

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 804 304**

51 Int. Cl.:

C07D 401/04 (2006.01)
C07D 409/14 (2006.01)
A61P 3/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)
A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.09.2014 PCT/US2014/054043**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **12.03.2015 WO15035015**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.09.2014 E 14842802 (2)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.04.2020 EP 3041835**

54 Título: **Moduladores del receptor X hepático (LXR)**

30 Prioridad:

04.09.2013 US 201361873755 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
05.02.2021

73 Titular/es:

ELLORA THERAPEUTICS, INC. (100.0%)
662 Encinitas Blvd, Suite 250
Encinitas, CA 92004, US

72 Inventor/es:

MOHAN, RAJU

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 804 304 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Moduladores del receptor X hepático (LXR)

Antecedentes de la invención

- 5 El receptor X hepático (LXR), descrito por primera vez por Willy, P. J. et al. ("LXR, a nuclear receptor that defines a distinct retinoid response pathway", *Genes & Development* 9:1033-1045 (Cold Spring Harbor Laboratory Press)), es miembro de la superfamilia de hormonas nucleares y consiste en dos subtipos, LXR alfa y LXR beta. LXR modula una variedad de respuestas fisiológicas que incluyen inflamación en varios tejidos y tipos de células, regulación de la absorción de colesterol, eliminación de colesterol (síntesis de ácidos biliares) y transporte de colesterol desde tejidos periféricos a través de lipoproteínas plasmáticas al hígado. LXR también regula los genes involucrados en el
- 10 metabolismo de la glucosa, el metabolismo del colesterol en el cerebro y apolipoproteínas tales como ApoE y sus isoformas, que están implicadas en la diferenciación celular y la apoptosis, la inflamación, las enfermedades neurodegenerativas y las enfermedades infecciosas (Geyerregger, R. et al., *Cell. Mol. Life Sci.* 2006, 63:524-539). LXR también regula genes, incluyendo ApoE, en células de melanoma y melanocitos (Lim, K.M., et al., *J Invest Dermatol.* (2013) 133(4):1063-71) y, por lo tanto, también es una diana terapéutica para el tratamiento de ciertos tipos de cáncer.
- 15 El documento US 2010/0331295 describe compuestos y sales, isómeros o profármacos farmacéuticamente aceptables de los mismos, que son útiles como moduladores de la actividad de los receptores X hepáticos, particularmente los isómeros y derivados de pirazol.

Compendio de la invención

- 20 En la presente memoria se describen compuestos de Fórmula IA, IB o IC, composiciones farmacéuticas que incluyen tales compuestos, y métodos de uso de los mismos, para modular LXR. En un aspecto consiste en la administración de al menos un modulador de LXR descrito en la presente memoria a un mamífero en el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones que se beneficiarían de la modulación de LXR.

En un aspecto es un compuesto de Fórmula (IA):



(IA)

- 25 en donde:
- L₁ es un enlace o alquilo C₁-C₆;
- R₁ es -OR₉, alquilo C₁-C₆, alqueno C₂-C₆, haloalquilo C₁-C₆, o -C(=O)N(R₉)₂;
- R₂ es alquilo C₁-C₆;
- R₃ es hidrógeno;
- 30 R₄ es fenilo sustituido con al menos un R₁₁;
- cada R₉ es independientemente hidrógeno o haloalquilo C₁-C₆;
- cada R₁₀ es independientemente alquilo C₁-C₆;
- cada R₁₁ es independientemente -NR₁₀SO₂R₁₀, -SOR₁₀, -SO₂R₁₀, -SO₂N(R₁₀)₂ o alquilo C₁-C₆, en donde dicho alquilo C₁-C₆ está opcionalmente sustituido con 1-hidroxi; y
- 35 n es 0;
- o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- En una realización es un compuesto de En otra realización más es un compuesto de Fórmula IA en donde R₁ es alquilo C₁-C₆. En otra realización es un compuesto de Fórmula IA en donde R₁ es alqueno C₂-C₆. En otra realización es un compuesto de Fórmula IA en donde R₁ es haloalquilo C₁-C₆. En otra realización es un compuesto de Fórmula IA en donde R₁ es C(=O)N(R₉)₂. En otra realización de las realizaciones mencionadas anteriormente, es un compuesto de Fórmula IA en donde R₂ es alquilo C₁-C₆. En otra realización de las realizaciones mencionadas anteriormente, es un compuesto de Fórmula IA en donde R₂ es isobutilo.
- 40

En otro aspecto, es una composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y un compuesto de Fórmula IA, IB o IC, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto es un compuesto de Fórmula IA, IB o IC, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero que se beneficiaría de la modulación de LXR; en donde la enfermedad, trastorno o afección en un mamífero consiste en aumento de los niveles de lípidos, aumento de los niveles de colesterol, colesterol HDL bajo, colesterol LDL alto, enfermedades ateroscleróticas, diabetes, diabetes mellitus no insulino dependiente, síndrome metabólico, dislipidemia, sepsis, enfermedades inflamatorias, enfermedades infecciosas, enfermedades de la piel, colitis, pancreatitis, colestasis del hígado, fibrosis del hígado, psoriasis, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, función cognitiva deteriorada/mejorable, VIH, cáncer que incluye cáncer metastásico y melanoma metastásico, y formas relacionadas con la edad de degeneración macular (formas húmeda y seca). En algunas realizaciones, el cáncer es melanoma maligno. En algunas realizaciones, los niveles de ApoE son reducidos en el cáncer. En algunas realizaciones de las realizaciones mencionadas anteriormente, el mamífero es un ser humano.

Breve descripción de las figuras

La **Figura 1** muestra la expresión del gen ABCA1 analizada por QT-PCR para el Compuesto 4 como se describe en el Ejemplo 12.

La **Figura 2** muestra la expresión del gen ABCG1 analizada por QT-PCR para el Compuesto 4 como se describe en el Ejemplo 12.

La **Figura 3** muestra la expresión del gen IL1 β analizada por QT-PCR para el Compuesto 4 como se describe en el Ejemplo 13.

La **Figura 4** muestra la expresión del gen α Syn analizada por QT-PCR para el Compuesto 4 como se describe en el Ejemplo 14.

Descripción detallada de la invención

Melanoma metastásico

Los niveles de expresión de ciertos micro ARN(miARN), incluidos miARN-1908, miARN-199a-5p y miARN-199a-3p y ApoE, incluidos ApoE3 y ApoE4, se correlacionan con la progresión de melanomas malignos y enfermedad metastásica, así como las frecuencias en otros cánceres (Tavazoie, S.F., et al., *Cell* (2012) 151:1-15). El descubrimiento de que los tres miARN se dirigen combinatoriamente a la supresión del melanoma metastásico establece su potencial como biomarcadores de melanoma. En particular, la ApoE secretada por células de melanoma suprime la invasión metastásica y el reclutamiento endotelial. La ApoE derivada del cáncer se ha relacionado directamente con la modulación de la angiogénesis metastásica en las células de melanoma, así como en otros tipos de cáncer. Por lo tanto, los agentes que aumentan la expresión de ApoE son agentes terapéuticos potenciales para suprimir la migración endotelial y la invasión tumoral y para el tratamiento del melanoma metastásico maligno y otros cánceres. Se ha demostrado que los agonistas de LXR regulan la ApoE en las células de melanoma humano primario (Lim, K.M., et al., *J Invest Dermatol.* (2013) 133(4):1063-71), identificando ApoE como un gen diana de LXR en células de melanoma y en melanocitos. Como la regulación por incremento de ApoE está asociada con la supresión tumoral en las células de melanoma, los agonistas de LXR deberían ser eficaces en la intervención terapéutica y la prevención del melanoma metastásico y otros cánceres asociados con la angiogénesis relacionada con ApoE. En algunas realizaciones descritas en la presente memoria, se describen métodos para tratar a pacientes con cáncer que utilizan agonistas de LXR que tienen niveles anormales de apolipoproteína E (ApoE), que incluyen niveles de expresión más bajos de ApoE y sus isoformas utilizando un compuesto de Fórmula IA, IB o IC. En algunas realizaciones descritas en la presente memoria, se describen métodos para tratar el melanoma metastásico utilizando un compuesto de Fórmula IA, IB o IC.

Enfermedad de Alzheimer, trastornos neurodegenerativos, lesión cerebral traumática

Los LXR son reguladores clave de genes que inhiben la respuesta inflamatoria en múltiples tipos de células, incluidas las células de la microglía en el SNC. La implicación de LXR tiene mucho que ver con un papel crítico en la eliminación de beta amiloide acumulado en el cerebro. En particular, los agonistas de LXR aumentan la expresión del transportador de casete de unión a ATP ABCA1 (un transportador de colesterol), para facilitar la lipidación de ApoE y promover directamente la eliminación mediada por microglia de A β .

Los datos de estudios *in vitro* e *in vivo* (Pfrieger, F.W. et al., *Science* (2001); 294:1354-7; Lazo, J.S. et al., *J Biol Chem.* (2005) 280:4079-88) validan el papel de ApoE para facilitar la eliminación proteolítica de A β soluble del cerebro. La capacidad de ApoE para promover la degradación de A β es específica de la isoforma y depende del estado de lipidación. ApoE es lipidada por ABCA1 en múltiples tipos de células, transfiriendo tanto fosfolípidos como colesterol a ApoA-I en la periferia, y tanto ApoA-I como ApoE en el cerebro. De esta manera, la ApoE lipidada y la ApoA-I transportan el colesterol y otros lípidos de los astrocitos. Este proceso es necesario para mantener la plasticidad sináptica y la remodelación neuronal en un cerebro sano.

Tres estudios independientes han informado de que la eliminación global de ABCA1 en ratones transgénicos APP produce un aumento de los niveles de depósito de amiloide sin un efecto significativo sobre la generación de A β . Los estudios con los agonistas de LXR en ratones que expresan APP muestran que el agonismo de LXR disminuye los niveles de A β , y esta disminución se correlaciona con el aumento de los niveles de ApoA-I y ApoE en los cerebros de los animales tratados (Koldamova R. et al., *Mol Neurodegener* (2007); 2:20). Utilizando el mismo agonista de LXR en un modelo de ratón con enfermedad de Alzheimer Tg2576, los investigadores han demostrado una mejora pronunciada en el rendimiento cognitivo (Jacobsen J.S., et al., *Mol Cell Neurosci.* (2007) 34:621-8).

Los resultados de estos estudios sugieren fuertemente que ABCA1 y LXR regulan la lipidación de ApoE y ApoA-I, lo que a su vez afecta la agregación de A β y permite la eliminación de A β y que los agonistas de LXR deberían ser eficaces en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos tales como la enfermedad de Alzheimer. En algunas realizaciones descritas en la presente memoria, se describen métodos para tratar la enfermedad de Alzheimer utilizando un compuesto de Fórmula IA, IB o IC.

Enfermedad de Parkinson

Se ha demostrado que los LXR desempeñan un papel importante en el SNC tanto en la reducción de la inflamación en la microglia y en los astrocitos como en la eliminación de Abeta con posibles implicaciones en el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. Datos recientes muestran que LXR juega un papel en la formación de capas corticales superficiales y la migración de neuronas nacidas más tarde en ratones embrionarios. Los agonistas de LXR tienen un efecto terapéutico positivo sobre las neuronas dopaminérgicas en la sustancia negra en un modelo de roedor inducido por MPTP de la enfermedad de Parkinson, donde la pérdida de neuronas dopaminérgicas inducida por MPTP se redujo significativamente en los ratones tratados con el agonista de LXR con relación a los animales tratados con vehículo. (Gustafsson, J.A; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* (2012) 109:13112-13117). El tratamiento con agonista de LXR también dio como resultado una atenuación del aumento de células positivas para GFAP en la sustancia negra pars compacta. Según los estudios anteriores y otros datos de la bibliografía, es probable que LXR desempeñe un papel clave en la patología de la enfermedad de Parkinson. Por lo tanto, los agonistas selectivos de LXR con distribución cerebral necesaria deberían ofrecer una novedosa terapia para la enfermedad de Parkinson. En algunas realizaciones descritas en la presente memoria, se describen métodos para tratar la enfermedad de Parkinson utilizando un compuesto de Fórmula IA, IB o IC.

Degeneración macular relacionada con la edad (AMD) Formas húmeda y seca

Las rutas de LXR que se han estudiado en el SNC, tales como la regulación de los transportadores de ABC y las apolipoproteínas tales como ApoE e isoformas, también son relevantes en las células de la retina e implicadas en la patología de la AMD, tanto húmeda como seca. En las células del epitelio pigmentario de la retina, los agonistas y moduladores de LXR primarios e inmortalizados inducen la expresión de ABCA1 y ApoE, genes diana implicados en la patología de la AMD (Ishida, *Journal of Lipid Research* (2004) 45:267-271). En modelos de ratones con AMD, se ha demostrado que los agonistas no selectivos de LXR proporcionan efectos beneficiosos sobre la progresión de AMD (Sene, *Cell Metabolism*, 2013, 17: 549-561). Por lo tanto, los agonistas y moduladores selectivos de LXR deberían tener un beneficio terapéutico en el tratamiento de las formas húmeda y seca de AMD, una enfermedad caracterizada por la señalización anormal de colesterol y afecciones inflamatorias.

Definiciones

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

Como se emplea en la presente memoria, el término "aproximadamente" o "de manera aproximada" significa dentro de un margen de 20%, preferiblemente dentro de un margen de 10%, y más preferiblemente dentro de un margen de 5% de un valor o intervalo dado.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" como se emplea en la presente memoria se refiere a la cantidad de un modulador de LXR que, cuando se administra a un mamífero que lo necesita, es eficaz para mejorar al menos parcialmente o para prevenir al menos parcialmente las enfermedades, trastornos o afecciones descritos en la presente memoria.

Como se emplea en la presente memoria, el término "expresión" incluye el proceso mediante el cual los polinucleótidos se transcriben a ARNm y se traducen a péptidos, polipéptidos o proteínas.

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

El término "activador" se utiliza en esta memoria descriptiva para indicar cualquier especie molecular que dé como resultado la activación del receptor indicado, independientemente de si la especie misma se une al receptor o de si un metabolito de la especie se une al receptor cuando la especie se administra tópicamente. Por lo tanto, el activador puede ser un ligando del receptor o puede ser un activador que se metaboliza en el ligando del receptor, es decir, un metabolito que se forma en el tejido y es el ligando real.

5 Los términos "inducir" o "inducción" de la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn o decorina se refieren a un aumento, inducción, o de otro modo aumento de la expresión de ARNm y/o proteína TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn, o decorina. El incremento, la inducción o el aumento se pueden medir mediante uno de los ensayos proporcionados en la presente memoria. La inducción de la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn o decorina no necesariamente indica la expresión máxima de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn o decorina. Un incremento en la expresión de TIMP1, ABCA12 o decorina puede ser, por ejemplo, de al menos aproximadamente 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o más. En una realización, la inducción se mide comparando los niveles de expresión de ARNm de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn o decorina de células no tratadas con los niveles de expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn o decorina de células tratadas con modulador de LXR.

15 Los términos "inhibir" o "inhibición" de la expresión de TNF α , MMP1, MMP3 o IL-8 se refieren a una reducción, inhibición o disminución de otro modo de la expresión de ARNm y/o proteína TNF α , MMP1, MMP3 o IL-8. La reducción, inhibición o disminución de la unión se pueden medir mediante uno de los ensayos proporcionados en la presente memoria. La inhibición de la expresión de TNF α , MMP1, MMP3 o IL-8 no indica necesariamente una negación completa de la expresión de TNF α , MMP1, MMP3 o IL-8. Una reducción en la expresión puede ser, por ejemplo, de al menos aproximadamente 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o más. En una realización, la inhibición se mide comparando los niveles de expresión de ARNm de TNF α , MMP1, MMP3 o IL-8 de células no tratadas con los niveles de expresión de ARNm de TNF α , MMP1, MMP3 o IL-8 de células tratadas con el modulador de LXR.

25 "Receptor X hepático" o "LXR" se refiere tanto a LXR α como a LXR β , y variantes, isoformas y fragmentos activos de los mismos. LXR β se expresa de forma ubicua, mientras que la expresión de LXR α se limita al hígado, riñón, intestino, bazo, tejido adiposo, macrófagos, músculo esquelético y piel. Los números de acceso representativos de GenBank® para las secuencias de LXR α incluyen los siguientes: humano (*Homo sapiens*, Q 13133), ratón (*Mus musculus*, Q9Z0Y9), rata (*Rattus norvegicus*, Q62685), vaca (*Bos taurus*, Q5E9B6), cerdo (*Sus scrofa*, AAY43056), pollo (*Gallus gallus*, AAM90897). Los números de acceso representativos de GenBank® para LXR β incluyen los siguientes: humano (*Homo sapiens*, P55055), ratón (*Mus musculus*, Q60644), rata (*Rattus norvegicus*, Q62755), vaca (*Bos taurus*, Q5BIS6).

30 El término "mamífero" se refiere a un ser humano, un primate no humano, cánido, férido, bóvido, suido, mívrido u otro mamífero en el ámbito veterinario o de laboratorio. Los expertos en la técnica reconocen que una terapia que reduce la gravedad de una patología en una especie de mamífero es predictiva del efecto de la terapia sobre otra especie de mamífero.

