de ácido libre con la base correspondiente deseada, y el aislamiento de la sal formada de este modo.

La sal farmacéuticamente aceptable de los compuestos de Fórmula I se puede seleccionar de entre el grupo que consiste en sales de adición de bases de sodio, potasio, calcio, magnesio y litio, amonio, manganeso, zinc, hierro o cobre. En realizaciones preferidas, la sal farmacéuticamente aceptable de los compuestos de Fórmula I puede ser la sal de sodio, potasio, calcio, magnesio o litio. Más preferentemente, la sal farmacéuticamente aceptable es sodio.

Todas las formas de ácido, sal y otras formas iónicas y no iónicas de los compuestos descritos se incluyen como compuestos de Fórmula I. Por ejemplo, si se muestra un compuesto como un ácido en esta solicitud, también se incluyen las formas de sal del compuesto. Del mismo modo, si se muestra un compuesto como una sal, también se incluyen las formas ácidas.

Quiralidad

Los compuestos de Fórmula I, sus sales farmacéuticamente aceptables, pueden contener uno o más centros asimétricos, ejes quirales y planos quirales y, por consiguiente, pueden dar origen a enantiómeros, diastereómeros y otras formas esteroisoméricas, y pueden definirse en términos de estereoquímica absoluta, tales como (R)- o (S)-. La presente descripción tiene por objeto incluir todos los isómeros posibles, así como también sus formas ópticamente puras y racémicas. Los isómeros ópticamente activos (+) y (-), (R)- y (S)-, pueden prepararse usando síntonos quirales o reactivos quirales, o resolverse usando técnicas convencionales, como la HPLC de fase inversa. Las mezclas racémicas se pueden preparar y, a partir de ahí, se pueden separar en isómeros ópticos individuales o estos isómeros ópticos se pueden preparar mediante síntesis quiral. Los enantiómeros pueden resolverse mediante procedimientos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, mediante la formación de sales diastereoisoméricas que, a continuación, pueden separarse mediante cristalización, cromatografía líquida o de gas-líquido, y reacción selectiva de un enantiómero con un reactivo específico de enantiómero. Los expertos en la materia también apreciarán que,

cuando el enantiómero deseado se convierte en otra entidad química mediante una técnica de separación, a continuación, se requiere una etapa adicional para dar origen a la forma enantiomérica deseada. Como alternativa, los enantiómeros específicos se pueden sintetizar mediante síntesis asimétrica usando reactivos ópticamente activos, sustratos, catalizadores, o disolventes o convirtiendo un enantiómero en otro mediante transformación asimétrica.

Ciertos compuestos de Fórmula I pueden existir en forma zwitteriónica y la descripción incluye las formas zwitteriónicas de estos compuestos y mezclas de las mismas.

Hidratos

Además, los compuestos de Fórmula I también pueden existir en formas hidratadas y anhidras. Los hidratos de cualquiera de las fórmulas descritas en esta solicitud se incluyen como compuestos de Fórmula I que pueden existir como un monohidrato o en la forma de un polihidrato.

B) Procedimientos de preparación

En general, todos los compuestos de Fórmula I se pueden preparar mediante cualquier procedimiento convencional, usando materiales de partida, reactivos y procedimientos de síntesis convencionales fácil y/o convencionalmente disponibles. Resulta de particular interés el trabajo de Hundertmark, T.; Littke, A.F.; Buchwald, S.L.; Fu, G.C. Org. Lett. 12, 1729-1731 (2000).

La sección de ejemplificación, en lo sucesivo, proporciona esquemas y generales y ejemplos específicos, aunque no limitantes, de la síntesis de los Compuestos I a VII.

C) Aplicaciones farmacéuticas

Como se indica y se ejemplifica en esta solicitud, los compuestos de Fórmula I tienen propiedades farmacéuticas beneficiosas y estos compuestos pueden tener aplicaciones farmacéuticas útiles en los sujetos. Las aplicaciones médicas y farmacéuticas contempladas por los inventores incluyen, entre otras, la prevención y/o el tratamiento de diversas formas de osteoporosis. Como se usa en esta solicitud, el término "osteoporosis" se refiere a una enfermedad ósea progresiva que se caracteriza por una disminución de la masa y la densidad ósea, lo que puede llevar a un mayor riesgo de fractura ósea. El término "osteoporosis" abarca la osteoporosis primaria de tipo 1 o la osteoporosis posmenopáusica (más común en las mujeres después de la menopausia), la osteoporosis primaria de tipo 2 (se produce tanto en hombres como mujeres, por lo general, a los 75 años de edad) y la osteoporosis secundaria (que puede aparecer a cualquier edad, una forma que resulta de enfermedades o problemas médicos de predisposición crónica, o del uso prolongado de medicamentos tales como los glucocorticoides (a continuación, la enfermedad se puede denominar osteoporosis inducida por esteroides o glucocorticoides)). Como se usa en esta solicitud, "osteoporosis" también incluye trastornos óseos que involucran una pérdida de la masa y/o la densidad ósea, tal como en la osteoclastogénesis anormalmente alta, la osteoporosis tipo osteomalacia, la osteopenia, la osteogénesis imperfecta, la osteopetrosis, la osteonecrosis, la enfermedad de los huesos de Paget, la hipofosfatemia y las combinaciones de las mismas.

Como es sabido, son varias las enfermedades y afecciones que pueden causar osteoporosis, y los compuestos de Fórmula I pueden ser útiles para impedir y/o tratar la osteoporosis directa o indirectamente relacionada con una o más de estas causas:

- enfermedades autoinmunes, incluyendo artritis reumatoide, lupus y esclerosis múltiple;
- trastornos gastrointestinales, incluyendo celiaquía, enfermedad inflamatoria del intestino, gastrectomía y procedimientos de derivación gastrointestinal;
- trastornos endocrinos/hormonales, incluyendo diabetes, hiperparatiroidismo, tirotoxicosis y síndrome de Cushing;
- trastornos hematológicos, incluyendo leucemia, linfoma, mieloma múltiple, anemia de la enfermedad de las células falciformes (trastornos de la médula ósea) y talasemia;
- cáncer, incluyendo cáncer de mama y de próstata;
- trastornos neurológicos, incluyendo depresión, enfermedad de Parkinson y lesión de la médula espinal;
- enfermedades de órganos, incluyendo las enfermedades de pulmón (EPOC, enfisema), de hígado y renal crónica (CKD);
- espondilitis anquilosante;
- SIDA/VIH;
- mala alimentación, incluyendo trastornos de la alimentación y desnutrición; y
- osteoporosis perimenopaúsica o posmenopáusica y osteoporosis inducida por corticosteroides.

En una realización, la osteoporosis es osteoporosis primaria de tipo 1 u osteoporosis posmenopáusica. En otra

realización, la osteoporosis es osteoporosis primaria de tipo 2.

El término "sujeto" incluye organismos vivos en los que se puede producir una osteoporosis, o que son susceptibles a dicha enfermedad. El término "sujeto" incluye animales tales como mamíferos o aves. Preferentemente, el sujeto es un mamífero. Más preferentemente, el sujeto es un ser humano. Lo más preferentemente, el sujeto es un paciente humano que necesita tratamiento. En realizaciones preferidas, el sujeto es una persona que tiene o que padece cualquiera de las siguientes afecciones: osteoporosis primaria de tipo 1, osteoporosis posmenopáusica, menopausia (premenopausia y posmenopausia), osteoporosis primaria de tipo 2, edad superior a los 75 años, fractura de hueso, osteoporosis, enfermedad o problemas médicos de predisposición crónica, uso prolongado de medicamentos tales como glucocorticoides, osteoclastogénesis anormalmente alta, osteoporosis tipo osteomalacia, osteopenia, osteogénesis imperfecta, osteopetrosis, osteonecrosis, enfermedad de los huesos de Paget, hipofosfatemia y combinaciones de las mismas. En una realización preferida, el sujeto es una mujer posmenopáusica.

Como se usa en esta solicitud, "impedir" o "prevención" tienen por objeto hacer referencia a al menos la reducción de la probabilidad del riesgo de (o la susceptibilidad a) adquirir una enfermedad o trastorno (es decir, hacer que no se desarrolle ni siquiera al menos uno de los síntomas clínicos de la enfermedad en un paciente que pueda estar expuesto o predispuesto a la enfermedad, pero que aún no haya experimentado ni mostrado los síntomas de la enfermedad). Los parámetros biológicos y fisiológicos para identificar a dichos pacientes se proporcionan en esta solicitud y también son bien conocidos por los médicos. En realizaciones preferidas, "impedir" o "prevención" se refieren a impedir la reducción de masa y/o densidad ósea y/o a reducir el riesgo de sufrir una fractura ósea.

Los términos "tratamiento" o "tratar" de/a un sujeto incluyen la aplicación o administración de un compuesto de Fórmula I a un sujeto (o aplicación o administración de un compuesto de Fórmula I a una célula o tejido de un sujeto) con el fin de retrasar, estabilizar, curar, sanar, mitigar, aliviar, alterar, remediar, empeorar en menor medida, mejorar, potenciar o afectar la enfermedad o afección, el síntoma de la enfermedad o afección, o el riesgo de (o la susceptibilidad a) la enfermedad o afección. El término "tratar" se refiere a cualquier indicación de éxito en el tratamiento o la mejora de una lesión, patología o afección, incluyendo cualquier parámetro objetivo o subjetivo, tal como la disminución; remisión; reducción de la tasa de empeoramiento; disminución de la gravedad de la enfermedad; estabilización, disminución de los síntomas o hacer que la lesión, la patología o la afección sea más tolerable para el sujeto; ralentización en la tasa de degeneración o declive; hacer que el punto final de degeneración sea menos debilitante; o mejorar el bienestar físico o mental de un sujeto. En algunas realizaciones, el término "tratar" puede incluir el aumento de la expectativa de vida de un sujeto y/o un retraso hasta necesitar tratamientos adicionales. En realizaciones preferidas, "tratamiento" o "tratar" se refiere a aumentar la masa y/o la densidad ósea, y/o al aumento de la curación de fracturas óseas.

Además, en algunas realizaciones, los compuestos de Fórmula I están destinados al uso en la monoterapia destinada a la prevención del tratamiento y/o al tratamiento de la osteoporosis. En otras realizaciones, los compuestos de Fórmula I están destinados al uso en combinación con fármacos ya aprobados, incluyendo, entre otros, los fármacos usados para el tratamiento de la osteoporosis. Los ejemplos de los agentes relacionados con la osteoporosis que se conocen y pueden usarse en combinación con los compuestos de Fórmula I incluyen, entre otros, bifosfonatos, odanacatib, alendronato, risedronato, etidronato, zoledronato, pamidronato, teriparatida, tamoxifeno, raloxifeno y denosumab.

Por consiguiente, los procedimientos de tratamiento según la descripción en esta solicitud pueden incluir también la coadministración de al menos un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con la administración de otro agente terapéuticamente efectivo. Por lo tanto, la descripción también proporciona procedimientos para el tratamiento terapéutico concomitante de un sujeto, que comprende administrar a un sujeto que lo necesita una cantidad efectiva de un primer agente y un segundo agente, donde el primer agente es como se define en la Fórmula I, y el segundo agente es para la prevención o el tratamiento de uno cualquiera de los trastornos o enfermedades como se ha definido anteriormente. Como se usa en esta solicitud, el término "concomitante" o "concomitantemente", como en las frases "tratamiento terapéutico concomitante" o "concomitantemente con", incluye la administración de un primer agente en presencia de un segundo agente. Un procedimiento de tratamiento terapéutico concomitante incluye procedimientos en los que el primero, el segundo, el tercero o los agentes adicionales se coadministran. Un procedimiento de tratamiento terapéutico concomitante también incluye procedimientos en los que el primer agente o los agentes adicionales se administran en presencia de un segundo agente o agentes adicionales, donde el segundo agente o los agentes adicionales, por ejemplo, pueden haber sido administrados anteriormente. Un procedimiento de tratamiento terapéutico concomitante puede ejecutarse gradualmente a través de diferentes actores. Por ejemplo, un actor puede administrar a un sujeto un primer agente y un segundo actor puede administrar al sujeto un segundo agente y las etapas de administración pueden ejecutarse al mismo tiempo, o casi al mismo tiempo, o en momentos distantes, siempre y cuando el primer agente (y/o los agentes adicionales) tenga lugar después de la administración en presencia del segundo agente (y/o los agentes adicionales). El actor y el sujeto pueden ser la misma entidad (por ejemplo, un ser humano).

Por consiguiente, la descripción también se refiere a un procedimiento para impedir, reducir o eliminar un síntoma o complicación de una cualquiera de las enfermedades y afecciones antes mencionadas. El procedimiento comprende administrar a un sujeto que lo necesita una primera composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de Fórmula I y una segunda composición farmacéutica que comprende uno o más ingredientes activos adicionales, donde todos los ingredientes activos se administran en una cantidad suficiente para inhibir, reducir y eliminar uno o más síntomas o complicaciones de la enfermedad o afección a tratar. En un aspecto, la administración de la primera y la segunda composición farmacéutica involucra un espaciamiento temporal de al menos dos minutos aproximadamente. Preferentemente, el primer agente es un compuesto de Fórmula I, como se define en esta solicitud, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, por ejemplo, sal de sodio. El segundo agente puede seleccionarse de entre la lista de compuestos que se proporcionó anteriormente (por ejemplo, agentes o fármacos usados para la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis).

Inhibición de la osteoclastogénesis

Los osteoclastos son un tipo de células de hueso que reabsorbe el tejido óseo. El osteoclasto desmonta el hueso a un nivel molecular mediante la secreción de ácido y una colagenasa. Este proceso es conocido como resorción ósea. La osteoclastogénesis se refiere a la diferenciación de los precursores de los osteoclastos en osteoclastos. En la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis, resulta deseable reducir la osteoclastogénesis.

Los osteoblastos son un tipo de células que sintetizan hueso. Los osteoblastos surgen a partir de células madre mesenquimales. En la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis, resulta deseable estimular la diferenciación osteoblástica.

Como se muestra en lo sucesivo en los ejemplos, los compuestos de Fórmula I son capaces de inhibir y/o reducir la osteoclastogénesis. Esto se demuestra, por ejemplo, mediante: una fuerte inducción de la producción de IL-12 en células RAW264.7 estimuladas con LPS (Ejemplo 3, Tabla 1); una reducción de la pérdida de calcio *in vivo* (Ejemplo 4, Figura 2); una reducción de la actividad de la fosfatasa ácida *in vivo* (Ejemplo 4, Figura 3); una disminución de la expresión de ARNm de RANKL/OPG in vivo (Ejemplo 4, Figura 4); un aumento en el contenido de colágeno *in vivo* (Ejemplo 4, Figuras 5, 6 y 7).

Estos resultados sugieren una capacidad de los compuestos de Fórmula I para impedir/tratar la osteoporosis, a través de la inhibición y/o la reducción de la actividad de los osteoclastos.

Los resultados también demuestran una capacidad de los compuestos de Fórmula I para impedir y/o reducir la pérdida ósea, incluyendo, entre otros, la pérdida de calcio. Por consiguiente, estos resultados sugieren adicionalmente una capacidad de los compuestos de Fórmula I para impedir/tratar la osteoporosis, por medio de la estimulación de la diferenciación osteoblástica.

Estimulación de la producción de interleucina-12 (IL-12)

Como se muestra en lo sucesivo en los ejemplos, los compuestos de Fórmula I inducen la producción de IL-12 en presencia de LPS. Estos resultados sugieren una capacidad de estos compuestos para impedir y/o tratar la osteoporosis, como un resultado de la inducción de IL-12. Esto es respaldado por la bibliografía científica que enseña que la IL-12 presenta un efecto inhibitorio directo sobre la osteoclastogénesis.

Por consiguiente, los compuestos de Fórmula I y las composiciones de los mismos pueden ser útiles para la estimulación de la producción de la interleucina-12 (IL-12) incluyendo, entre otros, la producción mediante una célula precursora de osteoclastos estimulada.

Reducción de la actividad de la fosfatasa ácida

Como se muestra en lo sucesivo en los ejemplos, los compuestos de Fórmula I reducen la actividad enzimática de la fosfatasa ácida, conforme lo medido en el suero de las ratas ovariectomizadas. Estos resultados sugieren una capacidad de estos compuestos para impedir y/o tratar la osteoporosis como un resultado de la reducción de la actividad enzimática de la fosfatasa ácida.

Por consiguiente, los compuestos de Fórmula I y las composiciones de los mismos pueden ser útiles para reducir la actividad de la fosfatasa ácida en las células óseas.

Reducción de la expresión del activador del receptor del ligando NF-κB (RANKL)

Como se muestra en lo sucesivo en los ejemplos, los compuestos de Fórmula I reducen la expresión de ARNm de

RANKL, conforme lo medido en la tibia de las ratas ovariectomizadas. Estos resultados sugieren la capacidad de estos compuestos para impedir y/o tratar la osteoporosis como un resultado de la reducción de la expresión y/o la actividad biológica de RANKL.

Por consiguiente, los compuestos de Fórmula I y las composiciones de los mismos pueden ser útiles para reducir la expresión y/o la actividad de RANKL en las células óseas.

Aumento del contenido de colágeno

Como se muestra en lo sucesivo en los ejemplos, los compuestos de Fórmula I aumentan el contenido de colágeno en el hueso, conforme lo medido en la metáfisis del fémur de las ratas ovariectomizadas. Estos resultados sugieren una capacidad de estos compuestos para impedir y/o tratar la osteoporosis como se demuestra mediante el incremento del contenido de colágeno en el hueso.

Por consiguiente, los compuestos de Fórmula I y las composiciones de los mismos pueden ser útiles para aumentar el contenido de colágeno en el hueso vivo.

Estimulación de la formación ósea

Los compuestos de Fórmula I y las composiciones de los mismos son útiles para estimular la formación ósea y/o para estimular la remodelación ósea y/o para estimular la diferenciación y la mineralización de los osteoblastos y/o para inhibir la resorción ósea.

D) Composiciones y formulaciones farmacéuticas

La descripción también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente efectiva de uno o más compuestos de Fórmula I. Como se ha indicado anteriormente, las composiciones farmacéuticas pueden ser útiles: en la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis; en la inhibición de la osteoclastogénesis; en la estimulación de la producción de interleucina-12 (IL-12) por una célula precursora de osteoclastos estimulada; en la reducción de la actividad de la fosfatasa ácida en las células óseas; en la reducción de la expresión del activador del receptor del ligando NF-κB (RANKL) en las células óseas; en el aumento de contenido de colágeno en el hueso, en la estimulación de la formación ósea; en la estimulación de la remodelación ósea; en la estimulación de la mineralización ósea; y/o en la inhibición de la resorción ósea.

Como se usa en esta solicitud, el término "cantidad terapéuticamente efectiva" significa la cantidad de compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar o impedir un trastorno, una enfermedad o una afección particulares, es suficiente para efectuar dicho tratamiento o prevención de ese trastorno, enfermedad o afección. Las dosificaciones y las cantidades terapéuticamente efectivas pueden variar, por ejemplo, dependiendo de una variedad de factores, incluyendo la actividad del agente específico empleado, la edad, el peso corporal, la salud general, el género y la dieta del sujeto, el tiempo de administración, la vía de administración, la velocidad de excreción y cualquier combinación de fármacos, si corresponde, el efecto que el médico desea que tenga el compuesto en el sujeto (por ejemplo; la respuesta total o parcial, como se evidencia mediante los factores que incluyen aumentar la masa y/o la densidad ósea (o la reducción de una disminución de las mismas), reducir un riesgo de fractura ósea, etc.), las propiedades de los compuestos (por ejemplo, biodisponibilidad, estabilidad, potencia, toxicidad, etc.) y el o los trastornos particulares que padece el sujeto. Además, la cantidad terapéuticamente efectiva puede depender de los parámetros de sangre del sujeto (por ejemplo, los niveles de calcio, el perfil lipídico, los niveles de insulina y la glucemia), la gravedad del estado de la enfermedad, la función del órgano, o la enfermedad subyacente o las complicaciones. Dichas dosis apropiadas pueden determinarse usando cualquier ensayo disponible, incluyendo los ensayos descritos en esta solicitud. Cuando uno o más de los compuestos de Fórmula I debe administrarse a los seres humanos, un médico puede, por ejemplo, prescribir una dosis relativamente baja al principio, aumentando posteriormente la dosis hasta obtener una respuesta apropiada. La dosis a administrar quedará, en última instancia, a criterio del oncólogo. En general, sin embargo, se prevé que la dosis para los presentes compuestos puede ubicarse en el intervalo de aproximadamente 1 a aproximadamente 50 mg/kg por día en seres humanos. El intervalo puede ser de entre 1 y 30 mg/kg por día en seres humanos. El intervalo puede ser de entre 1 y 20 mg/kg por día en seres humanos. El intervalo puede ser de entre 5 y 18 mg/kg por día en seres humanos. El intervalo puede ser de entre 1 y 18 mg/kg por día en seres humanos.

Como se usa en solicitud, el término "composición farmacéutica" se refiere a la presencia de al menos un compuesto de Fórmula I, como se define en esta solicitud, y al menos un portador, diluyente, vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable. Como se usa en esta solicitud, los términos "vehículo farmacéuticamente aceptable", "diluyente farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" tienen por objeto significar, sin limitación, cualquier adyuvante, vehículo, excipiente, lubricante, agente endulzante, diluyente, conservante, tinte/colorante, realzador del sabor, tensoactivo, agente humectante, agente dispersante, agente de suspensión,

estabilizador, agente isotónico, disolvente, emulsionante o agente encapsulante, como un liposoma, ciclodextrinas, sistemas de administración poliméricos de encapsulación o una matriz de polietilenglicol, que es aceptable para su uso en sujetos, preferentemente, seres humanos. Preferentemente se refiere a un compuesto o una composición que cuenta con la aprobación o la factibilidad de obtener la aprobación de una agencia reguladora del gobierno estatal o federal, o de formar parte de la Farmacopea de los EE.UU. u otra farmacopea reconocida de manera general para su uso en animales y, más particularmente, en seres humanos. El vehículo farmacéuticamente aceptable puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales. Los ejemplos adicionales de los vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, entre otros: agua para inyección USP; vehículos acuosos como, entre otros, la inyección de cloruro de sodio, la inyección de Ringer, la inyección de dextrosa, la inyección de dextrosa y cloruro de sodio, y la inyección lactada de Ringer; vehículos miscibles con agua como, entre otros, alcohol etílico, polietilenglicol y polipropilenglicol; y vehículos no acuosos como, entre otros, aceite de maíz, aceite de semillas de algodón, aceite de cacahuete, aceite de sésamo, oleato de etilo, miristato de isopropilo y benzoato de bencilo. La prevención de la acción de los microorganismos se puede lograr mediante la adición de agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido ascórbico, timerosal y similares. En muchos casos, se incluyen agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio o polialcoholes, tales como manitol y sorbitol, a la composición. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede conseguirse incluyendo, en la composición, un agente que retrase la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio o gelatina.

La composición puede incluir uno o más compuestos de Fórmula I, como se define en esta solicitud, o sales farmacéuticamente aceptables o enantiómeros de los mismos. Las formulaciones del compuesto activo se pueden preparar de modo tal que proporcionen la composición farmacéutica en una forma adecuada para la administración enteral, por mucosa (incluyendo las vías sublingual, pulmonar y rectal), parenteral (incluyendo las vías intramuscular, intradérmica, subcutánea e intravenosa) o tópica (incluyendo pomadas, cremas o lociones). Según corresponda, la formulación puede presentarse, convenientemente, en unidades de dosificación discretas y puede prepararse mediante cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Todos los procedimientos incluyen la etapa que consiste en reunir el ingrediente farmacéuticamente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, según sea necesario. Según corresponda, las formulaciones antes descritas se pueden adaptar a fin de proporcionar la liberación sostenida del ingrediente farmacéuticamente activo. Las formulaciones de liberación sostenida bien conocidas en la técnica incluyen el uso de una inyección en bolo, infusión continua, polímeros biocompatibles o liposomas.

E) Kits

El o los compuestos de Fórmula I pueden empaquetarse como parte de un kit, opcionalmente incluyendo un recipiente (por ejemplo, un envase, una caja, un vial, etc.). El kit puede usarse comercialmente según los procedimientos descritos en esta solicitud y puede incluir instrucciones para su uso en un procedimiento. Los componentes adicionales del kit pueden incluir ácidos, bases, agentes tamponantes, sales inorgánicas, disolventes, antioxidantes, conservantes o quelantes metálicos. Los componentes adicionales del kit están presentes como composiciones puras, o como soluciones acuosas u orgánicas que incorporan uno o más componentes adicionales del kit. Todos o cualquiera de los componentes del kit comprenden además tampones.