35 "Citocina proinflamatoria", como se emplea en la presente memoria, se refiere a cualquier citocina que pueda activar reacciones de hipersensibilidad citotóxica, inflamatoria o retardada. Los ejemplos de citocinas proinflamatorias incluyen factores estimuladores de colonias (CSF), por ejemplo, CSF de granulocitos y macrófagos, CSF de granulocitos, eritropoyetina; factores de crecimiento transformantes (TGF), por ejemplo TGF β ; interferones (IFN), por ejemplo IFN α , IFN β , IFN γ ; interleucinas (IL), por ejemplo IL-1 α , IL-1 β , IL-3, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-11, IL-12, IL-15; factores de necrosis tumoral (TNF), por ejemplo TNF α , TNF β ; proteínas de adherencia, por ejemplo molécula de adhesión intracelular (ICAM), molécula de adhesión celular vascular (VCAM); factores de crecimiento, por ejemplo, factor inhibidor de leucemia (LIF), factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF), factor de crecimiento epidérmico (EGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), factor de crecimiento de tipo insulínico (IGF), factor de crecimiento nervioso (NGF), factor de crecimiento de células B (BCGF); quimiocinas, por ejemplo proteínas quimioatrayentes de monocitos (MCP-1, MCP-2, MCP-3), proteína inflamatoria de macrófagos (MIP), oncogén relacionado con el crecimiento, proteína inducible por interferón gamma; leucotrienos, por ejemplo leucotrieno B₄, leucotrienos D₄; factores vasoactivos, por ejemplo histamina, bradiquinina, factor activador de plaquetas (PAF); prostaglandinas, por ejemplo prostaglandina E₂.

Moduladores de LXR

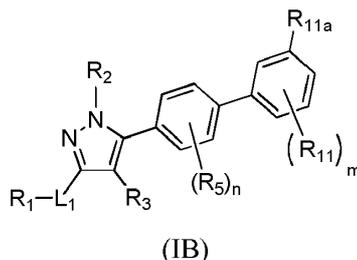
50 Los moduladores de LXR contemplados para su uso en las composiciones y métodos descritos en la presente memoria son compuestos con actividades moduladoras de LXR α y/o LXR β . El término "modulador de LXR" incluye agonistas de LXR α y/o LXR β , antagonistas y moduladores de LXR selectivos de tejido, así como otros agentes que inducen la expresión y/o niveles de proteína de LXR en las células.

55 Los compuestos preferidos serán moduladores de LXR con actividades moduladoras de LXR α y/o LXR β . Los moduladores de LXR preferidos son activadores de LXR. El término "activador de LXR" o "activador del LXR" incluye agonistas de LXR α y/o LXR β , agonistas parciales y moduladores de LXR selectivos de tejido, así como otros agentes que inducen la expresión y/o niveles de proteína de LXR en las células.

En una realización, es un compuesto de Fórmula (IA) como se define en la presente memoria.

En una realización es un compuesto de Fórmula IA en donde R₄ es fenilo sustituido con al menos un R₁₁ y cada R₁₁

- anteriormente, es un compuesto de Fórmula IA en donde al menos un R_{11} es $-\text{SO}_2\text{R}_{10}$. En otra realización de las realizaciones mencionadas anteriormente, es un compuesto de Fórmula IA en donde cada R_{10} es independientemente alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$. En otra realización de las realizaciones mencionadas anteriormente, es un compuesto de Fórmula IA en donde R_4 es fenilo sustituido con un R_{11} , en donde R_{11} es $-\text{SO}_2\text{R}_{10}$ y R_{10} es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$; o R_4 es fenilo sustituido con dos R_{11} y un R_{11} es $-\text{SO}_2\text{R}_{10}$ y un R_{11} es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ opcionalmente sustituido. En otra realización de las realizaciones mencionadas anteriormente, es un compuesto de Fórmula IA en donde R_4 es fenilo sustituido con dos R_{11} , en donde un R_{11} es $-\text{SO}_2\text{CH}_3$ y un R_{11} es $-\text{CH}_2\text{OH}$. En otra realización de las realizaciones mencionadas anteriormente, es un compuesto de Fórmula IA en donde R_4 es fenilo sustituido con un R_{11} , en donde R_{11} es $-\text{SO}_2\text{R}_{10}$ y R_{10} es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$. En otra realización de las realizaciones mencionadas anteriormente, es un compuesto de Fórmula IA, en donde n es 0.
- 10 En otra realización de las realizaciones mencionadas anteriormente, el compuesto es un compuesto de Fórmula (IB):



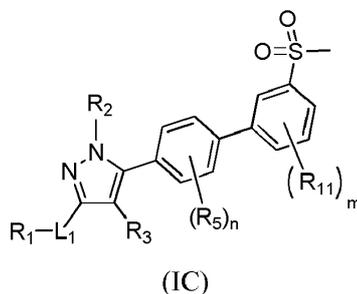
en donde:

R_{11a} es $-\text{NR}_{10}\text{SO}_2\text{R}_{10}$, $-\text{SOR}_{10}$, $-\text{SO}_2\text{R}_{10}$, $\text{SO}_2\text{N}(\text{R}_{10})_2$; y

m es 0 o 1;

- 15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización de las realizaciones mencionadas anteriormente, el compuesto es un compuesto de Fórmula (IC):



en donde m es 0 o 1;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 20 En otra realización de las realizaciones mencionadas anteriormente, es un compuesto de Fórmula IA en donde:

L_1 es un enlace o alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$;

R_1 es $-\text{OR}_9$, $-\text{alquilo C}_1\text{-C}_6$, $\text{alqueno C}_2\text{-C}_6$, $\text{haloalquilo C}_1\text{-C}_6$, o $-\text{C}(=\text{O})\text{N}(\text{R}_9)_2$;

R_2 es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$;

R_3 es hidrógeno;

- 25 R_4 es fenilo sustituido con un R_{11} , en donde R_{11} es $-\text{SO}_2\text{R}_{10}$ y R_{10} es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$; o

R_4 es fenilo sustituido con dos R_{11} , en donde un R_{11} es $-\text{SO}_2\text{R}_{10}$ y un R_{11} es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$ opcionalmente sustituido;

cada R_9 es independientemente hidrógeno o haloalquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$; y

n es 0;

- 30 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otra realización de las realizaciones mencionadas anteriormente, es un compuesto de Fórmula IA en donde:

-L₁-R₁ es -C(=CH₂)CH₃, isopropilo, -C(=O)NHCH₂CF₃, CF₃ o -C(CH₃)₂OH;

R₂ es isobutilo, sec-butilo;

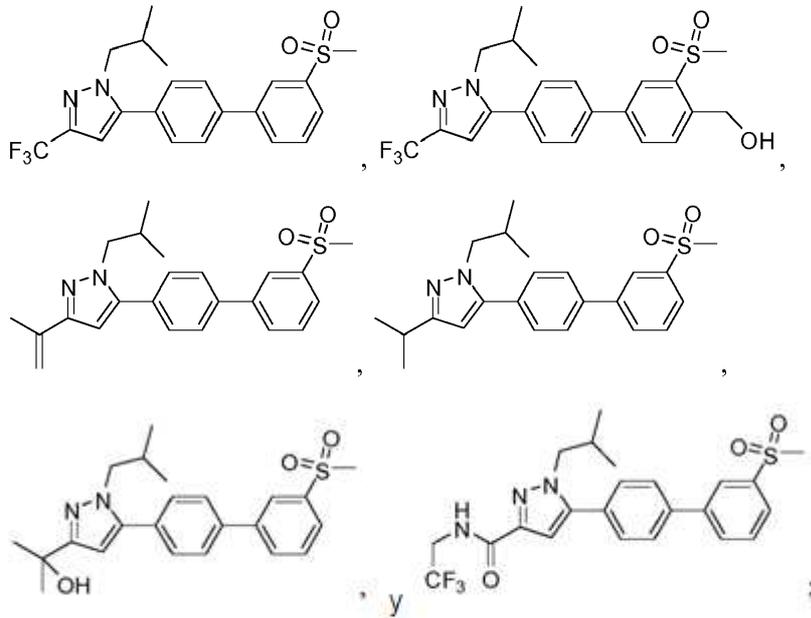
R₃ es hidrógeno;

5 R₄ es fenilo sustituido con dos R₁₁, en donde un R₁₁ es -SO₂CH₃ y un R₁₁ es -CH₂OH; o R₄ es fenilo sustituido con un R₁₁, en donde R₁₁ es -SO₂R₁₀ y R₁₀ es CH₃; y

n es 0;

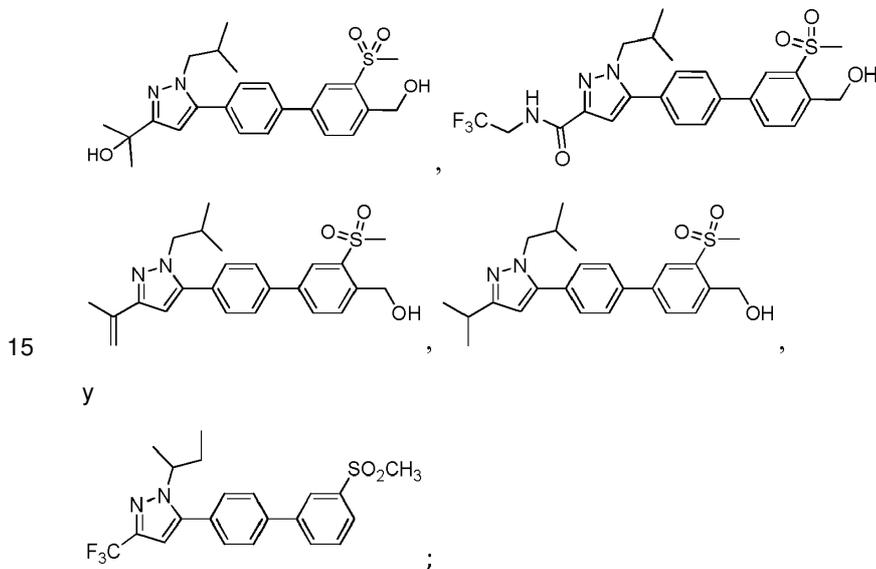
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, el compuesto se selecciona entre:



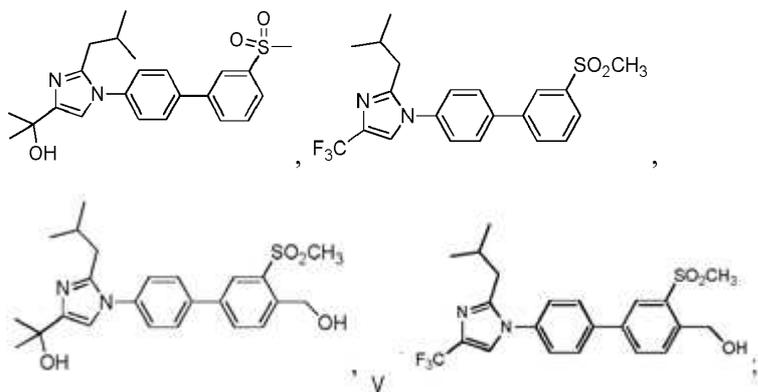
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En algunas realizaciones, el compuesto se selecciona entre:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

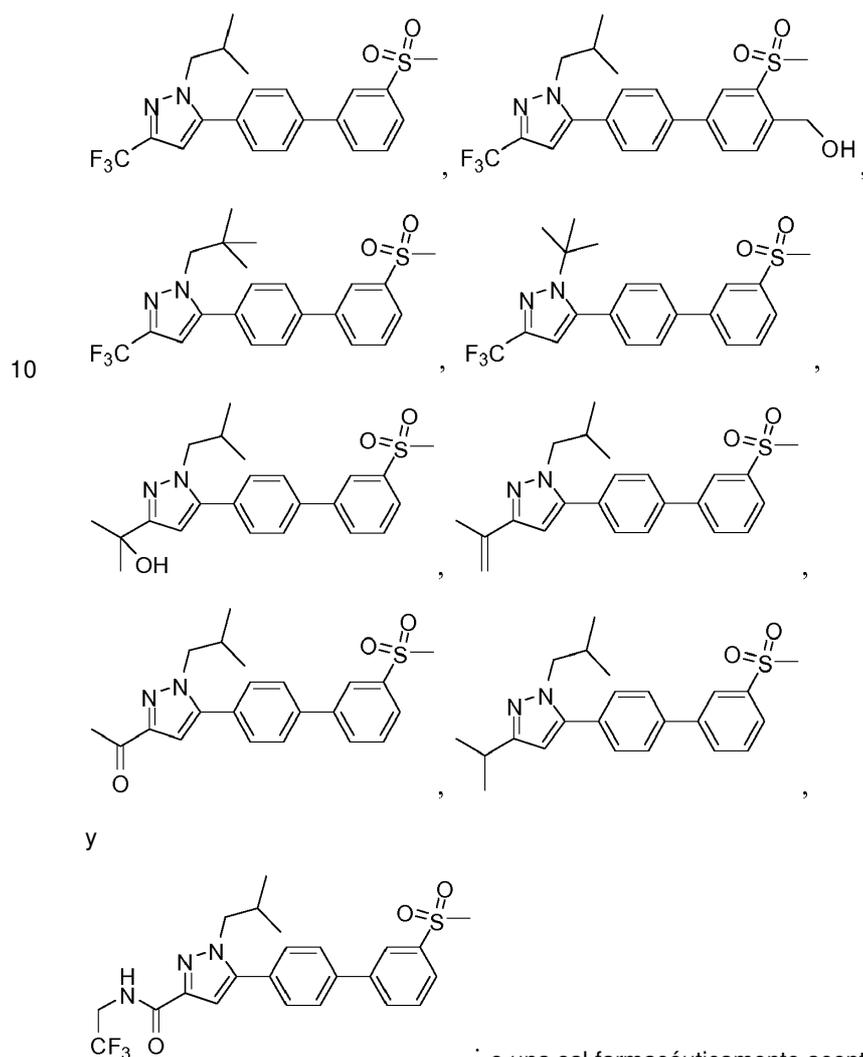
En otra realización, el compuesto se selecciona entre:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 En la presente memoria se contempla cualquier combinación de los grupos descritos anteriormente para las diversas variables. A lo largo de la memoria descriptiva, un experto en la técnica puede elegir grupos y sustituyentes de los mismos para proporcionar radicales y compuestos estables.

En algunas realizaciones es un compuesto seleccionado entre:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 15 En algunas realizaciones, el agente o agentes terapéuticos (p. ej., el compuesto de Fórmula IA, está presente en la composición farmacéutica como una sal farmacéuticamente aceptable. En algunas realizaciones, cualquier compuesto

descrito anteriormente es adecuado para cualquier método o composición descritos en la presente memoria.

5 En ciertas realizaciones, los compuestos presentados en la presente memoria poseen uno o más estereocentros y cada centro existe independientemente en la configuración R o S. Los compuestos presentados en la presente memoria incluyen todas las formas diastereoméricas, enantioméricas y epiméricas, así como las mezclas apropiadas de los mismos. Los estereoisómeros se obtienen, si se desea, por métodos tales como síntesis estereoselectiva y/o separación de estereoisómeros por medio de columnas cromatográficas quirales. En algunas realizaciones, un compuesto de Fórmula IA, IB o IC se utiliza como un enantiómero único. En algunas realizaciones, se utiliza un compuesto de Fórmula IA, IB o IC como una mezcla racémica.

10 Los métodos y formulaciones descritos en la presente memoria incluyen el uso de *N*-óxidos (si corresponde), formas cristalinas (también conocidas como polimorfos), o sales farmacéuticamente aceptables de compuestos que tienen las estructuras presentadas en la presente memoria, así como metabolitos activos de estos compuestos que tienen el mismo tipo de actividad. En algunas situaciones, los compuestos pueden existir como tautómeros. Todos los tautómeros están incluidos dentro del alcance de los compuestos presentados en la presente memoria. En realizaciones específicas, los compuestos o sales descritos en la presente memoria existen en formas solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares. En otras realizaciones, los compuestos o sales descritos en la presente memoria existen en forma no solvatada.

15 En algunas realizaciones, los compuestos de Fórmula IA, IB o IC o las sales de los mismos descritos en la presente memoria incluyen formas de adición de disolvente o formas cristalinas de los mismos, particularmente solvatos o polimorfos. Los solvatos contienen cantidades estequiométricas o no estequiométricas de un disolvente, y pueden formarse durante el proceso de cristalización con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares. Los hidratos se forman cuando el solvente es agua, o los alcoholatos se forman cuando el solvente es alcohol.

20 En algunas realizaciones, los sitios en los compuestos de Fórmula IA, IB o IC descritos en la presente memoria son susceptibles de diversas reacciones metabólicas. Por lo tanto, la incorporación de sustituyentes apropiados en los lugares de las reacciones metabólicas reducirá, minimizará o eliminará las rutas metabólicas. En realizaciones específicas, el sustituyente apropiado para disminuir o eliminar la susceptibilidad del anillo aromático a reacciones metabólicas es, a modo de ejemplo solamente, un halógeno, deuterio o un grupo alquilo.

25 En algunas realizaciones, los compuestos de Fórmula IA, IB o IC descritos en la presente memoria están marcados isotópicamente, son idénticos a los mencionados en las diversas fórmulas y estructuras presentadas en la presente memoria, pero por el hecho de que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que generalmente se encuentra en la naturaleza. En algunas realizaciones, uno o más átomos de hidrógeno se reemplazan por deuterio. En algunas realizaciones, los sitios metabólicos en los compuestos descritos en la presente memoria están deuterados. En algunas realizaciones, la sustitución por deuterio proporciona ciertas ventajas terapéuticas que son resultado de una mayor estabilidad metabólica, tales como, por ejemplo, un aumento de la semivida *in vivo* o requisitos de dosificaciones reducidas.