El o los compuestos de Fórmula I pueden o no ser administrados a un paciente al mismo tiempo o por la misma vía de administración. Por lo tanto, los procedimientos abarcan kits que, al ser usados por el médico, pueden simplificar la administración de cantidades apropiadas de dos o más ingredientes activos a un paciente.

Un kit típico comprende una forma de dosificación unitaria de al menos un compuesto de Fórmula I, como se define en esta solicitud, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una forma de dosificación unitaria de al menos un ingrediente activo adicional. Los ejemplos de ingredientes activos adicionales que pueden usarse en conjunto con los compuestos de Fórmula I incluyen, entre otros, cualquiera de los fármacos que se indicaron anteriormente (por ejemplo, los fármacos usados para el tratamiento de la osteoporosis) que podrían usarse en combinación con el o los compuestos de Fórmula I.

Los kits pueden comprender además vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden usarse para administrar uno o más ingredientes activos. Por ejemplo, si se proporciona un ingrediente activo en una forma sólida que debe reconstituirse para una administración parenteral, el kit puede comprender un recipiente sellado o un vehículo adecuado en el que el ingrediente activo puede disolverse para formar una solución estéril libre de particulados que es adecuada para la administración parenteral. Los ejemplos de los vehículos farmacéuticamente aceptables se proporcionan a continuación.

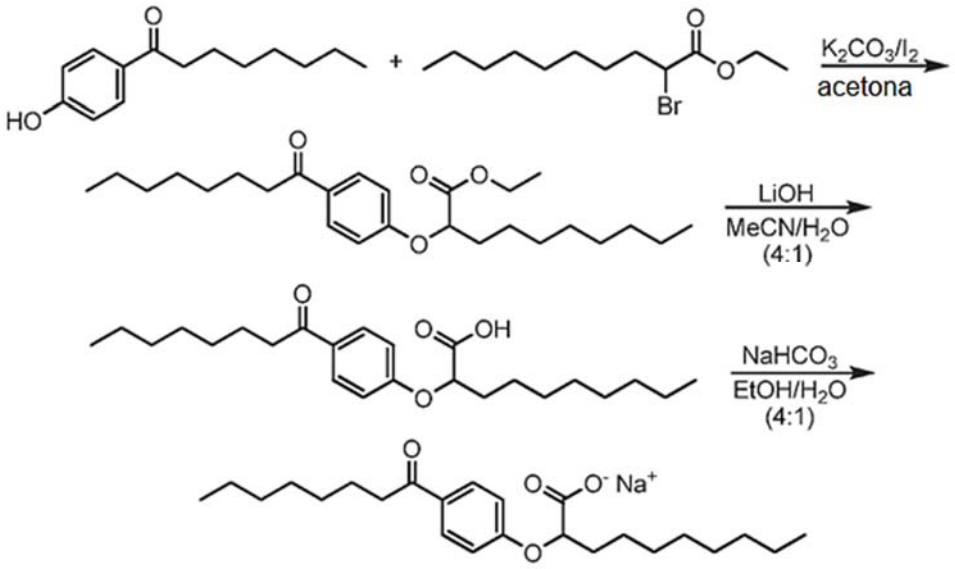
EJEMPLOS

Ejemplo 1: Procedimientos experimentales para la preparación de ciertos compuestos representativos

Todas los cromatogramas de HPLC y los espectros de masa se registraron en un instrumento HP 1100 LC-MS de Agilent™ usando una columna analítica C18 (250 × 4,6 mm, 5 micrómetros) con un gradiente durante 5 min de CH_3CN-H_2O al 15-99 % con TFA al 0,01 % como eluyente y un flujo de 2 ml/min.

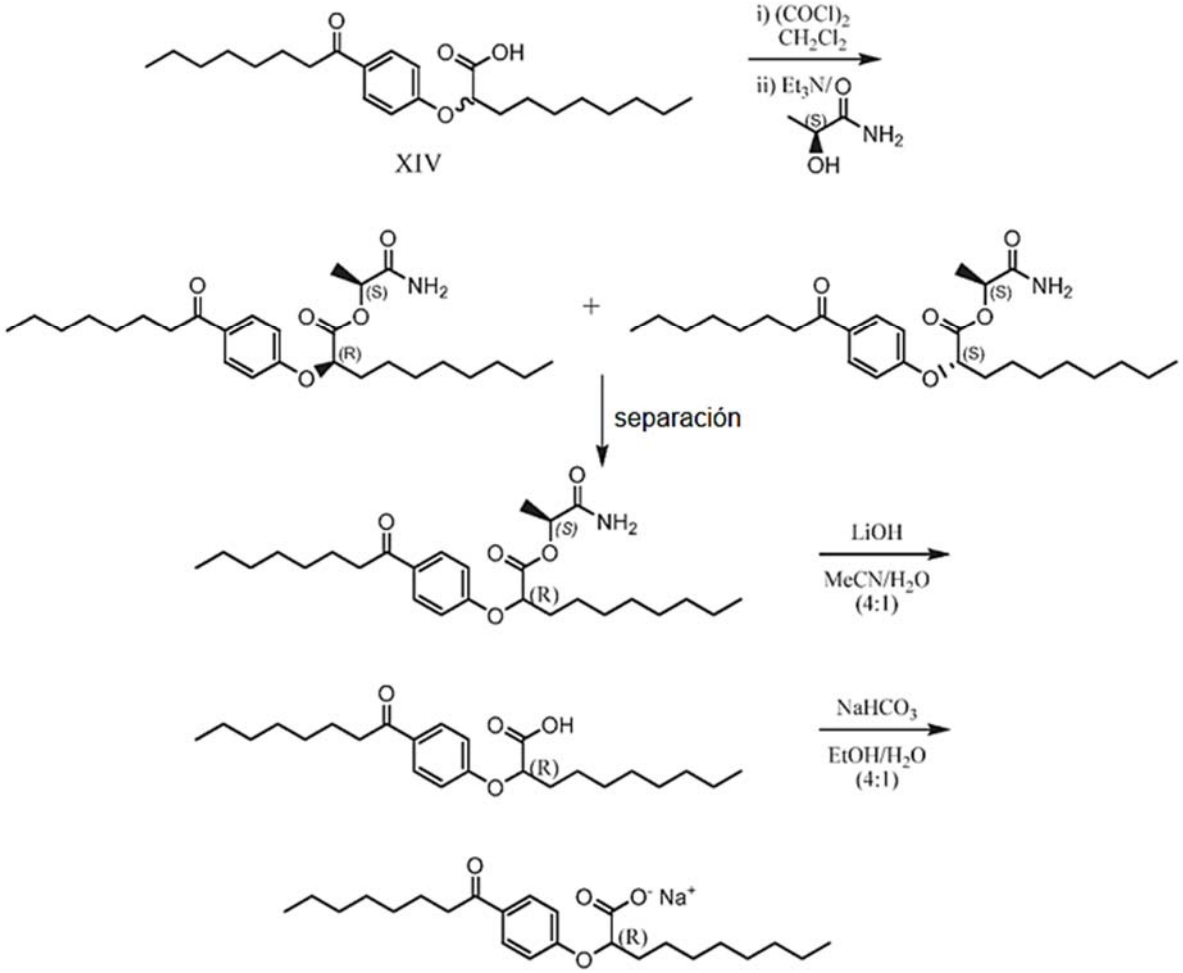
Compuesto I: (*RS*)-2-[4-octanoilfenoxi]decanoato de sodio

[0091]



Se trató una mezcla de 1-[4-hidroxifenil]octan-1-ona (10,0 g, 45,4 mmol), K_2CO_3 (9,4 g, 68,1 mmol) y yodo (1,5 g, 9,1 mmol) en acetona (100 mL), con 2-bromodecanoato de etilo (13,9 g, 49,9 mmol), y la reacción se agitó a temperatura ambiente, bajo nitrógeno, durante la noche. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se particionó entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado; se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se evaporó al vacío. El material crudo se purificó en una almohadilla de gel de sílice, eluyéndolo con acetato de etilo al 5 %/hexano para dar (RS)-2-[4-octanoilfenoxi]decanoato de etilo (11,9 g, 62 %) en forma de un aceite incoloro. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,92 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,89 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,66 (dd, *J* = 7,5, 5,2 Hz, 1H), 4,21 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,89 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,90-2,03 (m, 2H), 1,66-1,74 (m, 2H), 1,43-1,56 (m, 2H), 1,24-1,37 (m, 18H), 1,24 (t, *J* = 7,2 Hz, 2H), 0,85-0,89 (m, 6H). Se trató una solución de éster etílico (11,9 g, 28,3 mmol) en una mezcla de tetrahidrofurano (360 ml), metanol (90 ml) y agua (90 ml), con hidróxido de litio monohidrato (5,9 g, 141,5 mmol), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 20 h. Se añadió una segunda porción de hidróxido de litio monohidrato (2,3 g, 54,8 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 h adicionales. La mezcla de reacción se concentró al vacío y el residuo se particionó entre acetato de etilo y agua. La fase orgánica se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado; se secó sobre sulfato de magnesio; se filtró y se evaporó al vacío para dar el producto crudo. La purificación en una almohadilla de gel de sílice, eluyéndose con acetato de etilo al 40 %/hexano; y la recristalización a partir de hexanos dio ácido (RS)-2-[4-octanoilfenoxi]decanoico (9,46 g, 86 %) en forma de un sólido blanco. pf. 45-47 ºC; ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,93 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,91 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,72 (dd, *J* = 6,8, 5,7 Hz, 1H), 2,90 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,98-2,04 (m, 2H), 1,67-1,74 (m, 2H), 1,46-1,59 (m, 2H), 1,24-1,37 (m, 18H), 0,87 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H), 0,88 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H). Se trató una solución del ácido (9,4 g, 24,1 mmol) en etanol (200 ml) con una solución de bicarbonato de sodio (2,0 g, 24,1 mmol) en agua (50 ml), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. Los disolventes se concentraron al vacío, y la solución se diluyó con agua (950 ml), se filtró (0,2 µm) y se liofilizó para dar (RS)-2-[4-octanoilfenoxi]decanoato de sodio en forma de un sólido blanco (8,8 g, 88 %). pf 275-280 ºC; ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,96 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,97 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,72 (dd, *J* = 6,2, 5,9 Hz, 1H), 2,95 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,94-1,99 (m, 2H), 1,64-1,72 (m, 2H), 1,49-1,57 (m, 2H), 1,28-1,40 (m, 18H), 0,90 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H), 0,89 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, CD_3OD): δ 200,72, 177,83, 163,37, 130,20, 129,61, 114,70, 79,55, 37,94, 33,19, 31,87, 31,76, 29,45, 29,38, 29,24, 29,22, 29,16, 25,74, 24,85, 22,57, 22,52, 13,29, 13,28; LRMS (ESI): *m/z* 391 (M - Na^+ + $2H^+$); HPLC: 6 min.

Resolución del Compuesto I a través de un auxiliar de éster quiral:



El mismo procedimiento se repitió para el isómero (S)

Sales de (*R*)- y (*S*)-2-[4-octanoilfenoxi]decanoato de sodio

1. Formación y separación de ésteres de (*S*)-lactamida:

Se trató una solución de ácido (*RS*)-2-[4-octanoilfenoxi]decanoico (0,95 g, 2,4 mmol) en diclorometano (20 ml) gota a gota con cloruro de oxalilo (0,26 ml, 3,1 mmol), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadió trietilamina (0,51 ml, 3,7 mmol), seguido de (*S*)-lactamida (0,54 g, 6,1 mmol), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas. A continuación se diluyó la solución con acetato de etilo (100 ml), y se lavó con HCl acuoso 1 M (100 ml), agua (100 ml) y cloruro de sodio acuoso saturado (50 ml), y acto seguido se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó al vacío.Los dos diastereómeros se separaron en una columna Biotage ™ de 40 l (sílice), se eluyeron con éter dietílico/hexano 1:4 a 1:1, a continuación, con acetato de etilo/hexano 1:4 a 1:1. Esto proporciona los diastereómeros puros separados.

Primer diastereómero (0,51 g, 45 %) en forma de un sólido ceráceo blanco: ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,93 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,91 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 5,68 (br s, 1H), 5,54 (br s, 1H), 5,22 (q, *J* = 6,8 Hz, 1H), 4,77 (dd, *J* = 7,3, 5,2 Hz, 1H), 2,88 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,92-2,08 (m, 2H), 1,69, (tt, *J* = 7,3, 7,3 Hz, 2H), 1,46-1,56 (m, 2H), 1,47, (d, *J* = 6,8 Hz, 3H), 1,23-1,38 (m, 18H), 0,86 (t, *J* = 6,6 Hz, 6H); ^{13}C RMN (101MHz, $CDCl_3$): δ 199,15, 172,34, 170,09, 161,35, 131,47, 130,82, 114,56, 76,70, 71,16, 38,59, 32,90, 32,00, 31,93, 29,57, 29,52, 29,35 (3C), 25,26, 24,68, 22,84 (2C), 17,85, 14,29 (2C).

Segundo diastereómero (0,47 g, 42 %) en forma de un aceite incoloro viscoso: ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,90 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,91 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,25 (br s, 1H), 6,15 (br s, 1H), 5,20 (q, *J* = 6,9 Hz, 1H), 4,79 (dd, *J* = 6,6, 5,9 Hz, 1H), 2,88 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,95-2,01 (m, 2H), 1,68, (tt, *J* = 7,3, 7,3 Hz, 2H), 1,47-1,55 (m, 2H), 1,39, (d, *J* = 6,8

Hz, 3H), 1,22-1,37 (m, 18H), 0,86 (t, *J* = 6,8 Hz, 6H); ^{13}C RMN (101MHz, $CDCl_3$): δ 199,43, 172,71, 170,29, 161,52, 131,31, 130,60, 114,84, 76,48, 71,13, 38,59, 32,80, 32,00, 31,93, 29,58, 29,53, 29,36 (3C), 25,36, 24,76, 22,84, 17,69, 14,29 (2C).

2. Conversión de diastereómeros a la sal de sodio correspondiente

Procedimiento general:

Se trató una solución del éster diastereomérico (1,73 g, 3,7 mmol) en acetonitrilo (72 ml) con una solución de hidróxido de litio (0,45 g, 18,7 mmol) en agua (18 ml), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 17 horas. La reacción se inactivó mediante la adición de HCl acuoso 1 M (150 ml), y se extrajo con acetato de etilo (2 x 100 ml). Los extractos combinados se lavaron con agua (150 ml) y con cloruro de sodio acuoso saturado (150 ml); acto seguido se secaron sobre sulfato de sodio; se filtraron y se evaporaron al vacío para dar el ácido crudo.

Primer enantiómero (mayor R_f, gel de sílice): La purificación en una columna Biotage™ de 40 l (sílice), eluido con acetato de etilo/hexano 1:9 a 7:3, dio el enantiómero ácido purificado en forma de un sólido blanco (1,28 g, 87 %). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 11,50 (s, 1H), 7,92 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,90 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,71 (dd, *J* = 6,4, 5,9 Hz, 1H), 2,89 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,97-2,03 (m, 2H), 1,69, (tt, *J* = 7,1, 7,1 Hz, 2H), 1,45-1,59 (m, 2H), 1,21-1,38 (m, 18H), 0,862 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), 0,859 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101MHz, $CDCl_3$): δ 200,20, 176,59, 161,76, 131,00, 130,77, 114,83, 76,15, 38,59, 32,80, 32,03, 31,93, 29,59, 29,53, 29,39, 29,37 (2C), 25,38, 24,91, 22,89 (2C), 14,30 (2C).

Se trató una solución del ácido (1,28 g, 3,2 mmol) en etanol (20 ml) con una solución de bicarbonato de sodio (0,27 g, 3,2 mmol) en agua (5 ml), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Los disolventes se evaporaron al vacío para dar la sal cruda en forma de un sólido ceráceo blanco. Este material se disolvió en agua (130 ml), se filtró (0,2 micrómetros; nylon) y se liofilizó para dar el enantiómero puro en forma de un sólido blanco (1,1 g, 97 %). ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,91 (d, *J* = 8,6 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 4,46 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H), 2,92 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 1,90-1,95 (m, 2H), 1,66, (tt, *J* = 7,2, 7,2 Hz, 2H), 1,44-1,61 (m, 2H), 1,24-1,39 (m, 18H), 0,890 (t, *J* = 6,7 Hz, 3H), 0,882 (t, *J* = 6,7 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101MHz, CD_3OD): δ 200,66, 177,83, 163,37, 130,24, 129,64, 114,73, 79,59, 37,96, 33,20, 31,87, 31,76, 29,46, 29,40, 29,26, 29,22, 29,16, 25,75, 24,86, 22,57, 22,53, 13,32, 13,29; falta recopilar otros datos.

Segundo enantiómero (menor R_f, gel de sílice): La purificación en una columna Biotage™ de 40 l (sílice), eluido con acetato de etilo/hexano 1:9 a 7:3, dio el enantiómero ácido purificado en forma de un sólido blanco (1,10 g, 87 %). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 11,51 (s, 1H), 7,91 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,90 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,71 (dd, *J* = 6,6, 5,9 Hz, 1H), 2,89 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,97-2,03 (m, 2H), 1,69, (tt, *J* = 7,1, 7,1 Hz, 2H), 1,45-1,58 (m, 2H), 1,21-1,37 (m, 18H), 0,862 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H), 0,858 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101MHz, $CDCl_3$): δ 200,16, 176,47, 161,77, 131,03, 130,76, 114,84, 76,18, 38,58, 32,79, 32,02, 31,93, 29,58, 29,52, 29,37, 29,36 (2C), 25,36, 24,91, 22,84 (2C), 14,35, 14,28.

Se trató una solución del ácido (1,1 g, 2,7 mmol) en etanol (16 ml) con una solución de bicarbonato de sodio (0,23 g, 2,7 mmol) en agua (4 ml), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 h. Los disolventes se evaporaron al vacío para dar la sal cruda en forma de un jarabe incoloro límpido. Este material se disolvió en agua (100 ml), se filtró (0,2 micrómetros; nylon) y se liofilizó para dar el enantiómero puro en forma de un sólido blanco (1,12 g, 99 %). ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,91 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,46 (t, *J* = 6,2 Hz, 1H), 2,92 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,90-1,95 (m, 2H), 1,66, (tt, *J* = 7,1, 7,1 Hz, 2H), 1,45-1,61 (m, 2H), 1,24-1,39 (m, 18H), 0,890 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,881 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101MHz, CD_3OD): δ 200,65, 177,82, 163,37, 130,20, 129,65, 114,74, 79,58, 37,96, 33,19, 31,87, 31,76, 29,46, 29,40, 29,26, 29,22, 29,16, 25,75, 24,86, 22,57, 22,53, 13,32, 13,29.

<u>Compuesto II</u>: (RS)-2-[3-fluoro-4-octanoilfenoxi]decanoato de sodio

El compuesto del título se preparó usando el mismo procedimiento que para el Compuesto I, partiendo de 3-fluoro-4-octanoilfenol (preparado por acilación de Friedel-Crafts de 3-fluorofenol). pf 220-226 ºC; ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,78 (dd, J_{HH} = 8,8 Hz, J_{HF} = 8,8 Hz, 1H), 6,79 (dd, J_{HH} = 8,8 Hz, 2,3 Hz, 1H), 6,67 (dd, J_{HF} = 13,7 Hz, J_{HH} = 2,3 Hz, 1H), 4,44 (t, *J* = 6,3 Hz, 1H), 2,89 (td, J_{HH} = 7,3 Hz, J_{HF} = 2,7 Hz, 2H), 1,89-1,94 (m, 2H), 1,61-1,66 (m, 2H), 1,44-1,60 (m, 2H), 1,24-1,38 (m, 18H), 0,89 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H), 0,88 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, CD_3OD): δ 198,20 (d, J_{CF} = 4,6 Hz), 177,23, 164,63 (d, J_{CF} = 12,3 Hz), 163,62 (d, J_{CF} = 253,7 Hz), 131,60 (d, J_{CF} = 4,6 Hz), 117,92 (d, J_{CF} = 13,1 Hz), 111,72, 102,50 (d, J_{CF} = 27,7 Hz), 80,03, 42,82, 42,75, 33,04, 31,86, 31,73, 29,44, 29,35, 29,21, 29,13, 25,65, 24,26, 22,56, 22,52, 13,29 y 13,27; ^{19}F RMN (377 MHz, CD_3OD): δ -108,77 (dd, J_{HF} = 13,3 Hz, 9,3 Hz, 1F); LRMS (ESI): *m/z* 409,6 (100 %, M- Na^+ + $2H^+$); HPLC: 3,7 min.

<u>Compuesto III</u>: (*RS*)-4-octanoilindano-2-carboxilato de sodio

Se aisló (*RS*)-4-octanoil-2-carboxilato de metilo (71 mg, 4 %) en forma de un producto secundario en la preparación de su isómero, (*RS*)-5-octanoil-2-carboxilato de metilo. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,66 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,35 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,24 (dd, *J* = 7,6, 7,6 Hz, 1H), 3,69 (s, 3H), 3,64 (A de ABX, *J* = 18,0, 9,4 Hz, 1H), 3,48 (B de ABX, *J* = 18,1, 7,3 Hz, 1H), 3,13-3,34 (m, 3H), 2,90 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,68 (tt, *J* = 7,2, 7,2 Hz, 2H), 1,24-1,38 (m, 8H), 0,86 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$): δ 203,01, 176,79, 144,82, 143,67, 134,73, 129,30, 128,35, 127,83, 52,91, 44,06, 40,82, 38,71, 36,44, 32,73, 30,34, 30,19, 25,36, 23,64, 15,10. Se saponificó (*RS*)-4-octanoil-2-carboxilato de metilo (71 mg, 0,24 mmol) según el protocolo estándar para dar ácido (*RS*)-4-octanoil-2-carboxílico (66 mg, 96 %) en forma de un sólido blanquecino. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,69 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 7,39 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,26 (dd, *J* = 7,6, 7,6 Hz, 1H), 3,67 (A de ABX, *J* = 18,0, 9,0 Hz, 1H), 3,56 (B de ABX, *J* = 18,0, 6,9 Hz, 1H), 3,19-3,39 (m, 3H), 2,93 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,70 (tt, *J* = 7,3, 7,3 Hz, 2H), 1,24-1,38 (m, 8H), 0,88 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H). Se convirtió ácido (*RS*)-4-octanoil-2-carboxílico (66 mg, 0,23 mmol) en la sal de sodio según el protocolo estándar para dar (*RS*)-4-octanoil-2-carboxilato de sodio (70 mg, 99 %) en forma de un sólido blanquecino. pf 106-110 ºC, ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,69 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 7,38 (d, *J* = 7,4 Hz, 1H), 7,24 (dd, *J* = 7,6, 7,6 Hz, 1H), 3,37-3,56 (m, 2H), 3,10-3,21 (m, 3H), 2,95 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 1,66 (tt, *J* = 7,3, 7,3 Hz, 2H), 1,26-1,39 (m, 8H), 0,89 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, CD_3OD): δ 203,56, 182,93, 145,34, 143,96, 133,93, 128,26, 126,97, 126,42, 47,62, 39,89, 38,69, 36,70, 31,76, 29,21, 29,17, 24,55, 22,52, 13,28; LRMS (ESI): *m/z* 577,6 (fuerte, 2M - $2Na^+$ + $3H^+$), 289,2 (100 %, M - Na^+ + $2H^+$); HPLC: 3,43 min.