30 En algunas realizaciones, los compuestos descritos en la presente memoria, tales como los compuestos de Fórmula IA, IB o IC están en diversas formas, que incluyen, pero no se limitan a formas amorfas, formas molidas y formas nanoparticuladas. Además, los compuestos descritos en la presente memoria incluyen formas cristalinas, también conocidas como polimorfos. Los polimorfos incluyen las diferentes disposiciones de empaquetamiento de cristal de la misma composición elemental de un compuesto. Los polimorfos generalmente tienen diferentes patrones de difracción de rayos X, puntos de fusión, densidad, dureza, forma de cristal, propiedades ópticas, estabilidad y solubilidad. Varios factores, tales como el disolvente de recristalización, la velocidad de cristalización y la temperatura de almacenamiento, pueden hacer que domine una sola forma cristalina.

35 El escrutinio y caracterización de las sales, polimorfos y/o solvatos farmacéuticamente aceptables se puede lograr utilizando una variedad de técnicas que incluyen, pero no se limitan a, análisis térmico, difracción de rayos X, espectroscopía, sorción de vapor y microscopía. Los métodos de análisis térmico abordan la degradación termoquímica o los procesos termofísicos que incluyen, pero no se limitan a, las transiciones polimórficas, y tales métodos se utilizan para analizar las relaciones entre las formas polimórficas, determinar la pérdida de peso, encontrar la temperatura de transición vítrea o para estudios de compatibilidad de excipientes. Tales métodos incluyen, pero no se limitan a, calorimetría diferencial de barrido (DSC), calorimetría diferencial de barrido modulada (MDCS), análisis termogravimétrico (TGA) y análisis termogravimétrico e infrarrojo (TG/IR). Los métodos de difracción de rayos X incluyen, pero no se limitan a, difractómetros monocristalinos y en polvo y fuentes sincrotrónicas. Las diversas técnicas espectroscópicas utilizadas incluyen, pero no se limitan a, Raman, FTIR, UV-VIS y RMN (estado líquido y sólido). Las diversas técnicas de microscopía incluyen, pero no se limitan a, microscopía de luz polarizada, microscopía electrónica de barrido (SEM) con análisis de rayos X por dispersión de energía (EDX), microscopía electrónica de barrido ambiental con EDX (en atmósfera de gas o vapor de agua), microscopía IR y microscopía Raman.

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

Síntesis de compuestos

5 En algunas realizaciones, la síntesis de los compuestos descritos en la presente memoria se realiza utilizando los medios descritos en la bibliografía química, utilizando los métodos descritos en la presente memoria, o mediante una combinación de los mismos. Además, los disolventes, las temperaturas y otras condiciones de reacción presentadas en la presente memoria pueden variar.

En otras realizaciones, los materiales de partida y los reactivos utilizados para la síntesis de los compuestos descritos en la presente memoria se sintetizan u obtienen de fuentes comerciales, tales como, pero sin limitación, Sigma-Aldrich, FischerScientific (Fischer Chemicals) y AcrosOrganics.

10 En realizaciones adicionales, los compuestos descritos en la presente memoria y otros compuestos relacionados que tienen diferentes sustituyentes se sintetizan utilizando técnicas y materiales descritos en la presente memoria, así como aquellos que se reconocen en el campo, tal como se describe, por ejemplo, en Fieser and Fieser's Reagents for Organic Synthesis, Volúmenes 1-17 (John Wiley and Sons, 1991); Rodd's Chemistry of Carbon Compounds, Volúmenes 1-5 y Supplementals (Elsevier Science Publishers, 1989); Organic Reactions, volúmenes 1-40 (John Wiley and Sons, 1991), Larock's Comprehensive Organic Transformations (VCH Publishers Inc., 1989), marzo, Avanced Organic Chemistry 4^a Ed., (Wiley 1992); Carey y Sundberg, Advanced Organic Chemistry 4^a Ed., Vol. A y B (Plenum 2000, 2001) y Green y Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis 3^a Ed., (Wiley 1999). Los métodos generales para la preparación del compuesto como se describe en la presente memoria se pueden obtener de las reacciones y las reacciones se pueden modificar mediante el uso de reactivos y condiciones apropiadas, para la introducción de los diversos radicales encontrados en las fórmulas según se proporciona en la presente memoria. Como guía, se pueden utilizar los siguientes métodos sintéticos.

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

25 Los compuestos descritos en la presente memoria se pueden modificar utilizando diversos electrófilos y/o nucleófilos para formar nuevos grupos funcionales o sustituyentes. La Tabla IA titulada "Ejemplos de enlaces covalentes y precursores de los mismos" enumera ejemplos seleccionados no limitantes de enlaces covalentes y grupos funcionales precursores que producen los enlaces covalentes. La Tabla IA se puede utilizar como guía hacia la variedad de combinaciones de electrófilos y nucleófilos disponibles que proporcionan enlaces covalentes. Los grupos funcionales precursores se muestran como grupos electrofílicos y grupos nucleofílicos.

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

Producto de enlace covalente	Electrófilo	Nucleófilo
Carboxamidas	Ésteres activados	aminas/anilinas
Carboxamidas	acil azidas	aminas/anilinas
Carboxamidas	haluros de acilo	aminas/anilinas
Ésteres	haluros de acilo	alcoholes/fenoles
Ésteres	acil nitrilos	alcoholes/fenoles
Carboxamidas	acil nitrilos	aminas/anilinas
Iminas	Aldehídos	aminas/anilinas
Alquilaminas	haluros de alquilo	aminas/anilinas
Ésteres	haluros de alquilo	ácidos carboxílicos
Tioéteres	haluros de alquilo	Tioles
Éteres	haluros de alquilo	alcoholes/fenoles
Tioéteres	alquilsulfonatos	Tioles
Ésteres	Anhídridos	alcoholes/fenoles
Carboxamidas	Anhídridos	aminas/anilinas
Tiofenoles	haluros de arilo	Tioles

Producto de enlace covalente	Electrófilo	Nucleófilo
Arlaminas	haluros de arilo	Aminas
Tioéteres	Azindinas	Tioles
Carboxamidas	ácidos carboxílicos	aminas/anilinas
Ésteres	ácidos carboxílicos	Alcoholes
hidrazinas	Hidrazidas	ácidos carboxílicos
<i>N</i> -acilureas o anhídridos	carbodiimidias	ácidos carboxílicos
Ésteres	diazo alcanos	ácidos carboxílicos
Tioéteres	Epóxidos	Tioles
Tioéteres	haloacetamidas	Tioles
Ureas	Isocianatos	aminas/anilinas
Uretanos	Isocianatos	alcoholes/fenoles
Tioureas	isotiocianatos	aminas/anilinas
Tioéteres	Maleimidias	Tioles
Alquilaminas	ésteres sulfonato	aminas/anilinas
tioéteres	ésteres sulfonato	Tioles
Sulfonamidas	haluros de sulfonilo	aminas/anilinas
Ésteres sulfonato	haluros de sulfonilo	fenoles/alcoholes

Uso de grupos protectores

5 En las reacciones descritas, puede ser necesario proteger los grupos funcionales reactivos, por ejemplo, grupos hidroxilo, amino, imino, tio o carboxilo, donde se deseen en el producto final, para evitar su participación no deseada en las reacciones. Los grupos protectores se utilizan para bloquear algunos o todos los radicales reactivos y evitar que tales grupos participen en reacciones químicas hasta que se elimine el grupo protector. Se prefiere que cada grupo protector sea extraíble por un medio diferente. Los grupos protectores que se escinden en condiciones de reacción totalmente dispares cumplen el requisito de eliminación diferencial.

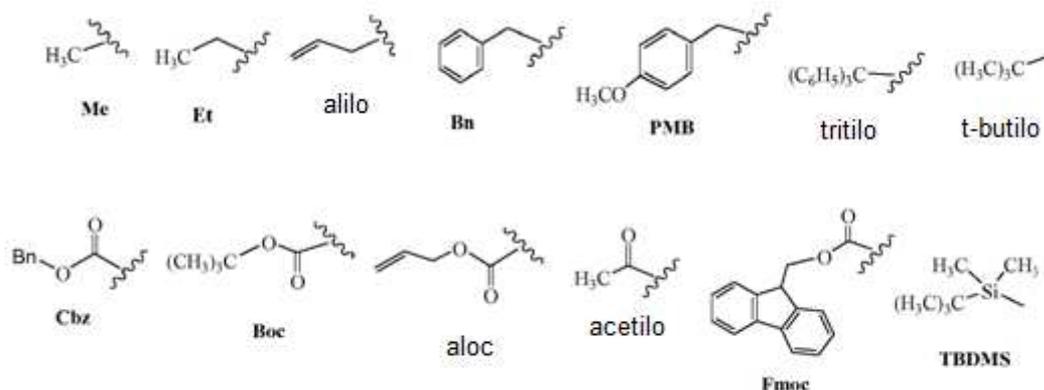
10 Los grupos protectores se pueden eliminar mediante condiciones ácidas, alcalinas, reductoras (tales como, por ejemplo, hidrogenólisis) y/o condiciones oxidativas. Los grupos tales como tritilo, dimetoxitritilo, acetal y t-butildimetilsililo son lábiles a los ácidos y se pueden utilizar para proteger radicales reactivos con carboxi e hidroxilo en presencia de grupos amino protegidos con grupos Cbz, que son eliminables por hidrogenólisis, y grupos Fmoc, que son lábiles frente a los álcalis. El ácido carboxílico y los radicales reactivos con hidroxilo se pueden bloquear con grupos lábiles a los álcalis tales como, pero sin limitarse a, metilo, etilo y acetilo en presencia de aminas bloqueadas con grupos lábiles a los ácidos tales como carbamato de t-butilo o con carbamatos que son estables tanto a los ácidos como a los álcalis, pero hidrolíticamente eliminables.

20 Los radicales reactivos con ácido carboxílico y con hidroxilo también se pueden bloquear con grupos protectores hidrolíticamente eliminables tales como el grupo bencilo, mientras que los grupos amina capaces de formar enlaces de hidrógeno con ácidos se pueden bloquear con grupos lábiles a los álcalis tales como Fmoc. Los radicales reactivos con ácido carboxílico se pueden proteger mediante la conversión en compuestos simples éster como se ilustra en la presente memoria, que incluye la conversión a ésteres de alquilo, o se pueden bloquear con grupos protectores que se pueden eliminar por oxidación tales como 2,4-dimetoxibencilo, mientras que los grupos amino coexistentes se pueden bloquear con carbamatos de sililo lábiles al fluoruro.

25 Los grupos alilo de bloqueo son útiles en presencia de grupos protectores de ácido y álcali ya que los primeros son estables y se pueden eliminar posteriormente mediante catalizadores metálicos o de ácido pi. Por ejemplo, un ácido carboxílico bloqueado con alilo se puede desproteger con una reacción catalizada por Pd⁰ en presencia de carbamato

de t-butilo lábil al ácido o grupos acetato protectores de amina lábiles a los álcalis. Otra forma más de grupo protector es una resina a la que se puede unir un compuesto o intermedio. Mientras el residuo esté unido a la resina, ese grupo funcional está bloqueado y no puede reaccionar. Una vez liberado de la resina, el grupo funcional está disponible para reaccionar.

- 5 Normalmente, los grupos de bloqueo/protección se pueden seleccionar entre:



10 Otros grupos protectores, más una descripción detallada de las técnicas aplicables a la creación de grupos protectores y su eliminación son descritos por Greene y Wuts, en *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3ª ed., John Wiley & Sons, Nueva York, NY, 1999 y Kocienski, *Protective Groups*, Thieme Verlag, Nueva York, NY, 1994.

Cierta terminología

15 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos utilizados en la presente memoria tienen el mismo significado que se entiende comúnmente al que pertenece el tema reivindicado. En caso de que haya una pluralidad de definiciones para los términos en la presente memoria, prevalecen las de esta sección. Cuando se hace referencia a una URL u otro identificador o dirección, se entiende que dichos identificadores pueden cambiar y la información particular en Internet puede variar, pero se puede encontrar información equivalente buscando en Internet. La referencia a la misma evidencia la disponibilidad y difusión pública de tal información.

20 Se debe entender que la descripción general anterior y la siguiente descripción detallada son solo ilustrativas y explicativas y no son restrictivas de ningún tema reivindicado. En esta solicitud, el uso del singular incluye el plural a menos que se indique específicamente lo contrario. Se debe observar que, como se emplea en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno", "una", "el" y "la" incluyen referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario. En esta solicitud, el uso de "o" significa "y/o" a menos que se indique lo contrario. Además, el uso del término "incluyendo" así como otras formas, tales como "incluyen", "incluye" e "incluido" no es limitante.

25 Los encabezados de sección utilizados en la presente memoria son solo para fines organizativos y no deben interpretarse como limitantes del tema descrito.

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

35 A menos que se proporcionen definiciones específicas, la nomenclatura empleada con relación a, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica sintética y química medicinal y farmacéutica descritos en la presente memoria son las reconocidas en el campo. Se pueden utilizar técnicas convencionales para síntesis químicas, análisis químicos, preparación farmacéutica, formulación y suministro, y tratamiento de pacientes. Se pueden utilizar técnicas convencionales para ADN recombinante, síntesis de oligonucleótidos y cultivo y transformación de tejidos (p. ej., electroporación, lipofección). Las reacciones y las técnicas de purificación se pueden realizar, p. ej., utilizando kits de especificaciones del fabricante o como se logra comúnmente en la técnica o como se describe en la presente memoria. Las técnicas y procedimientos anteriores se pueden realizar generalmente a partir de métodos convencionales y como se describe en varias referencias generales y más específicas que se citan y comentan a lo largo de la presente memoria descriptiva.

40

Se debe entender que los métodos y composiciones descritos en la presente memoria no están limitados a la metodología, protocolos, líneas celulares, construcciones y reactivos concretos descritos en la presente memoria y, como tales, pueden variar. También se debe entender que la terminología utilizada en la presente memoria tiene el propósito de describir realizaciones particulares solamente, y no pretende limitar el alcance de los métodos,

compuestos, composiciones descritos en la presente memoria.

Como se emplea en la presente memoria, C₁-C_x incluye C₁-C₂, C₁-C₃... C₁-C_x. C₁-C_x se refiere al número de átomos de carbono que forman el radical al que designa (excluyendo los sustituyentes opcionales).

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

10 El grupo "alquilo" puede tener de 1 a 6 átomos de carbono (siempre que aparezca en la presente memoria, un intervalo numérico tal como de "1 a 6" se refiere a cada número entero en el intervalo dado; p.ej., de "1 a 6 átomos de carbono" significa que el grupo alquilo puede consistir en 1 átomo de carbono, 2 átomos de carbono, 3 átomos de carbono, etc. hasta e incluyendo 6 átomos de carbono, aunque la presente definición también cubre la aparición del término "alquilo" donde no se designa ningún intervalo numérico). El grupo alquilo de los compuestos descritos en la presente memoria se puede designar como "alquilo C₁-C₆" o designaciones similares. Solo a modo de ejemplo, "alquilo C₁-C₆" indica que hay de uno a seis átomos de carbono en la cadena de alquilo, es decir, la cadena de alquilo se selecciona del grupo que consiste en metilo, etilo, n-propilo, iso-propilo, n-butilo, iso-butilo, sec-butilo, t-butilo, n-pentilo, iso-pentilo, neo-pentilo, hexilo, propen-3-ilo (alilo), ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo. Los grupos alquilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Dependiendo de la estructura, un grupo alquilo puede ser un monorradiado o un dirradiado (es decir, un grupo alquilenilo).

Un "alcoxi" se refiere a un grupo "-O-alquilo", donde alquilo se ha definido en la presente memoria.

El término "alquenilo" se refiere a un tipo de grupo alquilo en el que dos átomos del grupo alquilo forman un doble enlace que no forma parte de un grupo aromático. Los ejemplos no limitantes de un grupo alquenilo incluyen

25 -CH=CH₂, -C(CH₃)=CH₂, -CH=CHCH₃, -CH=C(CH₃)₂ y -C(CH₃)=CHCH₃. El radical alquenilo puede ser ramificado, de cadena lineal o cíclico (en cuyo caso, también se conocería como un grupo "cicloalquenilo"). Los grupos alquenilo pueden tener de 2 a 6 carbonos. Los grupos alquenilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Dependiendo de la estructura, un grupo alquenilo puede ser un monorradiado o un dirradiado (es decir, un grupo alquenileno). En algunas realizaciones, "alquenilo" es un alquenilo ramificado o de cadena lineal.

30 El término "alquinilo" se refiere a un tipo de grupo alquilo en el que los dos átomos del grupo alquilo forman un triple enlace. Los ejemplos no limitantes de un grupo alquinilo incluyen -C≡CH, -C≡CCH₃, -C≡CCH₂CH₃ y

-C≡CCH₂CH₂CH₃. La porción "R" del radical alquinilo puede ser ramificada, de cadena lineal o cíclica. Un grupo alquinilo puede tener de 2 a 6 carbonos. Los grupos alquinilo pueden estar sustituidos o no sustituidos. Dependiendo de la estructura, un grupo alquinilo puede ser un monorradiado o un dirradiado (es decir, un grupo alquinileno).

"Amino" se refiere a un grupo -NH₂.

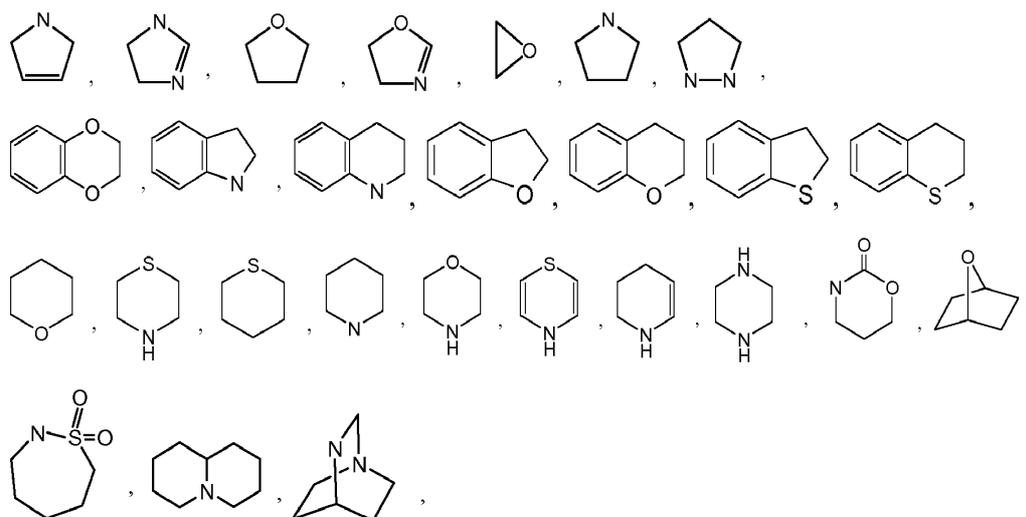
35 El término "alquilamina" o "alquilamino" se refiere al grupo -N(alquilo)_xH_y, donde alquilo se ha definido en la presente memoria y x e y se seleccionan del grupo x=1, y=1 y x=2, y=0. Cuando x=2, los grupos alquilo, tomados junto con el nitrógeno al que están anclados, pueden formar opcionalmente un sistema anular cíclico. "Dialquilamino" se refiere a un grupo -N(alquilo)₂, donde alquilo se ha definido en la presente memoria.

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

45 Como se emplea en la presente memoria, el término "arilo" se refiere a un anillo aromático en donde cada uno de los átomos que forman el anillo es un átomo de carbono. Los anillos de arilo pueden estar formados por cinco, seis, siete, ocho, nueve o más de nueve átomos de carbono. Los grupos arilo pueden estar opcionalmente sustituidos. Los ejemplos de grupos arilo incluyen, pero no se limitan a, fenilo y naftalenilo. Dependiendo de la estructura, un grupo arilo puede ser un monorradiado o un dirradiado (es decir, un grupo arileno).

50 "Carboxi" se refiere a -CO₂H. En algunas realizaciones, los radicales carboxi se pueden reemplazar por un "bioisómero de ácido carboxílico", que se refiere a un grupo funcional o radical que exhibe propiedades físicas y/o químicas similares a un radical ácido carboxílico. Un bioisómero de ácido carboxílico tiene propiedades biológicas similares a las de un grupo ácido carboxílico. Un compuesto con un radical ácido carboxílico puede tener el radical ácido carboxílico intercambiado por un bioisómero de ácido carboxílico y tener propiedades físicas y/o biológicas similares en comparación con el compuesto que contiene ácido carboxílico. Por ejemplo, en una realización, un bioisómero de ácido carboxílico se ionizaría a pH fisiológico aproximadamente en la misma medida que un grupo ácido carboxílico.

55 Los ejemplos de bioisómeros de un ácido carboxílico incluyen, pero no se limitan a,



- 5 y similares. El término heterocíclico también incluye todas las formas anulares de los carbohidratos, incluidos, pero sin limitarse a, los monosacáridos, los disacáridos y los oligosacáridos. A menos que se indique lo contrario, los heterocicloalquilo tienen de 2 a 10 carbonos en el anillo. Se entiende que cuando se refiere al número de átomos de carbono en un heterocicloalquilo, el número de átomos de carbono en el heterocicloalquilo no es el mismo que el número total de átomos (incluidos los heteroátomos) que forman el heterocicloalquilo (es decir, los átomos del esqueleto del anillo de heterocicloalquilo).

El término "halo" o, alternativamente, "halógeno" significa flúor, cloro, bromo y yodo.

El término "haloalquilo" se refiere a un grupo alquilo que está sustituido con uno o más halógenos. Los halógenos pueden ser iguales o pueden ser diferentes. Los ejemplos no limitantes de los haloalquilo incluyen $-\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{CF}_3$,

$-\text{CHF}_2$, $-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}(\text{CH}_3)_3$, y similares.

- 15 Los términos "fluoroalquilo" y "fluoroalcoxi" incluyen grupos alquilo y alcoxi, respectivamente, que están sustituidos con uno o más átomos de flúor. Los ejemplos no limitantes de los fluoroalquilo incluyen $-\text{CF}_3$, $-\text{CHF}_2$, $-\text{CH}_2\text{F}$,

$-\text{CH}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$, $-\text{CF}(\text{CH}_3)_3$, y similares. Ejemplos no limitantes de los grupos fluoroalcoxi, incluyen

$-\text{OCF}_3$, $-\text{OCHF}_2$, $-\text{OCH}_2\text{F}$, $-\text{OCH}_2\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_2\text{CF}_3$, $-\text{OCF}_2\text{CF}_2\text{CF}_3$, $-\text{OCF}(\text{CH}_3)_2$, y similares.

- 20 El término "heteroalquilo" se refiere a un radical alquilo en el que uno o más átomos de la cadena del esqueleto se seleccionan entre un átomo distinto del carbono, p. ej., oxígeno, nitrógeno, azufre, fósforo, silicio o combinaciones de los mismos. El heteroátomo o los heteroátomos se pueden colocar en cualquier posición interior del grupo heteroalquilo. Los ejemplos incluyen, pero no se limitan a, $-\text{CH}_2\text{-O-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-O-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-NH-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)\text{-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-NH-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-N}(\text{CH}_3)\text{-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-S-CH}_2\text{-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH}_2$, $-\text{S}(\text{O})\text{-CH}_3$,

- 25 $-\text{CH}_2\text{-CH}_2\text{-(SO)}_2\text{-CH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-NH-OCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-O-Si}(\text{CH}_3)_3$, $-\text{CH}_2\text{-CH=N-OCH}_3$ y $-\text{CH=CH-N}(\text{CH}_3)\text{-CH}_3$. Además, hasta dos heteroátomos pueden ser consecutivos, tal como, por ejemplo, $-\text{CH}_2\text{-NH-OCH}_3$ y $-\text{CH}_2\text{-O-Si}(\text{CH}_3)_3$. Excluyendo el número de heteroátomos, un "heteroalquilo" puede tener de 1 a 6 átomos de carbono.

El término "enlace" o "enlace sencillo" se refiere a un enlace químico entre dos átomos, o dos radicales cuando los átomos unidos por el enlace se consideran parte de una subestructura más grande.

- 30 El término "radical" se refiere a un segmento específico o grupo funcional de una molécula. Los radicales químicos son a menudo entidades químicas reconocidas incluidas o anexadas a una molécula.

Como se emplea en la presente memoria, el sustituyente "R" que aparece solo y sin una designación numérica se refiere a un sustituyente seleccionado entre alquilo, haloalquilo, heteroalquilo, alqueno, cicloalquilo, arilo, heteroarilo (unido a través de un carbono anular) y heterocicloalquilo.

- 35 El término "opcionalmente sustituido" o "sustituido" significa que el grupo al que se hace referencia puede estar sustituido con uno o más grupos adicionales seleccionados individual e independientemente entre alquilo, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo, $-\text{OH}$, alcoxi, ariloxi, alquiltio, ariltio, alquilsulfóxido, arilsulfóxido, alquilsulfona, arilsulfona, $-\text{CN}$, alquino, alquil($\text{C}_1\text{-C}_6$)alquino, halo, acilo, aciloxi, $-\text{CO}_2\text{H}$, $-\text{CO}_2\text{-alquilo}$, nitro, haloalquilo, fluoroalquilo y amino, incluidos grupos amino mono- y disustituidos (p. ej., $-\text{NH}_2$, $-\text{NHR}$, $-\text{N}(\text{R})_2$), y sus derivados protegidos. A modo de ejemplo, un sustituyente opcional puede ser L^sR^s , en donde cada L^s se selecciona independientemente entre un

40 enlace, $-\text{O}-$, $-\text{C}(\text{=O})-$, $-\text{S}-$, $-\text{S}(\text{=O})-$, $-\text{S}(\text{=O})_2-$, $-\text{NH}-$, $-\text{NHC}(\text{O})-$, $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$, $\text{S}(\text{=O})_2\text{NH}-$,

-NHS(=O)₂, -OC(O)NH-, -NHC(O)O-, -(alquilo C1-C6), o -(alqueno C2-C6)-; y cada R⁶ se selecciona independientemente entre H, (alquilo C1-C6), (cicloalquilo C3-C8), arilo, heteroarilo, heterocicloalquilo y heteroalquilo C1-C6. En algunas realizaciones, "opcionalmente sustituido" significa opcionalmente sustituido con 1 hidroxilo. Los grupos protectores que pueden formar los derivados protectores de los sustituyentes anteriores se encuentran en fuentes tales como Greene y Wuts, anteriormente.

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

Métodos de tratamiento y prevención.

En una realización, se proporcionan en la presente memoria métodos para estimular la actividad de LXR en una célula poniendo en contacto la célula con un modulador de LXR. Los ejemplos de tales moduladores de LXR se describen anteriormente. Otros moduladores de LXR que se pueden utilizar para estimular la actividad de LXR se identifican utilizando ensayos de escrutinio que seleccionan tales compuestos, como se describe en detalle en la presente memoria.

En otro aspecto, se proporcionan en la presente memoria métodos para modular la actividad de LXR para el tratamiento de enfermedades, trastornos o afecciones descritas en la presente memoria. Por consiguiente, en una realización ilustrativa, se proporcionan en la presente memoria métodos que implican poner en contacto una célula con un modulador de LXR que induce la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn y/o decorina y/o inhibe la expresión de TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8. Estos métodos se realizan in vitro (p. ej., cultivando la célula con un modulador de LXR) o, alternativamente, in vivo (por ejemplo, administrando un modulador de LXR a un sujeto). Como tales, los métodos actuales están dirigidos al tratamiento de un sujeto que se beneficiaría de la inducción de la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn, y/o decorina y/o la inhibición de la expresión de TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8.

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

Composiciones farmacéuticas y métodos de administración de moduladores de LXR

La administración de moduladores de LXR como se describe en la presente memoria se puede realizar en cualquier forma farmacológica, incluida una cantidad terapéuticamente eficaz de un modulador de LXR solo o combinado con un portador farmacéuticamente aceptable. Se pretende que el término "sujeto" incluya organismos vivos en los que se puede provocar una respuesta inmunitaria, por ejemplo, mamíferos.

Las composiciones farmacéuticas se pueden formular de una manera convencional utilizando uno o más portadores fisiológicamente aceptables que incluyen excipientes y agentes auxiliares que facilitan el procesamiento de los compuestos activos en preparaciones que se pueden utilizar farmacéuticamente. La formulación adecuada depende de la ruta de administración elegida. Se pueden encontrar detalles adicionales sobre excipientes adecuados para las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria, por ejemplo, en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, decimonovena edición (Easton, Pa.: Mack Publishing Company, 1995); Hoover, John E., Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Co., Easton, Pennsylvania 1975; Liberman, H.A. y Lachman, L., Ed., Pharmaceutical Dosage Forms, Marcel Decker, Nueva York, N.Y., 1980; y Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery y Systems, Séptima Ed. (Lippincott Williams y Wilkins, 1999).

Una composición farmacéutica, como se emplea en la presente memoria, se refiere a una mezcla de un compuesto de Fórmula IA descrito en la presente memoria, con otros componentes químicos, tales como portadores, estabilizadores, diluyentes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes y/o excipientes. La composición farmacéutica facilita la administración del compuesto a un organismo. Al poner en práctica los métodos de tratamiento o uso proporcionados en la presente memoria, se administran cantidades terapéuticamente eficaces de compuestos descritos en la presente memoria en una composición farmacéutica a un mamífero que tiene una enfermedad, trastorno o afección que se vaya a tratar. En algunas realizaciones, el mamífero es un ser humano. Una cantidad terapéuticamente eficaz puede variar ampliamente dependiendo de la gravedad de la enfermedad, la edad y la salud relativa del sujeto, la potencia del compuesto utilizado y otros factores. Los compuestos de Fórmula IA se pueden utilizar solos o combinados con uno o más agentes terapéuticos como componentes de mezclas (como en la terapia combinada).

Las formulaciones farmacéuticas descritas en la presente memoria se pueden administrar a un sujeto por múltiples vías de administración, que incluyen, pero no se limitan a, vías de administración oral, parenteral (p. ej., intravenosa, subcutánea, intramuscular), intranasal, bucal, tópica, rectal o transdérmica. Además, las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria, que incluyen un compuesto de Fórmula IA descrito en la presente memoria, se pueden formular en cualquier forma de dosificación adecuada, que incluye, pero no se limita a, dispersiones orales acuosas, líquidos, geles, jarabes, elixires, suspensiones espesas, suspensiones, aerosoles, formulaciones de liberación controlada, formulaciones de fusión rápida, formulaciones efervescentes, formulaciones liofilizadas, comprimidos, polvos, píldoras, grageas, cápsulas, formulaciones de liberación retardada, formulaciones de liberación prolongada, formulaciones de liberación pulsátil, formulaciones multiparticuladas y formulaciones mixtas de liberación inmediata y liberación controlada.

Para el tratamiento de tumores sólidos, el suministro localizado también es una opción. Tal suministro puede ser por inyección, o puede ser tópico, transmucoso y similares. Si los medicamentos se dirigen al tratamiento del melanoma, la administración tópica es una opción viable.

Para el suministro parenteral sistémico, está disponible una variedad de portadores fisiológicamente aceptables, que incluyen formulaciones de nanopartículas, liposomas, micelas y similares. Tales portadores también se pueden dirigir utilizando anticuerpos o fragmentos de los mismos específicos para las dianas, o utilizando ligandos de receptores. "Anticuerpos" incluye todas las formas, incluidos los anticuerpos humanos y humanizados, así como los anticuerpos y fragmentos de cadena sencilla producidos de forma recombinante.

Las formulaciones para la administración sistémica por rutas parenterales pueden incluir portadores tanto acuosos como lipófilos. De manera similar, las formulaciones para administración, por ejemplo, por inhalación incluirán portadores que promueven la absorción a través de la barrera nasal y se pueden administrar mediante pulverización en aerosol utilizando propelente tales como triclorofluorometano, dióxido de carbono u otro propelente. La formulación que se debe administrar también puede estar en forma de polvo o suspensión espesa.

Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente memoria, que incluyen un compuesto de Fórmula IA descrito en la presente memoria, se pueden administrar utilizando formulaciones de liberación sostenida que incluyen implantes. Tales implantes se pueden utilizar proximales a cualquier tumor sólido o implantarse dentro de dicho tumor.

Las composiciones farmacéuticas que incluyen un compuesto descrito en la presente memoria se pueden fabricar de manera convencional, tal como, solo a modo de ejemplo, por medio de procedimientos convencionales de mezcla, disolución, granulación, fabricación de grageas, levigación, emulsión, encapsulación, atrapamiento o compresión.

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

Es especialmente ventajoso formular composiciones en forma de una unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de unidad de dosificación como se emplea en la presente memoria se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos mamíferos a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. La memoria descriptiva para las formas de unidad de dosificación está dictada por y depende directamente de (a) las características únicas del modulador de LXR y el efecto terapéutico particular que se logrará y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de composición de tal compuesto activo para el tratamiento de sensibilidad en individuos. Un experto en la técnica puede calcular fácilmente la dosis específica, por ejemplo, de acuerdo con el peso corporal aproximado o el área de superficie corporal del paciente o el volumen del espacio corporal que se va a ocupar. La dosis también se calculará dependiendo de la ruta particular de administración seleccionada. Los expertos normales en la técnica realizan habitualmente un refinamiento adicional de los cálculos necesarios para determinar la dosificación apropiada para el tratamiento. Tales cálculos se pueden realizar sin una experimentación excesiva por parte de un experto en la técnica a la luz de las actividades del modulador de LXR descritas en la presente memoria en preparaciones de ensayo de células diana. Las dosificaciones exactas se determinan junto con los estudios convencionales de dosis-respuesta. Se entenderá que la cantidad de la composición realmente administrada será determinada por un profesional, a la luz de las circunstancias relevantes, incluyendo la afección o afecciones que se vaya a tratar, la elección de la composición que se vaya a administrar, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, la gravedad de los síntomas del paciente y la ruta de administración elegida.

La toxicidad y la eficacia terapéutica de tales moduladores de LXR se pueden determinar mediante procedimientos farmacéuticos convencionales en cultivos celulares o animales de experimentación, por ejemplo, para determinar la DL_{50} (la dosis letal para el 50% de la población) y la DE_{50} (la dosis terapéuticamente eficaz en el 50% de la población). La razón de dosis entre los efectos tóxicos y terapéuticos es el índice terapéutico y se puede expresar como la razón DL_{50}/DE_{50} . Se prefieren los moduladores de LXR que exhiben grandes índices terapéuticos. Si bien se pueden utilizar moduladores de LXR que exhiben efectos secundarios tóxicos, se debe tener cuidado al diseñar un sistema de suministro que dirija tales moduladores al sitio del tejido afectado para minimizar el daño potencial a las células no infectadas y, por lo tanto, reducir los efectos secundarios.

Los datos obtenidos de los ensayos de cultivo celular y estudios en animales se pueden utilizar para formular un intervalo de dosificación para su uso en seres humanos. La dosificación de tales moduladores de LXR se encuentra preferiblemente dentro de un intervalo de concentraciones circulantes que incluyen la DE₅₀ con poca o ninguna toxicidad. La dosificación puede variar dentro de este intervalo dependiendo de la forma de dosificación empleada y la vía de administración utilizada. Para cualquier modulador de LXR utilizado en un método descrito en la presente memoria, la dosis terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente a partir de ensayos de cultivo celular. Se puede formular una dosis en modelos animales para lograr un intervalo de concentración plasmática circulante que incluya la CI₅₀ (es decir, la concentración del modulador de LXR que logra una inhibición de los síntomas semimáxima) como se determina en el cultivo celular. Tal información se puede utilizar para determinar con mayor precisión las dosis útiles en seres humanos. Los niveles en plasma se pueden medir, por ejemplo, mediante cromatografía líquida de alta resolución.