Compuesto IV: (*RS*)-2-[4-octanoilfenoxi]octanoato de sodio

Se hicieron reaccionar 1-[4-hidroxifenil]-1-octanona (440 mg, 2,0 mmol) y (*RS*)-2-bromooctanoato de etilo (552 mg, 2,2 mmol) según el procedimiento usado para la preparación del Compuesto I para dar (*RS*)-2-[4-octanoilfenoxi]octanoato de etilo (605 mg, 78 %). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,91 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,88 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,66 (dd, *J* = 5,1, 7,4 Hz, 1H), 4,20 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,88 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,88-2,02 (m, 2H), 1,70 (tt, *J* = 7,2, 7,2 Hz, 2H), 1,41-1,56 (m, 2H), 1,25-1,37 (m, 14H), 1,23 (t, *J* = 7,1 Hz, 3H), 0,87 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 0,86 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$): δ 199,41, 171,48, 161,81, 131,01, 130,54 (2C), 114,77 (2C), 76,75, 61,62, 38,56, 32,90, 31,94, 31,78, 29,60, 29,38, 29,07, 25,33, 24,80, 22,85, 22,75, 14,39, 14,31, 14,26. Se saponificó el éster resultante (605 mg, 1,6 mmol) con hidróxido de litio (186 mg, 7,8 mmol) según el procedimiento usado para la preparación del Compuesto I para dar ácido (*RS*)-2-[4-octanoilfenoxi]octanoico (487 mg, 87 %). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 9,70 (br s, 1H), 7,89 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,89 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,69 (dd, *J* = 5,9, 6,6 Hz, 1H), 2,87 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,95-2,01 (m, 2H), 1,67 (tt, *J* = 7,2, 7,2 Hz, 2H), 1,43-1,58 (m, 2H), 1,24-1,37 (m, 14H), 0,851 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,849 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$): δ 200,38, 176,08, 161,84, 130,85, 130,78 (2C), 114,83 (2C), 76,20, 38,56, 32,79, 31,93, 31,76, 29,57, 29,35, 29,05, 25,34, 24,92, 22,84, 22,74, 14,29, 14,23. A continuación se convirtió el ácido (500 mg, 1,4 mmol) en la sal de sodio según el procedimiento usado para la preparación del Compuesto **I** para dar (*RS*)-2-[4-octanoilfenoxi]octanoato de sodio (404 mg, 76 %) en forma de un sólido blanco. pf 165-170 ºC; ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,91 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,95 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 4,58 (dd, *J* = 6,1, 6,3 Hz, 1H), 2,91 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 1,91-1,96 (m, 2H), 1,62-1,69 (m, 2H), 1,44-1,58 (m, 2H), 1,25-1,39 (m, 14H), 0,87-0,90 (m, 6H); ^{13}C RMN (101 MHz, CD_3OD): δ 200,50, 176,40, 162,96, 130,28 (2C), 129,94, 114,71 (2C), 78,38, 38,00, 32,98, 31,79, 31,74, 29,27, 29,20, 29,05, 25,50, 24,79, 22,56, 22,51, 13,36, 13,34; LRMS (ESI): *m/z* 769 (M_2H^+), 748 (2M - Na^+ + $2H^+$), 363 (M - Na^+ + $2H^+$); HPLC: 3 min.

Compuesto V: (RS)-2-[4-butirilfenoxi]decanoato de sodio

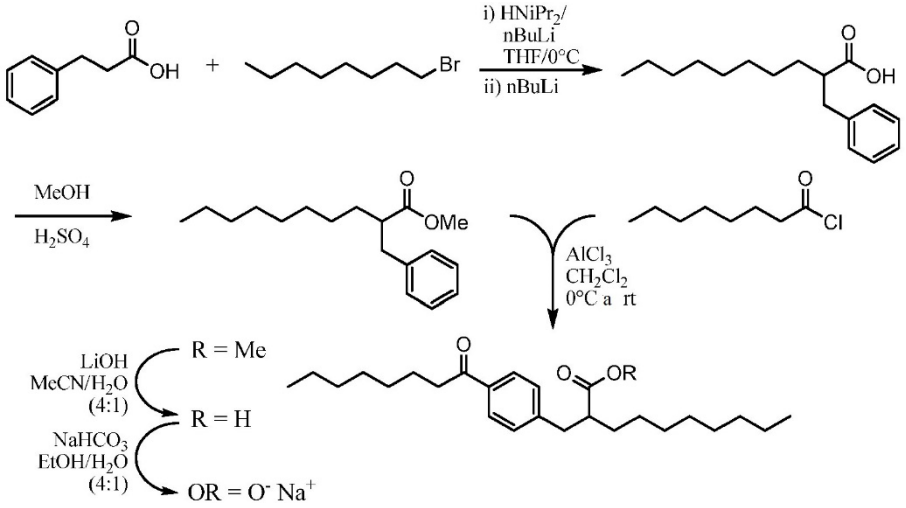
Se hicieron reaccionar 1-[4-hidroxifenil]-1-butanona (328 mg, 2,0 mmol) y (*RS*)-2-bromodecanoato de etilo (614 mg, 2,2 mmol) según el procedimiento usado para la preparación del Compuesto **IV** para dar (RS)-2-[4-butirilfenoxi]decanoato de etilo (616 mg, 85 %) como una forma de aceite incoloro claro. ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,88 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,86 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,64 (dd, *J* = 5,7, 6,8 Hz, 1H), 4,17 (q, *J* = 7,2 Hz, 2H), 2,83 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 1,85-1,99 (m, 2H), 1,65-1,75 (m, 2H), 1,39-1,44 (m, 2H), 1,22-1,34 (m, 10H), 1,20 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 0,94 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 0,83 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$): δ 199,04, 171,39, 161,80, 130,98, 130,48 (2C), 114,74 (2C), 76,68, 61,55, 40,37, 32,85, 32,01, 29,53, 29,37 (2C), 25,33, 22,84, 18,11, 14,34, 14,29, 14,10. Se saponificó el éster resultante (616 mg, 1,70 mmol) con hidróxido de litio (203 mg, 8,5 mmol) según el procedimiento usado para la preparación del Compuesto **IV** dar ácido (*RS*)-2-[4-butirilfenoxi]decanoico (166 mg, 29 %). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 10,06 (br s, 1H), 7,91 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,90 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,70 (dd, *J* = 5,9, 6,4 Hz, 1H), 2,87 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 1,96-2,02 (m, 2H), 1,68-1,77 (m, 2H), 1,44-1,59 (m, 2H), 1,24-1,37 (m, 10H), 0,97 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 0,86 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$): δ 199,95, 176,56, 161,74, 131,03, 130,73 (2C), 114,82 (2C), 76,16, 40,47, 32,79, 32,03, 29,53, 29,39, 29,37, 25,38, 22,86, 18,26, 14,31, 14,12. A continuación se convirtió el ácido (166 mg, 0,5 mmol) en la sal de sodio según el procedimiento usado para la preparación del Compuesto **IV** para dar (RS)-2-[4-butirilfenoxi]decanoato de sodio (149 mg, 85 %) en forma de un sólido blanco. pf 262-278 ºC; ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,91 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,70 (dd, *J* = 6,1, 6,5 Hz, 1H), 2,90 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 1,88-1,93 (m, 2H), 1,67 (tq, *J* = 7,4, 7,4 Hz, 2H), 1,41-1,57 (m, 2H), 1,20-1,35 (m, 10H), 0,95 (t, *J* = 7,4 Hz, 3H), 0,83 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, CD_3OD): δ 201,82, 178,07, 163,36, 130,53 (2C), 129,54, 114,83 (2C),

79,46, 39,99, 33,11, 31,80, 29,40, 29,27, 29,15, 25,72, 22,54, 18,30, 14,46, 14,15; LRMS (ESI): *m/z* 713 (M_2H^+), 669 (2M - $2Na^+$ + $3H^+$), 335 (M - Na^+ + $2H^+$); HPLC: 3 min.

Compuesto VI: (*RS*)-2-[4-hexanoilfenoxi]decanoato de sodio

Se hicieron reaccionar 1-[4-hidroxifenil]-1-hexanona (384 mg, 2,0 mmol) y (*RS*)-2-bromodecanoato de etilo (614 mg, 2,2 mmol) según el procedimiento usado para la preparación del Compuesto **IV** para dar (*RS*)-2-[4-hexanoilfenoxi]decanoato de etilo (628 mg, 80 %). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,86 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,84 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 4,60-4,65 (m, 1H), 4,15 (q, *J* = 7,0 Hz, 2H), 2,83 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 1,86-1,97 (m, 2H), 1,61-1,70 (m, 2H), 1,38-1,52 (m, 2H), 1,20-1,34 (m, 14H), 1,18 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H), 0,78-0,87 (m, 6H); ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$): δ 199,17, 171,36, 161,78, 130,95, 130,46 (2C), 114,72 (2C), 76,66, 61,51, 38,41, 32,84, 32,00, 31,76, 29,52, 29,35 (2C), 25,31, 24,41, 22,83, 22,74, 14,33, 14,26, 14,14. Se saponificó el éster resultante (628 mg, 1,6 mmol) con hidróxido de litio (193 mg, 8,0 mmol) según el procedimiento usado para la preparación del Compuesto **IV** dar ácido (RS)-2-[4-hexanoilfenoxi]decanoico (468 mg, 80 %). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,93 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 6,91 (d, *J* = 9,0 Hz, 2H), 5,77 (br s, 1H), 4,70 (dd, *J* = 5,8, 6,6 Hz, 1H), 2,89 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 1,97-2,03 (m, 2H), 1,67-1,74 (m, 2H), 1,44-1,60 (m, 2H), 1,23-1,37 (m, 14H), 0,90 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,87 (t, *J* = 7,0 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$): δ 199,76, 176,29, 161,56, 131,20, 130,70 (2C), 114,81 (2C), 76,12, 38,56, 32,78, 32,03, 31,80, 29,53, 29,40, 29,36, 25,36, 24,51, 22,87, 22,76, 14,33, 14,20. A continuación se convirtió el ácido (468 mg, 1,3 mmol) en la sal de sodio según el procedimiento usado para la preparación del Compuesto **IV** para dar (*RS*)-2-[4-hexanoilfenoxi]decanoato de sodio (459 mg, 93 %) en forma de un sólido blanco. pf 275-280 ºC; ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,91 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 6,96 (d, *J* = 8,8 Hz, 2H), 4,44-4,48 (m, 1H), 2,89-2,96 (m, 2H), 1,88-1,96 (m, 2H), 1,63-1,71 (m, 2H), 1,44-1,61 (m, 2H), 1,24-1,38 (m, 14H), 0,84-0,93 (m, 6H); ^{13}C RMN (101 MHz, CD_3OD): δ 200,89, 177,86, 163,36, 130,27 (2C), 129,60, 114,75 (2C), 79,54, 37,94, 33,18, 31,86, 31,49, 29,44, 29,38, 29,21, 25,73, 24,55, 22,58, 22,45, 13,36, 13,23; LRMS (ESI): *m/z* 769,8 (M_2H^+), 747,8 (2M - Na^+ + $2H^+$), 363,2 (M - Na^+ + $2H^+$); HPLC: 3 min.

Compuesto VII: (*RS*)-2-[4-octanoilbencil]decanoato de sodio



Etapa 1

Una solución de diisopropilamina (1,5 ml, 10,5 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (20 ml) se enfrió a 0 ºC en nitrógeno, y se trató con una solución de *n*-butillitio en hexanos (2,3 M; 4,4 ml, 10,0 mmol). Después de 5 min, se añadió una solución de ácido 3-fenilpropanoico (1,5 g, 10,0 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (10 ml), para dar una suspensión blanca. Después de 20 min a 0 ºC, la reacción se enfrió a -10 ºC y se añadió una segunda porción de *n*-butillitio en hexanos (2,3 M; 4,80 ml, 11,0 mmol). Agitación a -10 ºC durante 10 min, luego a temperatura ambiente durante 40 min dio una solución de color marrón pálido claro. La solución se enfrió a 0 ºC y se trató con 1-bromooctano (1,8 ml, 10,5 mmol). La reacción se agitó a 0 ºC durante 20 min y, a continuación, a temperatura ambiente durante 3 h. Se añadió una solución de cloruro de amonio acuoso saturado (100 ml); el pH se ajustó a 1 con ácido clorhídrico acuoso (6 M); y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (100 ml). El extracto orgánico se lavó con agua (100 ml) y con cloruro de sodio acuoso saturado (75 ml); se secó sobre sulfato de sodio; se filtró y se evaporó al vacío para dar el producto crudo. La purificación en un cartucho de Biotage™ de 40 l (sílice), eluyéndose con acetato de etilo al 0-20 % en hexanos dio ácido (*RS*)-2-bencildecanoico en forma de un aceite de color paja (1,9 g, 73 %). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 11,51 (br s, 1H), 7,14-7,35 (m, 5H), 3,00 (dd, *J* = 13,7, 7,9 Hz, 1H), 2,77 (dd, *J* = 13,7, 6,8 Hz, 1H), 2,65-2,72 (m, 1H), 1,62-1,71 (m, 1H), 1,49-1,57 (m, 1H), 1,20-1,42 (m, 12H), 0,90 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H).