El seguimiento de la influencia de los moduladores de LXR sobre la inducción de la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn y/o decorina y/o la inhibición de la expresión de TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8 se aplica en pruebas clínicas. Por ejemplo, se realiza un seguimiento de la eficacia de un modulador de LXR en ensayos clínicos de sujetos que exhiben un aumento de expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn, y/o decorina y/o disminución de la expresión de TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8. En tales pruebas clínicas, se utiliza la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn, decorina, TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8 como "lectura" o marcador.

Por lo tanto, para estudiar el efecto de los moduladores de LXR, por ejemplo, en una prueba clínica, se aíslan las células y se prepara y analiza el ARN para determinar los niveles de expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn, decorina, TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8. Los niveles de expresión génica (es decir, un patrón de expresión génica) se cuantifican, por ejemplo, mediante análisis de transferencia Northern o RT-PCR, midiendo la cantidad de proteína producida o midiendo los niveles de actividad de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn, decorina, TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8, todos por métodos bien conocidos por los expertos con un conocimiento práctico normal de la técnica. De esta manera, el patrón de expresión génica sirve como marcador, indicativo de la respuesta fisiológica de las células al modulador de LXR. Por consiguiente, este estado de respuesta se determina antes, y en varios puntos durante el tratamiento del individuo con el modulador de LXR.

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

Por ejemplo, una mayor administración del modulador de LXR puede ser deseable para aumentar la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn y/o decorina a niveles más altos que los detectados y/o reducir la expresión de TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8 a niveles más bajos que los detectados, es decir, para aumentar la eficacia del modulador de LXR. Alternativamente, la disminución de la administración del modulador de LXR puede ser deseable para disminuir la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn y/o decorina a niveles más bajos que los detectados o la actividad y/o para aumentar la expresión de TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8 a niveles más altos que los detectados, es decir, para disminuir la eficacia del modulador de LXR. De acuerdo con tal realización, se puede utilizar la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn, decorina, TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8 como un indicador de la eficacia de un modulador de LXR, incluso en ausencia de una respuesta fenotípica observable.

Ensayos de escrutinio

En una realización, los niveles de expresión de citocinas y metaloproteasas descritos en la presente memoria se utilizan para facilitar el diseño y/o identificación de compuestos que funcionan a través de un mecanismo basado en LXR. En consecuencia, en la presente memoria se proporcionan métodos (también denominados en la presente memoria "ensayos de escrutinio") para identificar moduladores, es decir, moduladores LXR, que tienen un efecto estimulador o inhibidor, por ejemplo, sobre la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1,

GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn, decorina, TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8.

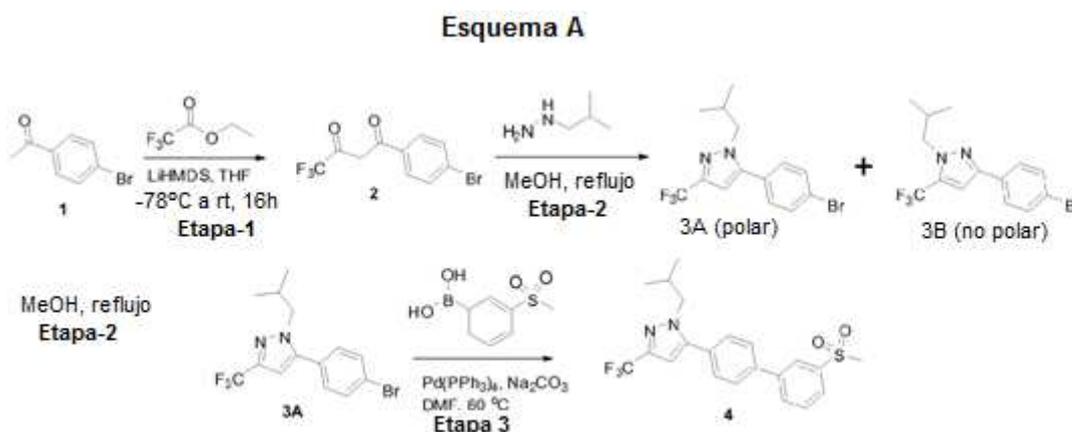
Un ensayo de escrutinio ilustrativo es un ensayo basado en células en el que una célula que expresa LXR se pone en contacto con un compuesto de prueba, y la capacidad del compuesto de prueba para modular la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn, decorina, TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8 a través de un mecanismo basado en LXR. Determinar la capacidad del compuesto de prueba para modular la expresión de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn, decorina, TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8 se logra mediante el seguimiento, por ejemplo, de los niveles de ADN, ARNm o proteína, o midiendo los niveles de actividad de TIMP1, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn, decorina, TNF α , MMP1, MMP3 y/o IL-8. La célula, por ejemplo, es de origen mamífero, p. ej., humano.

Los nuevos moduladores identificados por los ensayos de escrutinio descritos anteriormente se utilizan para tratamientos como se describe en la presente memoria.

15 Ejemplos

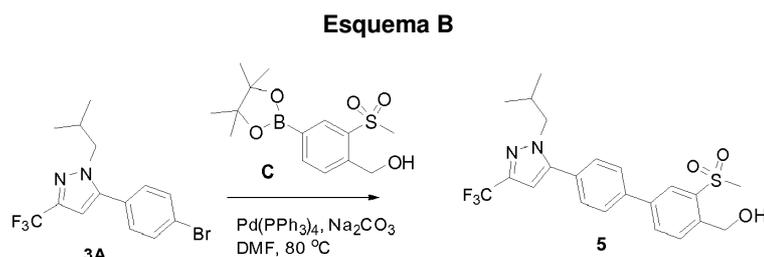
Los siguientes ejemplos se ofrecen con fines ilustrativos, y no se pretende que limiten el alcance de las reivindicaciones proporcionadas en la presente memoria. Los materiales de partida y los reactivos utilizados para la síntesis de los compuestos descritos en la presente memoria se pueden sintetizar o se pueden obtener de fuentes comerciales, tales como, pero sin limitarse a, Sigma-Aldrich, Acros Organics, Fluka y Fischer Scientific.

20 Ejemplo 1: Síntesis de 1-isobutil-5-(3'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol (4)



Seguindo la secuencia de reacción anterior, el compuesto del título **4** se preparó a partir de 1-(4-bromofenil)etanona **1** y trifluoroacetato de etilo. LCMS: 423,25,10 (M + 1)⁺; HPLC: 96,20% (@ 210 nm-370 nm) (R_t: 8,064; Método: Columna: YMC ODS-A 150 mm x 4,6 mm x 5 μ ; Fase móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B; TFA al 0,05% en acetonitrilo; Vol. Iny.: 10 μ L, Temp. col.: 30°C; Velocidad de flujo: 1,4 ml/min.; Gradiente: B al 5% a B al 95% en 8 min, Mantenimiento durante 1,5 min, 9,51-12 min B al 5%); RMN ¹H (CDCl₃, 400 MHz) δ 8,22 (s, 1H), 7,95 (dd, 2H), 7,74 (d, 2H, J=7,6Hz), 7,72 (d, 1H), 7,50 (d, 2H, J=7,6Hz), 7,26 (s, 1H), 4,02 (d, 2H), 3,12 (s, 3H), 2,24 (m, 1H), 0,81 (d, 6H).

Ejemplo 2: Síntesis de (4'-(1-isobutil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-5-il)-3-(metilsulfonil)bifenil-4-il)metanol (5)

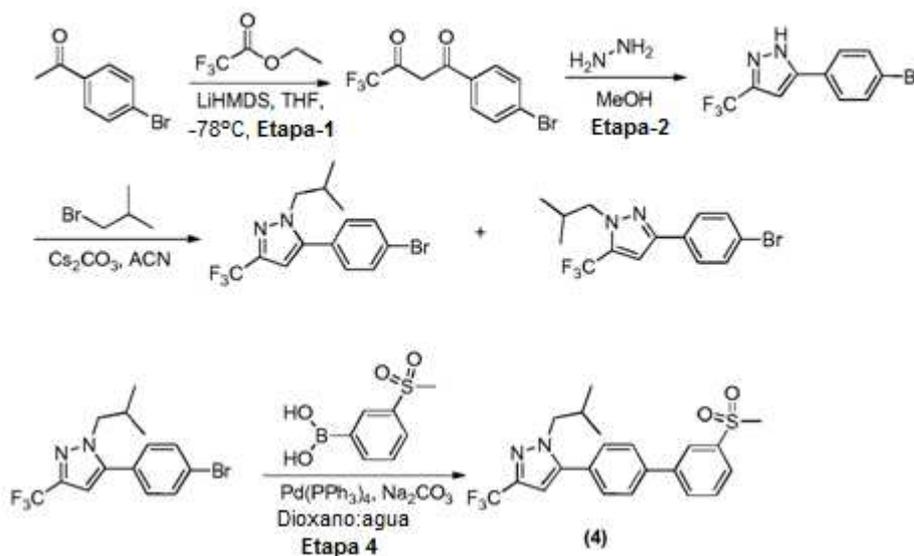


El compuesto del título **5** se preparó a partir de 5-(4-bromofenil)-1-isobutil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol **3A** y (2-(metilsulfonil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metanol. LCMS: 453,30,10 (M + 1)⁺; HPLC: 96,20% (@ 210 nm-370 nm) (R_t: 7,649; Método: Columna: YMC ODS-A 150 mm x 4,6 mm x 5 μ ; Fase móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B; TFA al 0,05% en acetonitrilo; Vol. Iny.: 10 μ L, Temp. col.: 30°C; Velocidad de flujo: 1,4 ml/min.; Gradiente: B

al 5% a B al 95% en 8 min, Mantenimiento durante 1,5 min, 9,51-12 min B al 5%); RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 8,32 (s, 1H), 7,92 (brd, 1H), 7,74 (d, 2H, $J=7,6\text{Hz}$), 7,71 (d, 1H), 7,50 (d, 2H, $J=7,6\text{Hz}$), 7,26 (s, 1H), 6,56 (s, 1H), 5,02 (brd, 2H), 4,00 (d, 2H), 3,24 (s, 1H), 3,00 (m, 1H), 2,24 (m, 1H), 0,80 (s, 6 H).

Ejemplo 1A: Síntesis alternativa de 1-isobutil-5-(3'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol (4)

Esquema C



5

Etapa 1: 1-(4-Bromofenil)-4,4,4-trifluorobutano-1,3-diona

A una solución agitada de 1-(4-bromofenil)etanona (25 g, 125,6 mmoles) en THF seco (250 ml) a -78°C , se le añadió LiHMDS (1 M, 188 ml, 188,4 mmoles) y la solución se agitó a la misma temperatura durante 1 h. A esta solución, se le añadió 2,2,2-trifluoroacetato de etilo (22,44 ml, 188,4 mmoles) en THF (20 ml) a -78°C y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se sofocó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida dando como resultado un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto del título (35 g, 94,4%).

10

Etapa 2: 5-(4-Bromofenil)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol

A una solución agitada de 1-(4-bromofenil)-4,4,4-trifluorobutano-1,3-diona (1 g, 3,39 mmoles) en MeOH (10 ml), se le añadió hidrato de hidrazina (0,186 g, 3,73 mmoles), y la mezcla de reacción resultante se agitó a 90°C durante 6 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se concentró hasta sequedad a presión reducida. El residuo obtenido se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida dando como resultado un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto del título (0,6 g, 61,2%).

20

Etapa 3: 5-(4-Bromofenil)-1-isobutil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol

A una solución agitada de 5-(4-bromofenil)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol (1 g, 3,45 mmoles) en ACN (10 ml), se le añadieron 1-bromo-2-metilpropano (0,709 g, 5,18 mmoles) y CS_2CO_3 (2,24 g, 6,90 mmoles) y la mezcla de reacción resultante se agitó a 80°C durante 6 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se concentró hasta sequedad a presión reducida. El residuo obtenido se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida dando como resultado un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto del título (0,44 g, 38%).

25

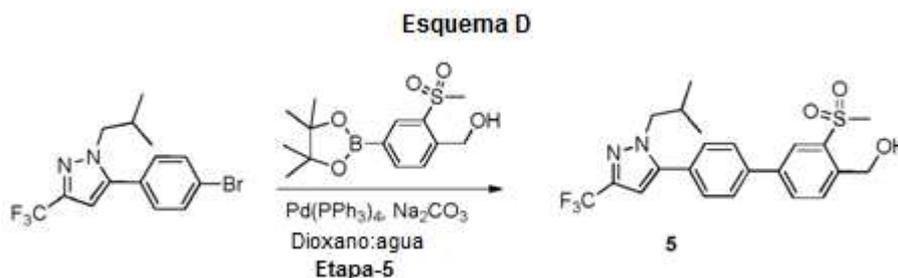
Etapa 4: 1-Isobutil-5-(3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-3-(trifluorometil)-1H-pirazol (4):

A una solución agitada de ácido 5-(4-bromofenil)-1-isobutil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol (5,3 g, 15,32 mmoles) y ácido 3-(metilsulfonil)fenilborónico (3 g, 15,32 mmoles) en una mezcla de dioxano/agua (50 ml + 10 ml), se le añadió Na_2CO_3 (3,2 g, 30,64 mmoles) y la solución se purgó con argón durante 10 min. A continuación, se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (1,76 g, 1,53 mmoles) y el argón se purgó nuevamente durante 10 minutos. La masa de la reacción se calentó a 100°C durante 3 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se diluyó con agua

35

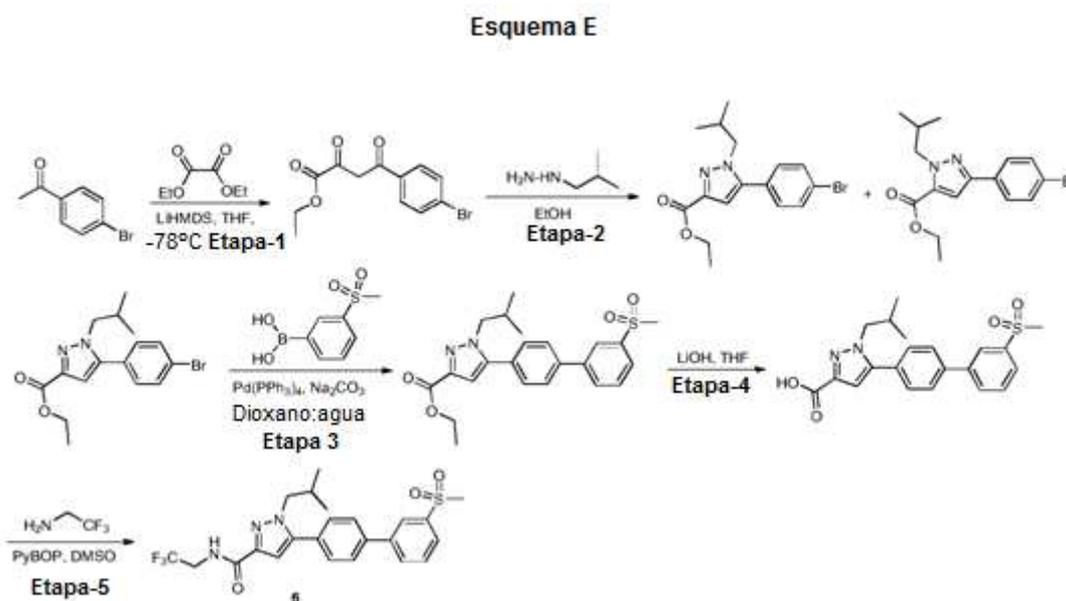
y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto. **4** deseado (5,2 g, 80,5%). LCMS: 423,10 ($M + 1$)⁺; HPLC: 98,55% (@ 210 nm-400 nm) (Rt; 10,354; Método: YMC TRIART C-18 (150 mm x 4,6 mm x 3 μ); ID: E-AC-2/13/COL/03, Fase Móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B: TFA al 0,05% en acetonitrilo Vol. Inyectado: 10 μL , Temp. Col.: Ambiente; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.; Gradiente: B al 15% a B al 95% en 8 min, mantener hasta 9,5 min, B al 15% en 13,0 min. Mantener hasta 15,0 min); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,22 (d, $J=2,2$ Hz, 1H), 8,01-7,90 (m, 2H), 7,78-7,66 (m, 3H), 7,51 (dd, $J=8,3, 2,4$ Hz, 2H), 6,57 (d, $J=2,3$ Hz, 1H), 4,01 (dd, $J=7,7, 2,4$ Hz, 2H), 3,13 (d, $J=2,3$ Hz, 3H), 2,23 (hept, $J=6,8$ Hz, 1H), 0,80 (dd, $J=7,0, 2,4$ Hz, 6H).

Ejemplo 2A. Síntesis alternativa de 4'-(1-isobutil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol-5-il)-3-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il metanol (5)



A una solución agitada de 5-(4-bromofenil)-1-isobutil-3-(trifluorometil)-1H-pirazol del Ejemplo 1A, etapa 4 (5 g, 14,45 mmoles) y 2-(metilsulfonil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metanol (6,81 g, 21,68 mmoles) en una mezcla de dioxano/agua (50 ml + 10 ml), se le añadió Na_2CO_3 (3,06 g, 28,90 mmoles) y la solución se purgó con argón durante 10 minutos. A continuación, se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (1,67 g, 1,445 mmoles) y el argón se purgó nuevamente durante 10 min. La masa de la reacción se calentó a 100°C durante 16 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto **5** deseado (3,1 g, 47,4%). LCMS: 453,10 ($M + 1$)⁺; HPLC: 95,04% (@ 210 nm-400 nm) (Rt; 9,773; Método: YMC TRIART C-18 (150 mm x 4,6 mm x 3 μ); ID: E-AC-2/13/COL/03, Fase Móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B: TFA al 0,05% en acetonitrilo Vol. Inyectado: 10 μL , Temp. Co.: Ambiente; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.; Gradiente: B al 15% a B al 95% en 8 min, Mantener hasta 9,5 min, B al 15% en 13,0 min. Mantener hasta 15,0 min); RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,32 (d, $J=1,9$ Hz, 1H), 7,92 (dd, $J=7,9, 2,0$ Hz, 1H), 7,78-7,65 (m, 3H), 7,54-7,44 (m, 2H), 6,57 (s, 1H), 5,02 (d, $J=6,7$ Hz, 2H), 4,01 (d, $J=7,5$ Hz, 2H), 3,24 (s, 3H), 3,02 (t, $J=6,8$ Hz, 1H), 2,23 (hept, $J=7,0$ Hz, 1H), 0,80 (d, $J=6,7$ Hz, 6H).

Ejemplo 3: Síntesis de 1-isobutil-5-(3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-N-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirazol-3-carboxamida (6)



Etapa 1: 4-(4-Bromofenil)-2,4-dioxobutanoato de etilo

A una solución agitada de 1-(4-bromofenil)etanona (5 g, 25,38 mmoles) en THF seco (50 ml) a -78°C , se le añadió

LiHMDS (1 M, 28 ml, 27,91 mmoles) y la solución se añadió agitando a la misma temperatura durante 1 h. A esta solución, se le añadió oxalato de dietilo (4,08 g, 27,91 mmoles) en THF(10 ml) a -78°C y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC y LCMS. Al finalizar, la mezcla de reacción se sofocó con una solución acuosa saturada de NH₄Cl y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida dando como resultado un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto del título (2,5 g, 33,3%).

Etapa 2: 5-(4-Bromofenil)-1-isobutil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo

A una solución agitada del producto de la etapa anterior (1 g, 3,35 mmoles) en EtOH (20 ml), se le añadió hidrocloreto de isobutilhidrazina (0,45 g, 3,69 mmoles) y la mezcla de reacción resultante se agitó a 80°C durante 3 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se concentró hasta sequedad a presión reducida. El residuo obtenido se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida para proporcionar un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar 5-(4-bromofenil)-1-isobutil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (0,7 g, 60%) que fue confirmado mediante un experimento de NOE.

Etapa 3: 1-Isobutil-5-(3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo

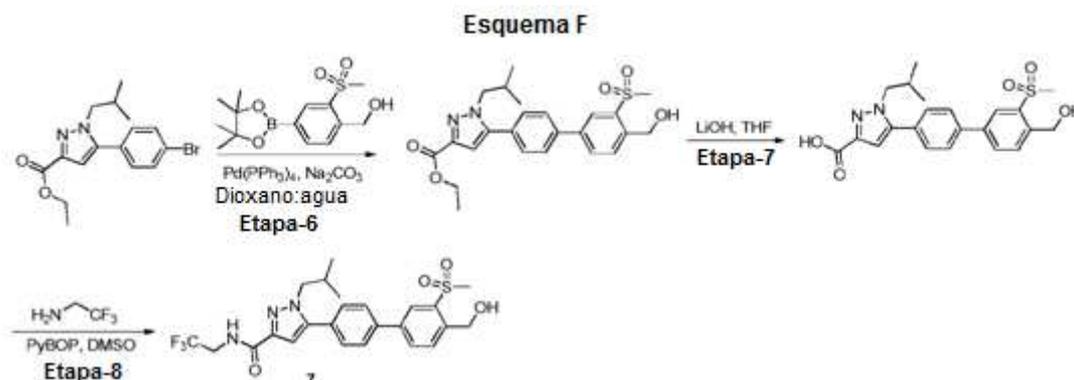
A una solución agitada de ácido 5-(4-bromofenil)-1-isobutil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo (0,7 g, 2,0 mmoles) y ácido (3-(metilsulfonil)fenil)borónico (0,42 g, 2,10 mmoles) en una mezcla de dioxano/agua (8 ml + 2 ml), se le añadió Na₂CO₃ (0,530 g, 5,0 mmoles) y la solución se purgó con argón durante 10 min. A continuación se añadió Pd(PPh₃)₄ (0,231 g, 0,2 mmoles) y el argón se purgó nuevamente durante 10 min. La masa de la reacción se calentó a 80°C durante 6 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto deseado (0,5 g, 59%). LCMS: 427,15 (M + 1)⁺; HPLC: 99,83% (@ 210 nm-400 nm) (Rt; 9,552; Método: YMC TRIART C-18 (150 mm x 4,6 mm x 3 μ); ID: E-AC-2/13/COL/03, Fase móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B: TFA al 0,05% en acetonitrilo Vol. Inyectado: 10 μL, Temp. Col.: Ambiente; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.; Gradiente: B al 15% a B al 95% en 8 min, Mantener hasta 9,5 min, B al 15% en 13,0 min. Mantener hasta 15,0 min); RMN H¹ (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,24 (d, J=2,2 Hz, 1H), 8,13 (d, J=7,7 Hz, 1H), 7,94 (t, J=7,6 Hz, 3H), 7,78 (t, J=7,8 Hz, 1H), 7,67 (d, J=7,9 Hz, 2H), 6,91 (d, J=1,9 Hz, 1H), 4,30 (q, J=7,0 Hz, 2H), 4,09 (d, J=7,4 Hz, 2H), 3,33 (s, 3H), 2,05 (tq, J=12,4, 7,0 Hz, 1H), 1,31 (t, J=7,1 Hz, 3H), 0,72 (d, J=6,6 Hz, 6H).

Etapa 4: Ácido 1-isobutil-5-(3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-pirazol-3-carboxílico

A una solución agitada del producto de la etapa anterior (0,5 g, 1,17 mmoles) en THF (5 ml), se le añadió LiOH (0,056 g, 2,34 mmoles en 2 ml de H₂O) y la masa de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se concentró hasta sequedad a presión reducida. El residuo obtenido se aciduló con HCl 1N hasta pH=2 y se extrajo con MeOH al 10%/DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante lavados con acetonitrilo y éter dietílico para proporcionar el compuesto deseado (0,35 g, 75%). LCMS: 399,25 (M + 1)⁺; HPLC: 98,86% (@ 210 nm-400 nm) (Rt; 7,756; Método: YMC TRIART C-18 (150 mm x 4,6 mm x 3 μ); ID: E-AC-2/13/COL/03, Fase Móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B: TFA al 0,05% en acetonitrilo Vol. Inyectado: 10 μL, Temp. Col.: Ambiente; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.; Gradiente: B al 15% a B al 95% en 8 min, Mantener hasta 9,5 min, B al 15% en 13,0 min. Mantener hasta 15,0 min); RMN H¹ (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12,73 (s, 1H), 8,24 (d, J=1,8 Hz, 1H), 8,12 (dt, J=8,0, 1,3 Hz, 1H), 7,94 (dd, J=10,1, 7,7 Hz, 3H), 7,78 (t, J=7,8 Hz, 1H), 7,70-7,63 (m, 2H), 6,86 (s, 1H), 4,08 (d, J=7,4 Hz, 2H), 3,32 (s, 3H), 2,07 (dp, J=13,8, 6,9 Hz, 1H), 0,73 (d, J=6,7 Hz, 6H).

Etapa 5: 1-Isobutil-5-(3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-N-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirazol-3-carboxamida (6)

A una solución agitada del producto de la etapa anterior (0,15 g, 0,376 mmoles) en DMSO (1 ml), se le añadieron 2,2,2-trifluoroetanamina (0,044 g, 0,452 mmoles) y trietilamina (0,15 ml, 1,13 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de añadirle PyBOP (0,293 g, 0,565 mmoles) a 0°C, y la agitación continuó a temperatura ambiente durante 16 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Una vez completada, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con MeOH al 10%/DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto 6 del título (0,06 g, 33,3%). LCMS: 480,30 (M + 1)⁺; HPLC: 98,19% (@ 210 nm-400 nm) (Rt; 9,246; Método: YMC TRIART C-18 (150 mm x 4,6 mm x 3 μ); ID: E-AC-2/13/COL/03, Fase Móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B: TFA al 0,05% en acetonitrilo Vol. Inyectado: 10 μL, Temp. Col.: Ambiente; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.; Gradiente: B al 15% a B al 95% en 8 min, mantener hasta 9,5 min, B al 15% en 13,0 min. Mantener hasta 15,0 min); RMN H¹ (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,73 (t, J=6,5 Hz, 1H), 8,24 (d, J=1,9 Hz, 1H), 8,13 (dt, J=8,1, 1,4 Hz, 1H), 7,95 (dd, J=8,6, 6,7 Hz, 3H), 7,79 (t, J=7,8 Hz, 1H), 7,71-7,64 (m, 2H), 6,87 (s, 1H), 4,11-3,97 (m, 4H), 3,32 (s, 3H), 2,14 (hept, J=6,8 Hz, 1H), 0,75 (d, J=6,7 Hz, 6H).

Ejemplo 4: Síntesis de 5-(4'-(Hidroximetil)-3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1-isobutil-N-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirazol-3-carboxamida (7)**Etapa 1: 5-(4'-(Hidroximetil)-3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1-isobutil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo**

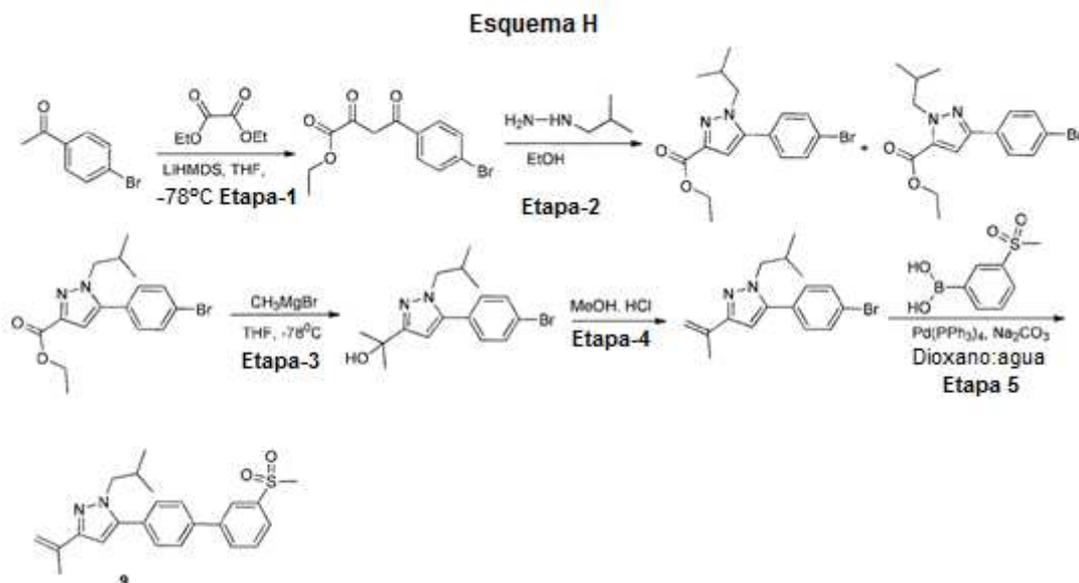
- 5 A una solución agitada de 5-(4-bromofenil)-1-isobutil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo del Ejemplo 3, etapa 2 (1 g, 2,85 mmoles) y (2-(metilsulfonil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metanol (1,3 g, 4,28 mmoles) en una mezcla de dioxano/agua (10 ml + 4 ml), se le añadió Na_2CO_3 (0,76 g, 7,14 mmoles) y la solución se purgó con argón durante 10 min. A continuación se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ (0,33 g, 0,285 mmoles) y el argón se purgó nuevamente durante 10 min. La masa de la reacción se calentó a 80°C durante 16 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC.
- 10 Al finalizar, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto deseado (1 g, 77%). LCMS: 457,35 ($M + 1$)⁺; HPLC: 98,29% (@ 210 nm-400 nm) (Rt; 8,802; Método: YMC TRIARTC-18 (150 mm x 4,6 mm x 3 μ); ID: E-AC-2/13/COL/03, Fase móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B: TFA al 0,05% en acetonitrilo Vol. Inyectado: 10 μ L, Temp. Col.: Ambiente; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.; Gradiente: B al 15% a B al 95% en 8 min, Mantener hasta 9,5 min, B al 15% en 13,0 min. Mantener hasta 15,0 min); RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,21-8,08 (m, 2H), 7,89 (dd, $J=8,1, 4,6$ Hz, 3H), 7,70-7,63 (m, 2H), 6,90 (s, 1H), 5,55 (t, $J=5,6$ Hz, 1H), 4,97 (d, $J=5,6$ Hz, 2H), 4,30 (q, $J=7,1$ Hz, 2H), 4,09 (d, $J=7,4$ Hz, 2H), 3,33 (s, 3H), 2,06 (dp, $J=13,7, 6,7$ Hz, 1H), 1,31 (t, $J=7,1$ Hz, 3H), 0,73 (d, $J=6,7$ Hz, 6H).

Etapa 2: Ácido 5-(4'-(hidroximetil)-3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1-isobutil-1H-pirazol-3-carboxílico

- 20 A una solución agitada del producto de la etapa anterior (0,3 g, 0,657 mmoles) en THF (3 ml), se le añadió LiOH (0,031 g, 1,32 mmoles en 1 ml de H_2O) y la masa de la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se concentró hasta sequedad a presión reducida. El residuo obtenido se aciduló con HCl 1N hasta pH=2 y se extrajo con MeOH al 10%/DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante lavados con acetonitrilo y éter dietílico para proporcionar el compuesto deseado (0,25 g, 89%). LCMS: 429,30 ($M + 1$)⁺; HPLC: 98,89% (@ 210 nm-400 nm) (Rt; 6,968; Método: YMC TRIART C-18 (150 mm x 4,6 mm x 3 μ); ID: E-AC-2/13/COL/03, Fase Móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B: TFA al 0,05% en acetonitrilo Vol. Inyectado: 10 μ L, Temp. Col.: Ambiente; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.; Gradiente: B al 15% a B al 95% en 8 min, Mantener hasta 9,5 min, B al 15% en 13,0 min. Mantener hasta 15,0 min); RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 12,74 (s, 1H), 8,21-8,08 (m, 2H), 7,91-7,87 (m, 3H), 7,74-7,62 (m, 2H), 6,85 (s, 1H), 5,55 (t, $J=5,6$ Hz, 1H), 4,97 (d, $J=5,5$ Hz, 2H), 4,07 (d, $J=7,4$ Hz, 2H), 3,33 (s, 3H), 2,07 (hept, $J=6,6$ Hz, 1H), 0,73 (d, $J=6,7$ Hz, 6H).

Etapa 3: 5-(4'-(Hidroximetil)-3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1-isobutil-N-(2,2,2-trifluoroetil)-1H-pirazol-3-carboxamida (7)

- 35 A una solución agitada del producto de la etapa anterior (0,1 g, 0,233 mmoles) en DMSO (1 ml), se le añadieron 2,2,2-trifluoroetanamina (0,030 g, 0,280 mmoles) y trietilamina (0,1 ml, 0,70 mmoles). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de añadirle PyBOP (0,182 g, 0,350 mmoles) a 0°C y la agitación continuó a temperatura ambiente durante 16 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Una vez completada, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con MeOH al 10%/DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto del título **7** (0,04 g, 34%). LCMS: 510,00 ($M + 1$)⁺; HPLC: 99,88% (@ 210 nm-400 nm) (Rt; 8,495; Método: YMC ODS-A (150 mm x 4,6 mm x 3 μ); ID: E-AC-2/13/COL/01, Fase móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B: TFA al 0,05% en acetonitrilo Vol. Inyectado: 10 μ L, Temp. Col.: Ambiente; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.; Gradiente: B al 5% a B al 95% en 8 min, Mantener hasta 9,5 min, B al 5% en 13,0 min. Mantener hasta 15,0 min); RMN ^1H (400 MHz, DMSO- d_6) δ 8,73 (t, $J=6,5$ Hz, 1H), 8,21-8,08 (m, 2H), 7,90 (dd, $J=8,1, 3,1$ Hz, 3H), 7,70-7,63 (m, 2H), 6,86 (s, 1H), 5,55 (t, $J=5,5$ Hz, 1H), 4,97 (d, $J=5,5$ Hz, 2H), 4,11-3,97 (m, 4H), 3,33 (s, 3H), 2,14 (dq, $J=13,8, 7,0$ Hz, 1H), 0,75 (d, $J=6,7$ Hz, 6H).

Ejemplo 6: Síntesis de 1-isobutil-5-(3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-3-(prop-1-en-2-il)-1H-pirazol (9)**Etapa 1: 4-(4-Bromofenil)-2,4-dioxobutanoato de etilo**

5 A una solución agitada de 1-(4-bromofenil)etanona (5 g, 25,38 mmoles) en THF seco (50 ml) a -78°C , se le añadió LiHMDS (1 M, 28 ml, 27,91 mmoles) y la solución se añadió agitando a la misma temperatura durante 1 h. A esta solución, se le añadió oxalato de dietilo (4 g, 27,91 mmoles) en THF (10 ml) a -78°C y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se sofocó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 y se concentraron a presión reducida dando como resultado un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto deseado (2,5 g, 33,3%).