Etapa 2

Se trató una solución del compuesto de ácido carboxílico (1,9 g, 7,3 mmol) en metanol (13 ml) con ácido sulfúrico (0,35 ml, 6,6 mmol), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después, la reacción se diluyó con acetato de etilo (175 ml), y la solución se lavó con solución acuosa (0,5 M) de hidróxido de sodio (175 ml), con agua (175 ml) y con solución saturada de cloruro de sodio (13 5 ml); a continuación se secó sobre sulfato de sodio; se filtró y se evaporó al vacío para dar (RS)-2-bencildecanoato de metilo en forma de un aceite amarillo dorado (2,0 g, 99 %). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,14-7,29 (m, 5H), 3,60 (s, 3H), 2,93 (dd, *J* = 13,4, 8,4 Hz, 1H), 2,74 (dd, *J* = 13,6, 6,5 Hz, 1H), 2,62-2,69 (m, 1H), 1,60-1,67 (m, 1H), 1,45-1,55 (m, 1H), 1,22-1,37 (m, 12H), 0,88 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H).

Etapa 3

Se enfrió una solución del compuesto de éster metílico (1,5 g, 5,5 mmol) y cloruro de octanoilo (1,4 ml, 8,3 mmol) en diclorometano anhidro (25 ml) a 0 ºC en nitrógeno, y se trató con gránulos de cloruro de aluminio (2,2 g, 16,6 mmol) en pequeñas porciones durante 160 min. La reacción se agitó a 0 ºC durante 150 min y después se inactivó vertiéndola en una mezcla de hielo (150 ml) y agua (150 ml). La mezcla se agitó durante 10 min y luego se extrajo con acetato de etilo (150 ml). El extracto orgánico se lavó con solución acuosa de hidróxido de sodio (0,5 M, 200 ml) y con solución saturada de cloruro de sodio (100 ml); y a continuación se secó sobre sulfato de sodio; se filtró y se evaporó al vacío para dar el compuesto crudo. La purificación en un cartucho Biotage™ de 40 l (sílice), eluyéndose con acetato de etilo al 0-3 % en hexanos dio (RS)-2-[4-octanoilbencil]decanoato de metilo en forma de un aceite amarillo (157 mg, 7 %). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,83 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,19 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 3,54 (s, 3H), 2,93 (dd, *J* = 13,6, 8,8 Hz, 1H), 2,88 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 2,75 (dd, *J* = 13,6, 6,2 Hz, 1H), 2,60-2,68 (m, 1H), 1,58-1,71 (m, 3H), 1,42-1,50 (m, 1H), 1,18-1,35 (m, 20H), 0,84 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,83 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, $CDCl_3$): δ 200,21, 175,88, 145,12, 135,58, 129,19, 128,43, 51,57, 47,51, 38,69, 38,59, 32,47, 32,02, 31,92, 29,63, 29,57, 29,55, 29,40, 29,37, 27,46, 24,58, 22,84, 22,83, 14,28 y 14,26.

Etapa 4

Se trató una solución del compuesto de éster metílico (156 mg, 0,3 mmol) en acetonitrilo (4 ml) con una solución de hidróxido de litio (46 mg, 1,9 mmol) en agua (1 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 días, a 60 ºC durante 20 h, y después a temperatura ambiente durante 4 días más. La mezcla de reacción se particionó entre acetato de etilo (20 ml) y ácido clorhídrico acuoso (1 M, 20 ml). La fase orgánica se lavó con agua (20 ml) y con solución acuosa saturada de cloruro de sodio (20 ml); a continuación, se secó sobre sulfato de sodio; se filtró y se evaporó al vacío para dar una mezcla parcialmente hidrolizada de éster metílico y ácido carboxílico. La purificación en un cartucho Biotage™ de 12 M (sílice), eluyéndose con acetato de etilo al 0-30 % en hexanos dio ácido (*RS*)-2-[4-octanoilbencil]decanoico en forma de un aceite incoloro (46 mg, 31 %). ^{1}H RMN (400 MHz, $CDCl_3$): δ 7,88 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 7,26 (d, *J* = 8,2 Hz, 2H), 3,01 (dd, *J* = 13,8, 8,1 Hz, 1H), 2,93 (t, *J* = 7,4 Hz, 2H), 2,81 (dd, *J* = 13,8, 6,5 Hz, 1H), 2,65-2,72 (m, 1H), 1,61-1,75 (m, 3H), 1,46-1,55 (m, 1H), 1,23-1,40 (m, 20H), 0,88 (t, *J* = 6,9 Hz, 3H), 0,87 (t, *J* = 6,7 Hz, 3H).

Etapa 5

Se trató una solución de bicarbonato de sodio (10 mg, 0,12 mmol) en agua (0,25 ml) con una solución de ácido carboxílico (46 mg, 0,12 mmol) en etanol (1,0 ml), y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se evaporaron los disolventes al vacío, y el residuo se disolvió en agua (4 ml), se filtró (0,2 micrómetros, PES), y se liofilizó para dar una goma. La evaporación de la solución de acetona dio (*RS*)-2-[4-octanoilbencil]decanoato de sodio en forma de un sólido blanquecino (45 mg, 93 %). ^{1}H RMN (400 MHz, CD_3OD): δ 7,86 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 7,35 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 2,94-3,00 (m, 3H), 2,69 (dd, *J* = 13,3, 6,6 Hz, 1H), 2,46-2,53 (m, 1H), 1,54-1,70 (m, 3H), 1,23-1,40 (m, 21H), 0,89 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H), 0,87 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H); ^{13}C RMN (101 MHz, CD_3OD): δ 201,60, 182,80, 147,71, 134,81, 129,26, 128,04, 51,14, 39,54, 38,24, 33,04, 31,92, 31,77, 29,76, 29,52, 29,27, 29,23, 29,18, 27,78, 24,62, 22,57, 22,54, 13,33 y 13,31; LRMS (ESI): *m/z* 389,7 (100 %, [M - Na^+ + $2H^+$]); HPLC: 3,2 min.

Ejemplo 2: Efecto de los compuestos sobre las células RAW264.7 estimuladas con LPS; un progenitor de osteoclastos.

LPS, un producto de pared celular derivado de bacterias, ha sido reconocido durante mucho tiempo como un factor clave en el desarrollo de la pérdida ósea. El LPS desarrolla un papel importante en la resorción ósea, que involucra el reclutamiento de células inflamatorias, la síntesis de citoquinas (tales como la interleucina-6 (IL-6), la IL-12 y el factor-a de necrosis tumoral (TNF-a)), y la activación de la formación y la diferenciación de osteoclastos.

Las células RAW264 son precursoras de osteoclastos y pueden diferenciarse mediante varios factores, incluyendo el

activador del receptor del ligando NF-κB (RANKL) o el lipopolisacárido (LPS). Los osteoclastos se caracterizan por una alta expresión o fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRACP) y metaloproteinasa de la matriz-9 (MMP-9) que se pueden usar como marcadores para los osteoclastos. Se ha demostrado que las células RAW264.7 incubadas en presencia de ácido cáprico resultaron en un aumento de la producción de IL-12 y una reducción de las células positivas para (TRAP) de fosfatasa (expresión de TRAP, un marcador de diferenciación de los osteoclastos) (Wang y col., J. Biol. Chem. (2006), Volumen 281, N.º 45, págs. 34457-64). Además, el LPS reguló fuertemente hacia arriba los niveles de ARNm de la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS), así como la producción de óxido nítrico (NO), mientras que el ácido cáprico los inhibió. Adicionalmente, el ácido cáprico también inhibió la expresión de ARNm de la proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1)

El efecto de los compuestos de Fórmula I en TRAP (marcador de osteoclastos) y IL-12 puede ser llevado a cabo en las células RAW264.7, una estirpe celular precursora de osteoclastos murinos. Las células RAW264.7 se diferencian por la incubación con LPS (1ug/ml) en presencia o no de ácido cáprico (control positivo) o el o los compuestos a ensayar. La formación de osteoclastos se evalúa en los días 3-5, usando tinción con fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP).

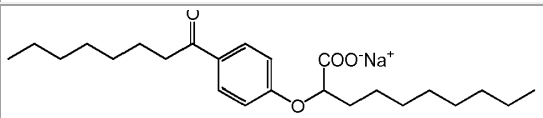
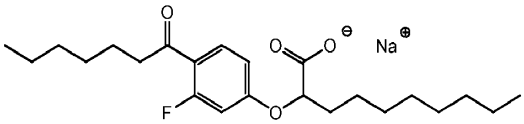
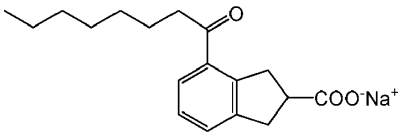
El efecto de osteoclastogénesis del LPS en las células RAW264.7 se demuestra mediante la expresión alta de TRAP (tinción oscura). Si no se observan células TRAP o se observan menos células TRAP cuando se ponen en contacto con el o los compuestos ensayados, esto indica que las células no se diferencian en osteoclastos, lo que sugiere que el o los compuestos ensayados inhiben las osteoclastogénesis.

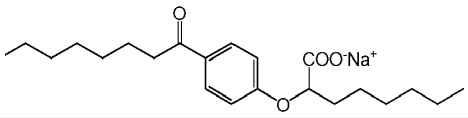
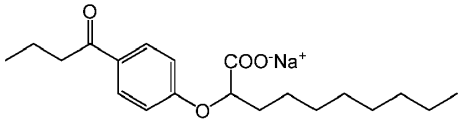
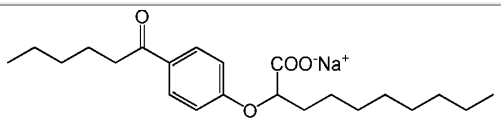
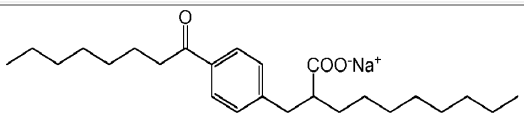
También se ha notificado que el ácido cáprico aumenta la producción de IL-12 en RAW264.7 estimuladas con LPS (Wang y col., J. Biol. Chem. (2006), Vol. 281, N.º 45, págs. 34457-64). Dado que el ácido cáprico es también un inhibidor de la osteoclastogénesis conocido, se llevó a cabo un experimento para determinar si los compuestos de Fórmula I son capaces de promover un aumento en la producción de IL-12. Por consiguiente, las células RAW264.7 se cultivaron con 100 ng/ml de LPS en presencia o ausencia del o de los compuestos durante 21 h en una atmósfera humidificada del 95 % de aire y el 5 % de dióxido de carbono a 37 ºC. La concentración de IL-12 en el medio de cultivo se midió usando ELISA de IL-12 según las recomendaciones del fabricante (BD Biosciences). Una fuerte inducción de la producción de IL-12 en células RAW264.7 estimuladas con LPS en presencia de diversas concentraciones de los compuestos ensayados confirmaría que los compuestos son capaces de promover un aumento de la producción de IL-12.

<u>Ejemplo 3:</u> Efecto de los compuestos de Fórmula I sobre la producción de IL-12 en células RAW264.7 estimuladas con LPS; un progenitor de osteoclastos.

También se notificó que la IL-12 inhibe la formación de osteoclastos (Horwood y col. (2001) J. of Immunology, Volumen 166, N.º 8, págs. 4915-4921). Como se ha mencionado en el Ejemplo 1, las células RAW264.7 estimuladas con LPS, incubadas en presencia de los compuestos de Fórmula I pueden aumentar la IL-12 y reducir la osteoclastogénesis (TRAP). Por consiguiente, se usó un ensayo de producción de IL-12 *in vitro* para la detección de inhibidores potenciales de la osteoclastogénesis. La **Tabla 1** representa el efecto de los compuestos representativos de Fórmula I en la producción de IL-12. Todos los compuestos ensayados indujeron un aumento significativo en la producción de IL-12.

<u>Tabla 1</u>: Efecto de compuestos representativos de la Fórmula I en la producción de IL-12

Compuesto	Estructura	IL-12 pg/ml	Concentración del compuesto
I		112	0,0075 mM
II		20	0,008 mM
III		24,95	0,1 mM

Compuesto	Estructura	IL-12 pg/ml	Concentración del compuesto
IV		12,13	0,020 mM
V		73,32	0,040 mM
VI		53,5	0,020 mM
VII		8	0,012 mM

Estos resultados demuestran que los compuestos ensayados inducen la producción de IL-12, en presencia de LPS. La capacidad de simular la producción de IL-12 significa que los compuestos de Fórmula I pueden ser útiles para impedir y/o tratar la osteoporosis como un resultado de la inducción de IL-12. Esto es respaldado por la bibliografía antes mencionada en el ejemplo 2, que enseña que la IL-12 tiene un efecto inhibidor directo sobre la osteoclastogénesis.

Ejemplo 4: Efecto del Compuesto I sobre la reducción de la osteoporosis en un modelo de rata ovariectomizada.

Si bien, en comparación con los seres humanos, la masa esquelética de las ratas se mantiene estable durante un periodo prolongado durante toda su vida, las ratas pueden ser ovariectomizadas para hacer que su hormona sexual sea deficiente, y para estimular la pérdida acelerada de hueso que se produce en las mujeres después de la menopausia. La pérdida ósea inducida por la ovariectomía en la rata y la perdida ósea posmenopáusica comparten muchas características similares. Estas incluyen: aumento de la tasa de recambio óseo con la resorción superior a la formación; una fase inicial rápida de la pérdida ósea seguida por una fase mucho más lenta; pérdida mayor de hueso esponjoso, en comparación con el cortical; disminución de la absorción intestinal de calcio; cierta protección contra la pérdida ósea por la obesidad; y la respuesta similar por parte del esqueleto a la terapia con estrógenos, tamoxifeno, bifosfonatos, hormona paratiroidea, calcitonina y ejercicio. Estas similitudes de amplio espectro son una fuerte evidencia de que el modelo de pérdida ósea de ratas ovariectomizadas es adecuado para el estudio de problemas que son relevantes a la pérdida ósea posmenopáusica.

Las ratas Sprague Dawley (250g) fueron ovariectomizadas (OVX) en el día 0. Las ratas fueron tratadas por sonda oral con el Compuesto I (10 mg/kg) desde el día 14 hasta el día 68. La evaluación de los diferentes parámetros (peso corporal, pérdida de calcio, marcadores de osteoclastos (expresión de ARNm de RANKL y TRAP), contenido de colágeno e histología se llevó a cabo el día 68.

La Figura 1 ilustra el aumento en el peso corporal de las ratas ovariectomizadas (similar a la "obesidad posmenopáusica"). El Compuesto I redujo la obesidad inducida por la ovariectomización.

La Figura 2 representa el efecto del Compuesto I sobre la pérdida de calcio en ratas ovariectomizadas. La pérdida de calcio se detectó en la orina de ratas ovariectomizadas desde el día 28 al día 56. El Compuesto I redujo significativamente la pérdida de calcio en las ratas ovariectomizadas.

Además, se sabe que la actividad de la fosfatasa ácida en el suero es una indicación de osteoclastogénesis (Park y col. (2011) PLOS One Volume 6, Edición 11, págs. 1-8). Se midió la actividad de la fosfatasa ácida en suero y esta actividad aumentó significativamente en las ratas ovariectomizadas del día 28 al día 56 (**Figura 3**). Sin embargo, el Compuesto I reduce la actividad de la fosfatasa ácida en suero de ratas ovariectomizadas (**Figura 3**), una disminución que indica una reducción exitosa en la osteoclastogénesis.

La Figura 4 representa el efecto del Compuesto I sobre la relación de la expresión de ARNm de RANKL/OPG en el día 68 en la tibia de la rata. Como se muestra, la expresión de ARNm de RANKL/OPG aumentó en ratas que desarrollan osteoporosis, mientras que disminuyó con el tratamiento con el Compuesto I; una disminución que es indicativa de una reducción exitosa de la osteoclastogénesis.

Como resultado de la pérdida ósea, disminuye el contenido de colágeno. Esto se observó en ratas ovariectomizadas. El Compuesto I aumentó el contenido de colágeno en la metáfisis del fémur de las ratas ovariectomizadas, lo que sugiere una reducción de la pérdida ósea (**Figura 5**).

Las Figuras 6 y **7** muestran imágenes representativas de la sección ósea histológica de la metáfisis del fémur. El Compuesto I redujo la pérdida ósea en la porción de metáfisis del fémur.

***

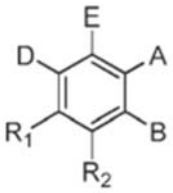
Los títulos se incluyen en esta solicitud para referencia y con el fin de ayudar con la ubicación de ciertas secciones. Estos títulos no tienen por objeto limitar el alcance de los conceptos descritos en la misma, y estos conceptos pueden ser aplicables a otras secciones a lo largo de toda la memoria descriptiva.

Las formas singulares "un", "una" y "el(los)/la(las)" incluyen las referencias plurales correspondientes, a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

A menos que se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, condiciones de reacción, concentraciones, propiedades y así sucesivamente, usados en la memoria descriptiva y las reivindicaciones deben entenderse como que pueden modificarse en todos los casos mediante el término "aproximadamente". Como mínimo, cada parámetro numérico debe interpretarse al menos a la luz del número de dígitos significativos notificados y mediante la aplicación de las técnicas de redondeo ordinarias. Por consiguiente, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos establecidos en la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades que se busca obtener. Sin importar si los intervalos numéricos y los parámetros que establecen el amplio alcance de las realizaciones son aproximaciones, los valores numéricos establecidos en los ejemplos específicos se notifican de manera tan precisa como es posible. Sin embargo, cualquier valor numérico contiene intrínsecamente ciertos errores resultantes de variaciones en los experimentos, mediciones de prueba, análisis estadísticos y demás.

REIVINDICACIONES

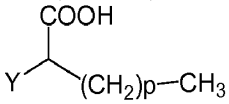
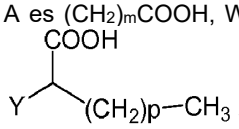
1. Un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en la prevención y/o el tratamiento de la osteoporosis, donde la Fórmula I es:



Fórmula I

donde:

R_1 y R_2 son independientemente iguales a H, F u OH;

A es $(CH_2)_mCOOH$, $W(CH_2)_mCOOH$ o  y B es H; o B es $(CH_2)_mCOOH$, $W(CH_2)_mCOOH$ o  y A es H; o

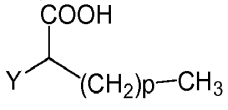
A y B se unen covalentemente para formar un cicloalquilo de cinco (5), seis (6) o siete (7) miembros sustituido con COOH;

donde:

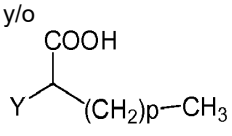
Y es O, S, NH, o CH_2;
W es O, S, o NH;
m es 0-2; y
p es 3-7;

D es $CO(CH_2)_nCH_3$ o $CHOH(CH_2)_nCH_3$ o $O(CH_2)_nCH_3$ cuando n es 2-6; y
E es H o F.

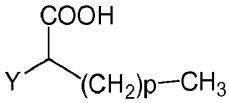
2. El compuesto para su uso según la reivindicación 1, donde:

- R_1 es H y R_2 es H;
- A es H y B es  donde Y es O, y p es 5-7;
- m es 1 o 2; y/o
- E es H; D es $CO(CH_2)_nCH_3$ o $CHOH(CH_2)_nCH_3$ o $O(CH_2)_nCH_3$; y n es 2-6.

3. El compuesto para su uso según la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde:

- E es H; D es $CO(CH_2)_nCH_3$; y n es 2-6; y/o
- n es 4-6; R_1 y R_2 son H; B es H; A es  ; Y es O; y p es 5-7; E es H; D es $CO(CH_2)_nCH_3$ o $CHOH(CH_2)_nCH_3$ o $O(CH_2)_nCH_3$; y n es 2-6.

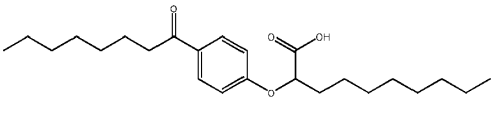
4. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde R_1 y R_2 son H; A

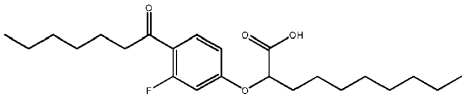
es H; B es  donde Y es O y p es 5-7; E es H; D es $CO(CH_2)_nCH_3$ o $CHOH(CH_2)_nCH_3$ o $O(CH_2)_nCH_3$; y n es 2-6.

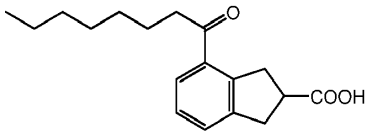
5. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde:

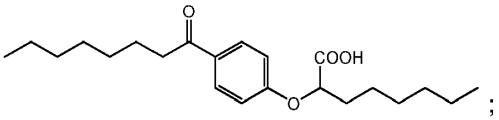
- D es $CO(CH_2)_nCH_3$;
- E es H; y/o
- n es 4-6.

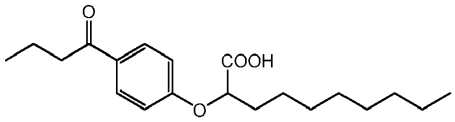
6. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde dicho compuesto se selecciona de entre el grupo que consiste en los compuestos representados por las siguientes estructuras:

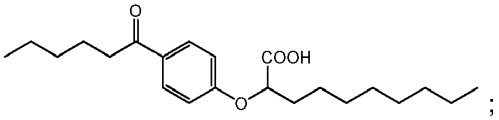

;

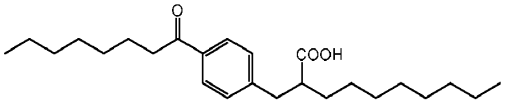

;


;

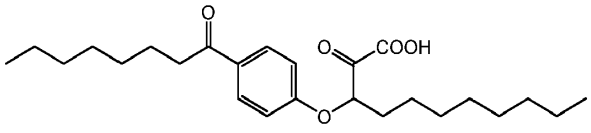

;


;


;


;

y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos;
y preferentemente el compuesto es representado por la siguiente estructura:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la sal farmacéuticamente aceptable es una sal de adición de bases que comprende un contraión de metal seleccionado de entre el grupo que consiste en sodio, potasio, calcio, magnesio, litio, amonio, manganeso, zinc, hierro o cobre y, preferentemente, sodio.

8. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la osteoporosis se selecciona de entre el grupo que consiste en osteoporosis primaria de tipo 1, osteoporosis primaria de tipo 2, osteoclastogénesis anormalmente alta a osteoporosis secundaria, osteoporosis tipo osteomalacia, osteopenia, osteogénesis imperfecta, osteopetrosis, osteonecrosis, enfermedad de los huesos de Paget, hipofosfatemia y las combinaciones de las mismas; preferentemente donde la osteoporosis es osteoporosis posmenopáusica (primaria de tipo 1), osteoporosis primaria de tipo 2 u osteoporosis secundaria, más preferentemente donde la osteoporosis es osteoporosis posmenopáusica (primaria de tipo 1).

9. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde la administración de dicho compuesto da como resultado una o más de las siguientes actividades biológicas en el sujeto:

- inhibición de la osteoclastogénesis;
- estimulación de la producción de interleucina-12 (IL-12) en el hueso;
- reducción de la actividad de la fosfatasa ácida en el hueso;
- reducción del activador del receptor de la relación del ligando NF-κB/osteoprotegerina (relación RANKL/OPG) en el hueso;
- aumento del contenido de colágeno en el hueso.

10. Un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en la prevención y/o la reducción de la pérdida ósea en un sujeto que lo necesita.

11. El compuesto para su uso según la reivindicación 10, donde dicho compuesto reduce la pérdida de calcio.

12. El compuesto para su uso según la reivindicación 10 o la reivindicación 11, donde el sujeto está afectado por o es susceptible de padecer osteoporosis.

13. El compuesto para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 11 a 12, donde el sujeto es una mujer posmenopáusica.

14. Un compuesto representado por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, para su uso en la estimulación de la formación ósea y/o la estimulación de la remodelación ósea y/o la inhibición de la resorción ósea.

15. El compuesto para su uso según cualquiera de las reivindicaciones anteriores, donde el compuesto está destinado a un uso de manera concomitante con un fármaco seleccionado de entre el grupo que consiste en: bifosfonatos, odanacatib, alendronato, risendronato, etidronato, zoledronato, pamidronato, teriparatida, tamoxifeno, raloxifeno y denosumab.