Etapa 2: 5-(4-Bromofenil)-1-isobutil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo

15 A una solución agitada del producto de la etapa anterior (1 g, 3,35 mmoles) en EtOH (10 ml), se le añadió hidrocloreto de isobutilhidrazina (0,45 g, 3,69 mmoles) y la mezcla de reacción resultante se agitó a 80°C durante 3 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentraron a presión reducida dando como resultado un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto deseado (0,7 g, 60%) confirmado por NOE.

Etapa 3: 2-(5-(4-Bromofenil)-1-isobutil-1H-pirazol-3-il) propan-2-ol

20 A una solución agitada del producto de la etapa anterior (0,6 g, 1,71 mmoles) en THF seco (10 ml) a 0°C , se le añadió CH_3MgBr (1,4 M, 1,8 ml, 2,57 mmoles). La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se sofocó con una solución acuosa saturada de NH_4Cl y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentró a presión reducida dando como resultado un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto deseado (0,55 g, 92%).

Etapa 4: 5-(4-Bromofenil)-1-isobutil-3-(prop-1-en-2-il)-1H-pirazol

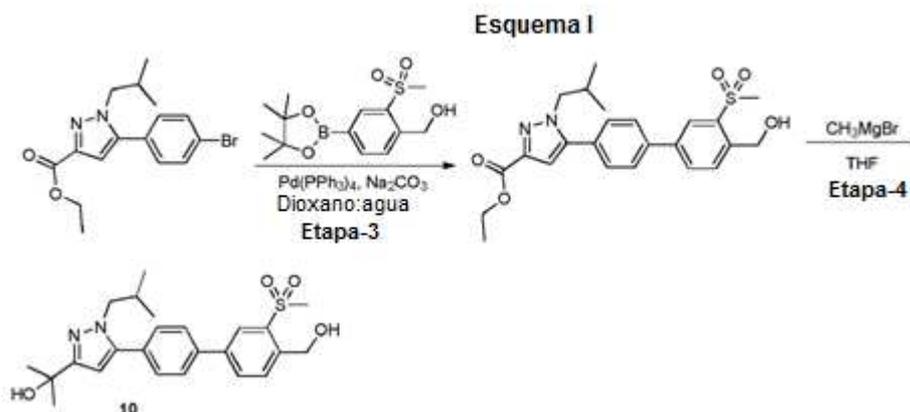
30 A una solución agitada del producto de la etapa anterior (0,55 g, 1,63 mmoles) y trietilamina (0,44 ml, 3,32 mmoles) en DCM a 0°C , se le añadió cloruro de metanosulfonilo (0,19 ml, 2,44 mmoles). La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se sofocó con una solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y se extrajo con DCM. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro y se concentraron a presión reducida dando como resultado un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto deseado (0,1 g, 19,2%).

Etapa 5: 1-Isobutil-5-(3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-3-(prop-1-en-2-il)-1H-pirazol (9)

35 A una solución agitada del producto de la etapa anterior (0,1 g, 0,313 mmoles) y ácido (3-(metilsulfonil)fenil)borónico (0,075 g, 0,376 mmoles) en una mezcla de dioxano/agua (2 ml + 1 ml), se le añadió Na_2CO_3 (0,066 g, 0,626 mmoles)

y la solución se purgó con argón durante 10 min. A continuación se añadió Pd(PPh₃)₄ (0,036 g, 0,0313 mmoles) y se purgó con argón nuevamente durante 10 minutos. La masa de la reacción se calentó a 100°C durante 3 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto del título (0,06 g, 50%). LCMS: 395,20 (M + 1)⁺; HPLC: 97,06% (@ 210 nm-400 nm) (Rt; 10,003; Método: YMC ODS-A (150 mm x 4,6 mm x 3 μ); ID: E-AC-2/13/COL/01, Fase móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B: TFA al 0,05% en acetonitrilo Vol. Inyectado: 10 μL, Temp. Col.: Ambiente; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.; Gradiente: B al 15% a B al 95% en 8 min, Mantener hasta 9,5 min, B al 15% en 13,0 min. Mantener hasta 15,0 min); RMN H¹ (400 MHz, CDCl₃) δ 8,21 (t, J=1,7 Hz, 1H), 7,99-7,88 (m, 2H), 7,73-7,64 (m, 3H), 7,56-7,47 (m, 2H), 6,43 (s, 1H), 5,54 (s, 1H), 5,10-5,04 (m, 1H), 3,95 (d, J=7,3 Hz, 2H), 3,12 (s, 3H), 2,18 (s, 3H), 1,27 (d, J=15,0 Hz, 1H), 0,78 (d, J=6,6 Hz, 6H).

Ejemplo 7. Síntesis de 2-(5-(4'-(hidroximetil)-3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1-isobutil-1H-pirazol-3-ilo)propan-2-ol (10)

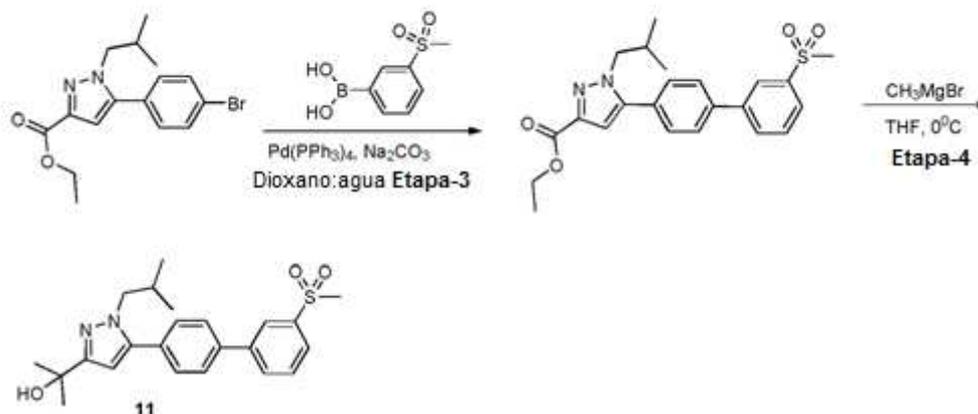


Etapa 1: 5-(4'-(Hidroximetil)-3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1-isobutil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo

A una solución agitada de 5-(4-bromofenil)-1-isobutil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo del Ejemplo 6, etapa 1 (1 g, 2,85 mmoles) y (2-(metilsulfonil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metanol (1,3 g, 4,28 mmoles) en una mezcla de dioxano/agua (10 ml + 4 ml), se le añadió Na₂CO₃ (0,76 g, 7,14 mmoles) y la solución se purgó con argón durante 10 min. A continuación se añadió Pd(PPh₃)₄ (0,33 g, 0,285 mmoles) y el argón se purgó nuevamente durante 10 min. La masa de la reacción se calentó a 100°C durante 16 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto deseado (1 g, 77%).

Etapa 2: 2-(5-(4'-(Hidroximetil)-3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1-isobutil-1H-pirazol-3-il)propan-2-ol

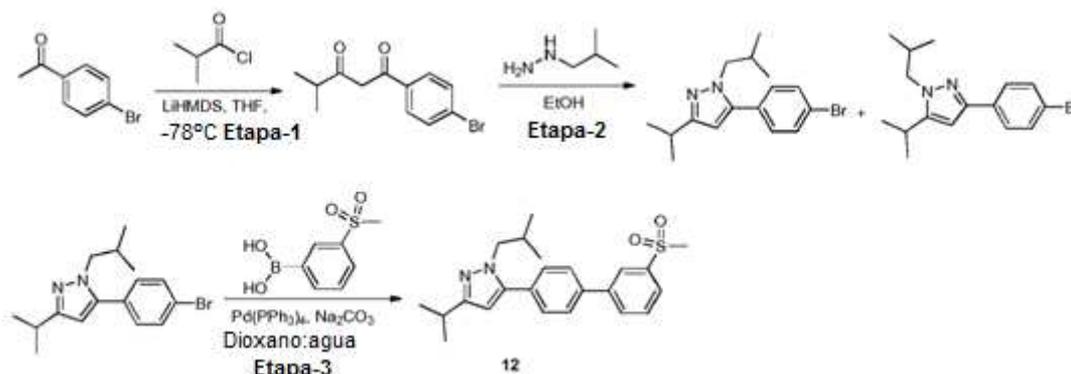
A una solución agitada del producto de la etapa anterior (0,3 g, 0,656 mmoles) en THF seco (3 ml) a 0°C, se le añadió CH₃MgBr (1,3 ml, 1,31 mmoles). La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se sofocó con solución acuosa saturada de NH₄Cl y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida dando como resultado un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto deseado (0,16 g, 55,2%). LCMS: 443,30 (M + 1)⁺; HPLC: 95,25% (@ 210 nm-400 nm) (Rt; 7,561; Método: YMC ODS-A (150 mm x 4,6 mm x 3 μ); ID: E-AC-2/13/COL/01, Fase móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B: TFA al 0,05% en acetonitrilo Vol. Inyectado: 10 μL, Temp. Col.: Ambiente; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.; Gradiente: B al 15% a B al 95% en 8 min, Mantener hasta 9,5 min, B al 15% en 13,0 min. Mantener hasta 15,0 min); RMN H¹ (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,20-8,07 (m, 2H), 7,93-7,82 (m, 3H), 7,63-7,55 (m, 2H), 6,35 (s, 1H), 5,55 (t, J=5,5 Hz, 1H), 4,97 (d, J=5,5 Hz, 2H), 4,87 (s, 1H), 3,94 (d, J=7,3 Hz, 2H), 3,33 (s, 3H), 2,02 (dt, J=14,6, 7,4 Hz, 1H), 1,46 (s, 6H), 0,72 (d, J=6,7 Hz, 6H).

Ejemplo 8: Síntesis 2-(1-isobutil-5-(3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-pirazol-3-il)propan-2-ol (11)**Esquema J****Etapa 1: 1-Isobutil-5-(3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo**

5 A una solución agitada de 5-(4-bromofenil)-1-isobutil-1H-pirazol-3-carboxilato de etilo del Ejemplo 6, etapa 1 (0,4 g, 1,14 mmoles) y ácido (3-(metilsulfonil)fenil)borónico (0,25 g, 1,26 mmoles) en una mezcla de dioxano/agua (8 mL + 2 mL), se le añadió Na₂CO₃ (0,3 g, 2,85 mmoles) y la solución se purgó con argón durante 10 min. A continuación, se añadió Pd(PPh₃)₄ (0,33 g, 0,285 mmoles) y el argón se purgó nuevamente durante 10 min. La masa de la reacción se calentó a 100°C durante 3 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto deseado (0,28 g, 58,3%).

Etapa 2: 2-(1-isobutil-5-(3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-pirazol-3-il) propan-2-ol (11)

15 A una solución agitada del producto de la etapa anterior (0,28 g, 0,657 mmoles) en THF seco (3 ml) a 0°C, se le añadió CH₃MgBr (0,8 ml, 0,985 mmoles). La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se sofocó con una solución acuosa saturada de NH₄Cl y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida dando como resultado un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto del título (0,08 g, 30%). LCMS: 413,20 (M + 1)⁺; HPLC: 97,94% (@ 210 nm-400 nm) (Rt; 8,363; Método: YMC TRIART C-18 (150 mm x 4,6 mm x 3 μ); ID: E-AC-2/13/COL/03, Fase Móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B: TFA al 0,05% en acetonitrilo Vol. Inyectado: 10 μL, Temp. Col.: Ambiente; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.; Gradiente: B al 15% a B al 95% en 8 min, mantener hasta 9,5 min, B al 15% en 13,0 min. Mantener hasta 15,0 min); RMN H¹ (400 MHz, CDCl₃) δ 8,21 (d, J=1,9 Hz, 1H), 8,00-7,89 (m, 2H), 7,74-7,64 (m, 2H), 7,54-7,47 (m, 2H), 6,22 (s, 1H), 3,93 (d, J=7,4 Hz, 2H), 3,12 (s, 3H), 2,73 (s, 1H), 2,19 (dt, J=13,9, 6,9 Hz, 1H), 1,62 (s, 6H), 0,78 (d, J=6,6 Hz, 6H).

Ejemplo 9: Síntesis de 1-isobutil-3-isopropil-5-(3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-pirazol (12)**Esquema K****Etapa 1: 1-(4-Bromofenil)-4-metilpentano-1,3-diona**

A una solución agitada de 1-(4-bromofenil)etanona (2 g, 10,05 mmoles) en THF seco (20 ml) a -78°C, se le añadió

LiHMDS (2 M, 30 ml, 15,07 mmoles) y la solución se agitó a la misma temperatura durante 1 h. A esta solución, se le añadió cloruro de isobutirilo (1,53 g, 15,07 mmoles) en THF (10 ml) a -78°C y la mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 12 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se sofocó con una solución acuosa saturada de NH₄Cl y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida dando como resultado un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto deseado (2 g, 68%).

Etapa 2: 5-(4-Bromofenil)-1-isobutil-3-isopropil-1H-pirazol

A una solución agitada del producto de la etapa anterior (0,9 g, 3,35 mmoles) en EtOH (10 ml), se le añadió isobutilhidrazina (0,325 g, 3,69 mmoles) y la mezcla de reacción resultante se agitó a 80°C durante 3 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro y se concentraron a presión reducida dando como resultado un compuesto bruto que se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto deseado (0,36 g, 34%) confirmado por NOE.

Etapa 3: 1-Isobutil-3-isopropil-5-(3'-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il)-1H-pirazol (12)

A una solución agitada del producto de la etapa anterior (0,36 g, 1,12 mmoles) y ácido (3-(metilsulfonil)fenil)borónico (0,27 g, 1,34 mmoles) en una mezcla de dioxano/agua (4 ml + 2 ml), se le añadió Na₂CO₃ (0,24 g, 2,24 mmoles) y la solución se purgó con argón durante 10 min. A continuación se añadió Pd(PPh₃)₄ (0,13 g, 0,112 mmoles) y el argón se purgó nuevamente durante 10 min. La masa de la reacción se calentó a 100°C durante 3 h. El progreso de la reacción se verificó mediante TLC. Al finalizar, la mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se concentraron a presión reducida. El compuesto bruto se purificó mediante cromatografía en columna para proporcionar el compuesto deseado (0,08 g, 18,2%). LCMS: 397,25 (M + 1)⁺; HPLC: 94,95% (@ 210 nm-400 nm) (Rt; 9,404; Método: YMC ODS-A (150 mm x 4,6 mm x 3 μ); ID: E-AC-2/13/COL/01, Fase móvil: A; TFA al 0,05% en agua/B: TFA al 0,05% en acetonitrilo Vol. Inyectado: 10 μL, Temp. Col.: Ambiente; Velocidad de flujo: 1,0 mL/min.; Gradiente: B al 15% a B al 95% en 8 min, Mantener hasta 9,5 min, B al 15% en 13,0 min. Mantener hasta 15,0 min); RMN H¹ (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8,26-8,20 (m, 1H), 8,15-8,06 (m, 1H), 7,91 (dd, J=19,2, 8,2 Hz, 3H), 7,78 (q, J=7,9, 6,3 Hz, 1H), 7,60 (d, J=8,1 Hz, 2H), 6,25 (s, 1H), 3,93 (d, J=7,2 Hz, 2H), 3,31 (s, 3H), 2,92 (h, J=6,9 Hz, 1H), 2,04 (dp, J=13,7, 6,6 Hz, 1H), 1,23 (d, J=6,8 Hz, 6H), 0,71 (d, J=6,6 Hz, 6H).

Los compuestos de pirazol adicionales, como se muestra en la tabla a continuación, se pueden preparar por métodos análogos a los utilizados para preparar el Compuesto 10 en el Ejemplo 7.

Núm. de Compuesto	Nombre	Estructura	Peso Mol.
13	(4'-(1-isobutil-3-(prop-1-en-2-il)-1H-pirazol-5-il)-3-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il) metanol		424,18
14	(4'-(1-isobutil-3-isopropil-1H-pirazol-5-il)-3-(metilsulfonil)-[1,1'-bifenil]-4-il) metanol		426,2

Ejemplo 10: Extracción de ARN

Añadir el reactivo de lisis QIAzol® (QIAGEN Número de Cat. 79306) a las células. Raspar las celdas y colocarlas en un tubo de polipropileno Falcon. Dejar reposar a temperatura ambiente durante 5 minutos. Añadir 1 ml de células a los tubos de microcentrífuga. Añadir 200 μl de cloroformo, agitar en vórtex, dejar reposar durante 5 minutos. Centrifugar a 4°C durante 15 minutos a 14.000 RPM. Añadir un volumen igual de ETOH al 70% (diluido con agua DEPC). Añadir 600 μl a la columna RNeasy® de la centrifuga RNeasy® Mini Kit (QIAGEN Número de Cat. 74106) a 14.000 RPM a temperatura ambiente durante 1 minuto, desechar el flujo continuo. Añadir el resto de la muestra a la columna, centrifugar, desechar el flujo continuo. Añadir 350 μl de tampón RW1 del Mini Kit RNeasy® a la columna, centrifugar a temperatura ambiente durante 1 minuto, desechar el flujo continuo. Columna de ADNasa con un conjunto de ADNasa libre de RNasa (QIAGEN cat. Número 79254) elaborando una solución de partida de ADNasa I, añadir 550 μl de agua a la ADNasa, añadir 10 μl de DNasa a 70 μl de BufferRDD para cada muestra, mezclar, añadir 80 μl a la columna, dejar reposar durante 15 minutos. Añadir 350 μl de tampón RW1 a la columna, centrifugar durante 1 minuto, desechar el flujo continuo. Añadir 500 μl de tampón RPE a la columna, centrifugar durante 1 minuto, desechar el flujo continuo. Añadir 500 μl de tampón RPE a la columna, centrifugar durante 1 minuto, desechar el flujo continuo. Colocar la columna

en un tubo de microcentrífuga limpio de 2,0 ml, centrifugar durante 2 minutos. Colocar la columna en un tubo de microcentrífuga, añadir 50 µl de agua, dejar que la columna repose durante 2 minutos, centrifugar durante 1 minuto.