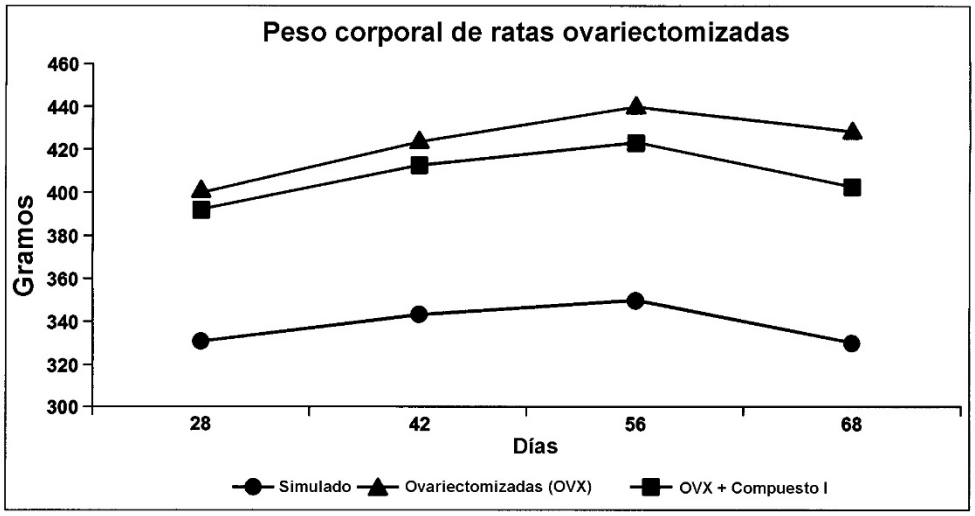

Peso corporal de ratas ovariectomizadas
Gramos
460
440
420
400
380
360
340
320
300
28
42
56
68
Días
Simulado
Ovariectomizadas (OVX)
OVX + Compuesto I

Figura 1

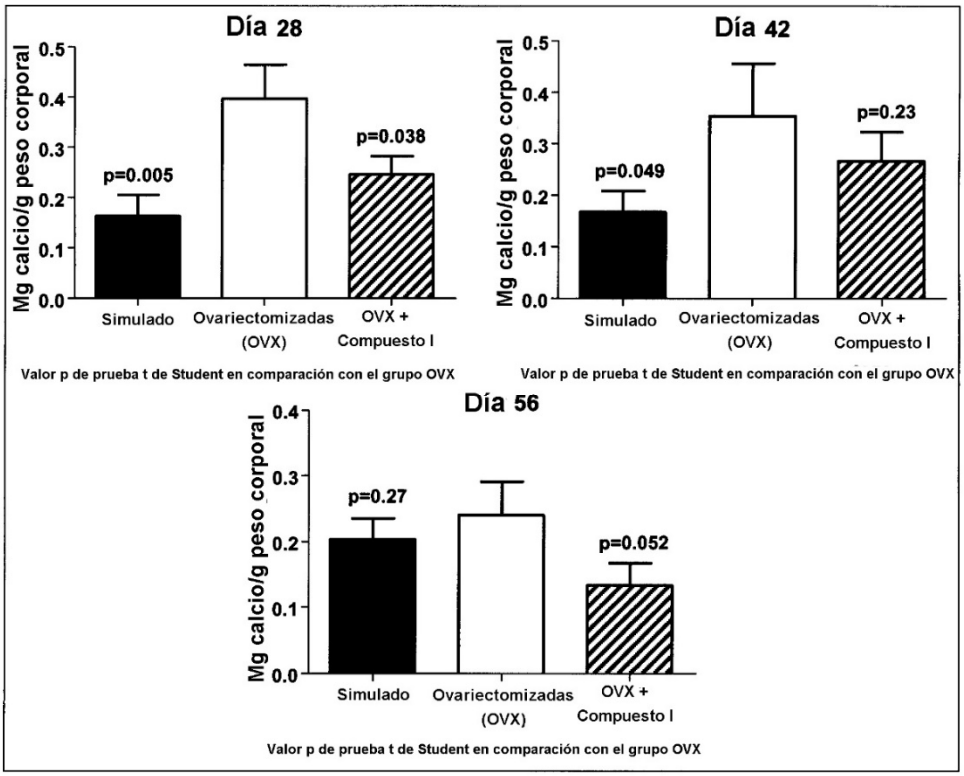

Día 28
Mg calcio/g peso corporal
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
p=0.005
p=0.038
Simulado
Ovariectomizadas (OVX)
OVX + Compuesto I
Valor p de prueba t de Student en comparación con el grupo OVX
Día 42
Mg calcio/g peso corporal
p=0.049
p=0.23
Simulado
Ovariectomizadas (OVX)
OVX + Compuesto I
Valor p de prueba t de Student en comparación con el grupo OVX
Día 56
Mg calcio/g peso corporal
0.4
0.3
0.2
0.1
0.0
p=0.27
p=0.052
Simulado
Ovariectomizadas (OVX)
OVX + Compuesto I
Valor p de prueba t de Student en comparación con el grupo OVX

Figura 2

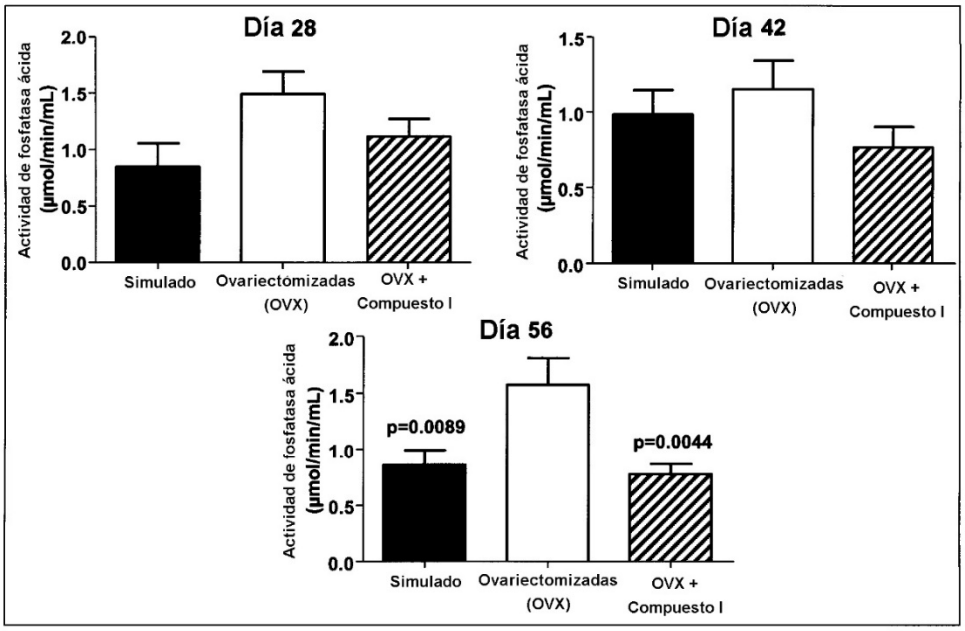

Día 28
Actividad de fosfatasa ácida (µmol/min/mL)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
Simulado
Ovariectomizadas (OVX)
OVX + Compuesto I
Día 42
Actividad de fosfatasa ácida (µmol/min/mL)
1.5
1.0
0.5
0.0
Simulado
Ovariectomizadas (OVX)
OVX + Compuesto I
Día 56
Actividad de fosfatasa ácida (µmol/min/mL)
2.0
1.5
1.0
0.5
0.0
p=0.0089
p=0.0044
Simulado
Ovariectomizadas (OVX)
OVX + Compuesto I

Figura 3

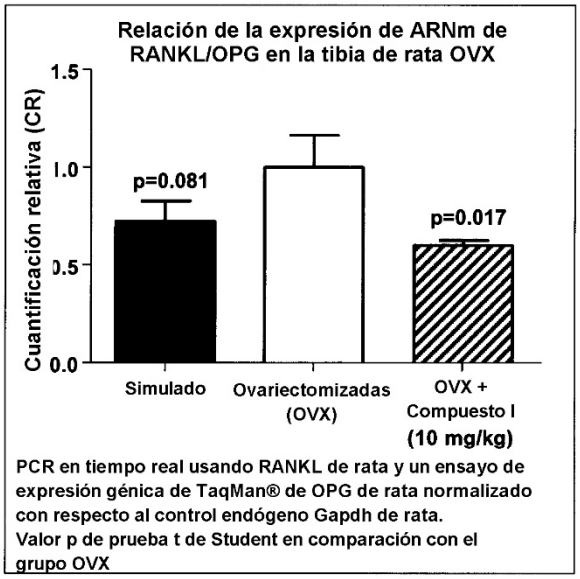


Figura 4

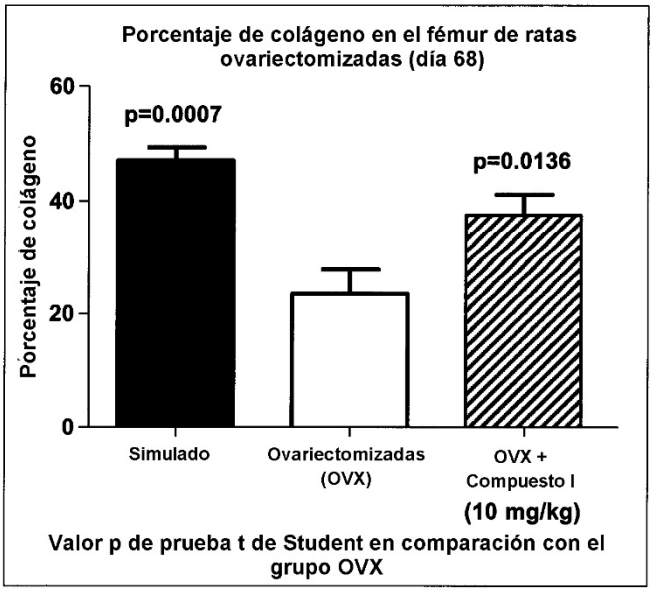


Figura 5

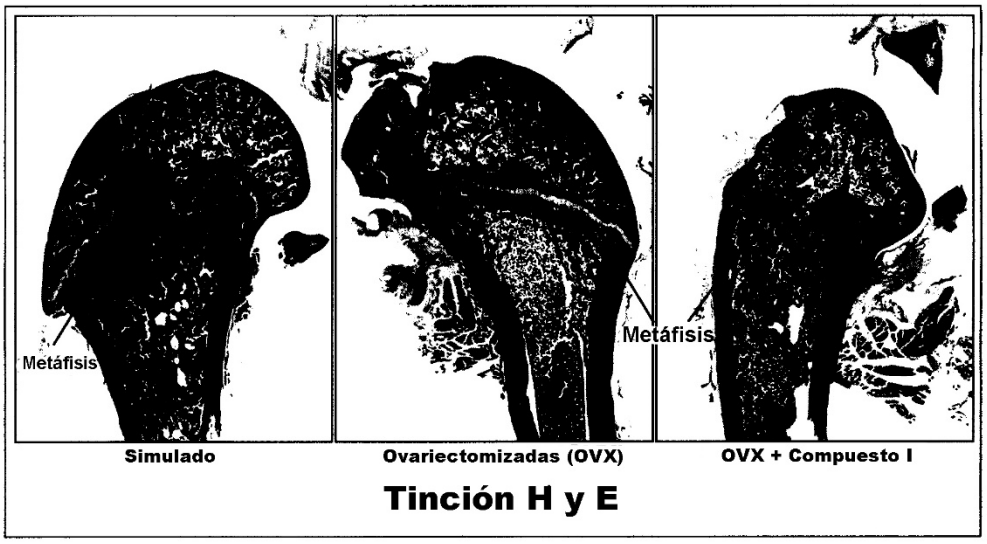


Figura 6

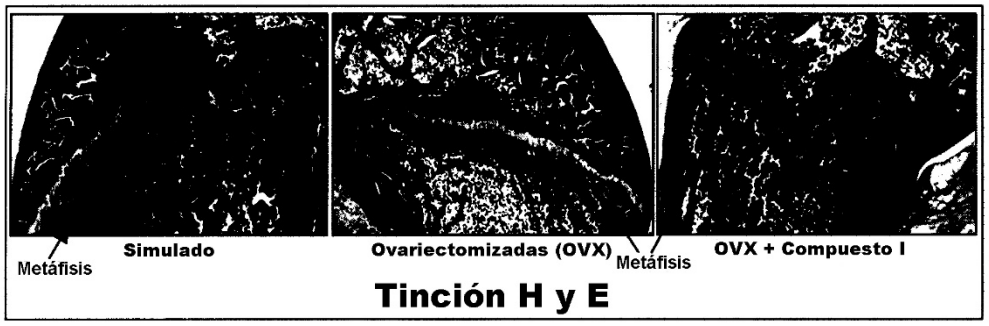


Figura 7