PCR cuantitativa

5 La tecnología TaqMan se utiliza para la PCR cuantitativa para la evaluación de la expresión del gen de MMP, TNF α , TIMP, IL-8, ASAH1, SPTLC1, SMPD1, LASS2, TXNRD1, GPX3, GSR, CAT, ApoE, ABCA1, ABCA2, ABCA12, ABCA13, ABCG1, α Syn, decorina y LXR α/β .

10 Condiciones de uso de los reactivos de transcriptasa inversa TaqMan (Applied Biosystems Número de Cat. N808-0234): 10 \times tampón RT: 10 µl, solución MgCl₂: 22 µl, mezcla de DNTP: 20 µl, hexámeros aleatorios: 5 µl, RT Multi Scribe: 2,5 µl, inhibidor de la ARNasa: 2,5 µl, 2 µg de ARN. Termociclador: 25°C-10 minutos, 48°C-30 minutos, 95°C-5 minutos.

Configurar TaqMan con el kit QuantiTect Multiplex PCR (QIAGEN Número de cat. 204543): 2 \times mezcla maestra: 25 µl; Ensayo de Tubo Único: 2,5 µl; conjunto Applied Biosystems Primers Probe (número de componente 4308329)-cebador directo 18S: 0,25 µl, cebador inverso 18S: 0,25 µl, sonda 18S: 0,25 µl; agua hasta 50 µl; 5 µl de ADNc. Termociclador: 50°C -2 minutos, 95°C-10 minutos, 95°C-15 segundos, 60°C-1 minuto.

15 Ejemplo 11: Inducción de la expresión de receptores LXR

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

20 Para los experimentos, se colocan 1,6 millones de células NHEK en medio de crecimiento en placas de 100 mm y se dejan crecer hasta ~75% confluencia. El día del tratamiento, las placas se enjuagan una vez con KGM-2 menos hidrocortisona; a continuación, se añade vehículo (DMSO al 0,1%) o 1 µM o un agonista de LXR descrito en la presente memoria, durante 6 h en KGM-2 deficiente en hidrocortisona. Después de 6 h, el medio de tratamiento se retira temporalmente, las placas se lavan con solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco y a continuación la mitad de los tratamientos se exponen a 8 J/m² de luz ultravioleta utilizando un Stratagene UV Stratalink® 2400. Los tratamientos se reemplazan y 18 h después se recogen las muestras para el procesamiento de ARN utilizando el reactivo TRIzol®D (Invitrogen).

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

35 Ensayo de cotransfección con Gal4-LXR β

40 Para la transfección transitoria de células HEK 293, se siembran 6 \times 10³ células en placas de 96 pocillos. Cada pocillo se transfecta con 25 ng de 5x informador de luciferasa UAS(pG5luc) y 25 ng de plásmido LBD de LXR β humano pM (AA 153-461) utilizando reactivo Fugene 6 (Roche; Indianapolis, IN). La proteína quimérica se evalúa para determinar la capacidad de transactivar un plásmido informador de luciferasa sensible a Gal4 de una manera sensible a la concentración a los compuestos (0,01-10 µM). La actividad luciferasa a cada concentración de dosis se mide por triplicado utilizando reactivos de sustrato convencionales (BD Biosciences; San Diego, CA). Los datos se expresan como unidades de luz relativas y se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. CE₅₀ valores para moduladores LXR en el ensayo de fusión LXR β Gal

Compuesto	LXR β Gal (CE ₅₀) µM
4	A
5	A
6	A
7	A
8	B
9	B
10	B

Compuesto	LXR β Gal (CE ₅₀) μ M
11	B
12	B
18	A
19	C
20	C
21	A
A: CE ₅₀ <1 μ M; B: CE ₅₀ 1-10 μ M; C: CE ₅₀ > 10 μ M	

Ejemplo 12: Expresión de ABCA1 y ABCG1

5 A los ratones (C57bl/6) se les administró una inyección peritoneal de 10 mg/kg de LPS con inyección SQ de vehículo o agonista de LXR en ratones. Se llevaron a cabo la microdissección de microglia de la sustancia negra y análisis de la expresión génica por QT-PCR (N=4 para cada tratamiento). El cerebro y los linfocitos de sangre periférica (PBL) se analizaron para ABCA1 y ABCG1 según el protocolo publicado (Gustafsson, J.A.; *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*(2012) 109:13112-13117). De esta manera, el Compuesto 4 se administró a 20 mg/kg. Los resultados se muestran en las Figuras 1 y 2.

Ejemplo 13: Expresión de IL1 β

10 Siguiendo el protocolo descrito en el Ejemplo 12, se midió la expresión de IL1 β del Compuesto 4 en el cerebro y PBL. Los resultados se muestran en la Figura 3.

Ejemplo 14: expresión de α Sinucleína (α Syn)

Siguiendo el protocolo descrito en el Ejemplo 12, se midió la expresión de α Syn del Compuesto 4 en el cerebro. Los resultados se muestran en la Figura 4.

15 Ejemplo 15: Regulación de la expresión génica de ApoE

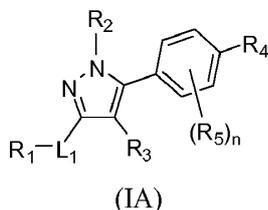
20 Las células de microglia BV2 se trataron con Compuesto 4 a varias concentraciones durante 48 h, respectivamente con DMSO al 0,1% como control del vehículo. Se prepararon productos lisados de células completas y se detectaron proteínas apoE utilizando anticuerpo contra apoE. Estos experimentos se repitieron al menos dos veces de forma independiente y se mostraron las inmunotransferencias representativas. Las bandas de las transferencias de dosis-respuesta se cuantificaron por densitometría, se normalizaron a β -actina y se expresaron como multiplicidad del tratamiento con vehículo. Los datos se representan como media \pm ETM.

Los ejemplos y realizaciones descritos en la presente memoria tienen únicamente fines ilustrativos y, en algunas realizaciones, se deben incluir diversas modificaciones o cambios dentro del alcance de la descripción y el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

25

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (IA):



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde:

5 L₁ es un enlace o alquilo C1-C6;

R₁ es -OR₉, -alquilo C1-C6, alqueno C2-C6, haloalquilo C1-C6, o -C(=O)N(R₉)₂;

R₂ es alquilo C1-C6;

R₃ es hidrógeno;

R₄ es fenilo sustituido con al menos un R₁₁;

10 cada R₁₁ es independientemente -NR₁₀SO₂R₁₀, -SOR₁₀, -SO₂R₁₀, -SO₂N(R₁₀)₂ o alquilo C1-C6, en donde dicho alquilo C1-C6 está opcionalmente sustituido con 1 hidroxilo;

siempre que al menos un R₁₁ sea -NR₁₀SO₂R₁₀, -SOR₁₀, -SO₂R₁₀, SO₂N(R₁₀)₂,

cada R₁₀ es independientemente C1-C6 alquilo; y

cada R₉ es independientemente hidrógeno o haloalquilo C1-C6; y

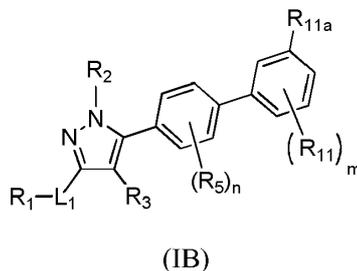
15 n es 0.

2. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde -L₁-R₁ es -C(=CH₂)CH₃, isopropilo, -C(=O)NHCH₂CF₃, -CF₃ o -C(CH₃)₂OH.

3. El compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde R₂ es isobutilo o sec-butilo.

20 4. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es:

(a) un compuesto de Fórmula (IB):



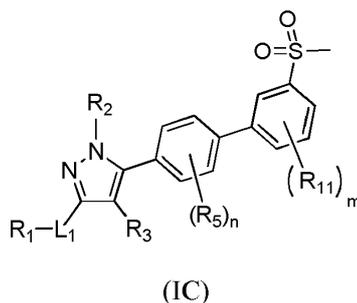
en donde:

R_{11a} es -NR₁₀SO₂R₁₀, -SOR₁₀, -SO₂R₁₀, SO₂N(R₁₀)₂; y

25 m es 0 o 1;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; o

(b) un compuesto de Fórmula (IC):



en donde m es 0 o 1;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 5. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde: (a)

L₁ es un enlace o alquilo C1-C6;

R₁ es -OR₉, -alquilo C1-C6, alqueno C2-C6, haloalquilo C1-C6, o -C(=O)N(R₉)₂;

R₂ es alquilo C1-C6;

R₃ es hidrógeno;

10 R₄ es fenilo sustituido con un R₁₁, en donde R₁₁ es -SO₂R₁₀ y R₁₀ es alquilo C1-C6; o

R₄ es fenilo sustituido con dos R₁₁, en donde un R₁₁ es -SO₂R₁₀ y un R₁₁ es alquilo C1-C6 opcionalmente sustituido;

cada R₉ es independientemente hidrógeno o haloalquilo C1-C6; y

n es 0; o

15 (b)

-L₁-R₁ es -C(=CH₂)CH₃, isopropilo, -C(=O)NHCH₂CF₃, -CF₃, o -C(CH₃)₂OH;

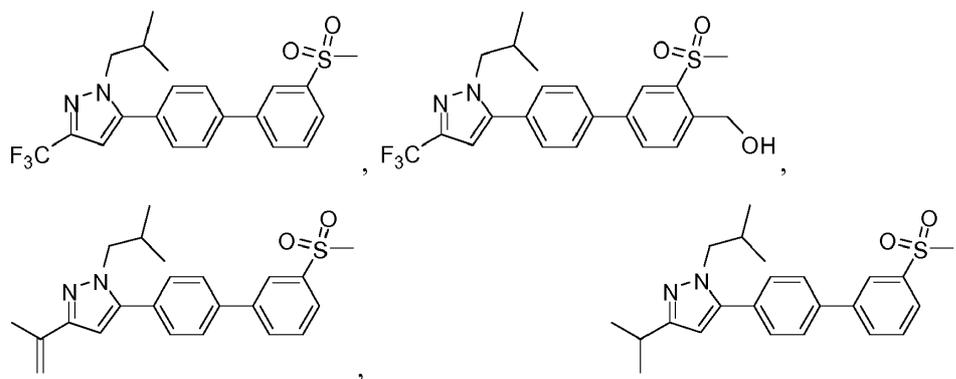
R₂ es isobutilo o sec-butilo;

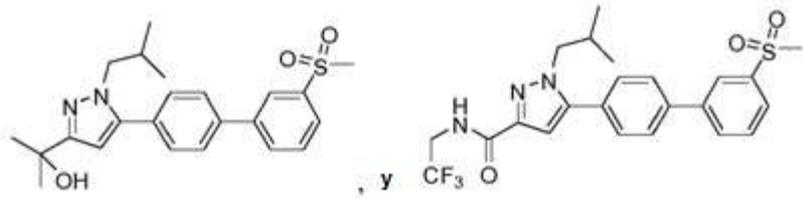
R₃ es hidrógeno;

20 R₄ es fenilo sustituido con dos R₁₁, en donde un R₁₁ es -SO₂CH₃ y un R₁₁ es -CH₂OH; o R₄ es fenilo sustituido con un R₁₁, en donde R₁₁ es -SO₂R₁₀ y R₁₀ es CH₃; y

n es 0.

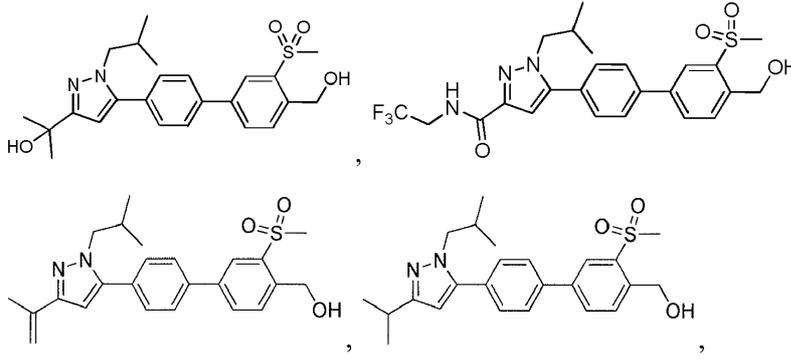
6. El compuesto de la reivindicación 1, seleccionado entre:



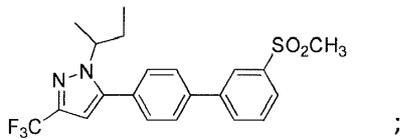


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. El compuesto de la reivindicación 1, seleccionado entre:

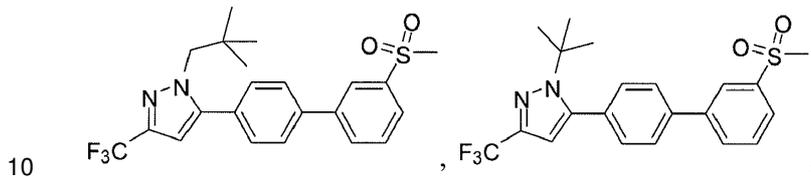


y



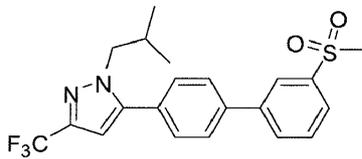
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. El compuesto de la reivindicación 1, seleccionado entre:



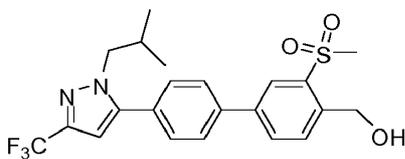
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

9. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es:



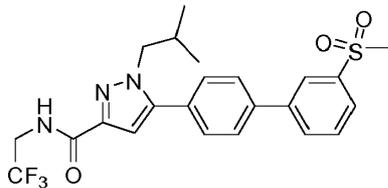
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 10. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es:



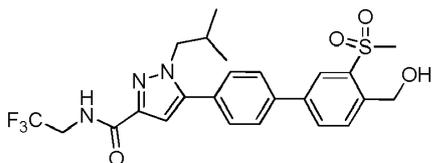
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

11. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

12. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto es:



5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

13. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador farmacéuticamente aceptable.

10 14. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-12, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una enfermedad, trastorno o afección en un mamífero que se beneficiaría de la modulación de LXR en donde la enfermedad, trastorno o afección en un mamífero es:

15 (a) aumento de los niveles de lípidos, aumento de los niveles de colesterol, colesterol HDL bajo, colesterol LDL alto, enfermedades ateroscleróticas, diabetes, diabetes mellitus no insulino dependiente, síndrome metabólico, dislipidemia, sepsis, enfermedades inflamatorias, enfermedades infecciosas, enfermedades de la piel, colitis, pancreatitis, colestasis del hígado, fibrosis del hígado, psoriasis, función cognitiva deteriorada/mejorable, VIH, degeneración macular aguda y formas de degeneración macular relacionadas con la edad (formas húmeda y seca); o

(b) cáncer incluyendo cáncer metastásico; o

(c) melanoma maligno incluyendo melanoma metastásico; o

(d) enfermedad de Alzheimer; o

20 (e) enfermedad de Parkinson.

FIG. 1

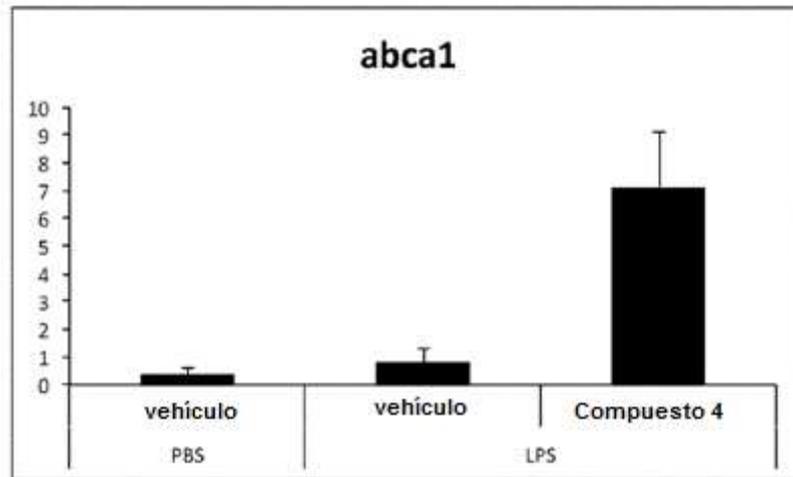


FIG. 2

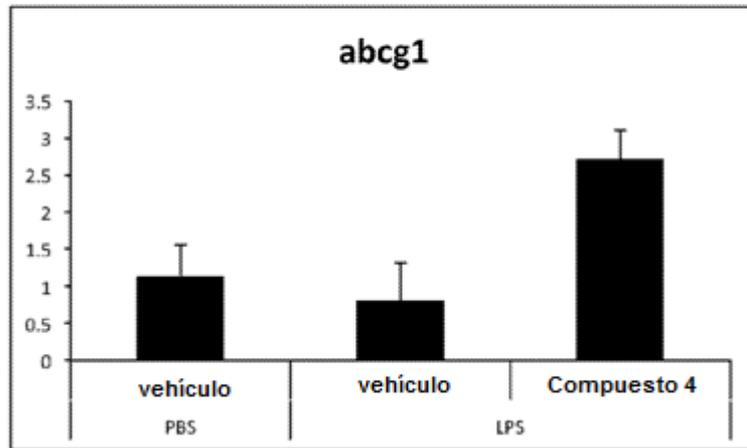


FIG. 3

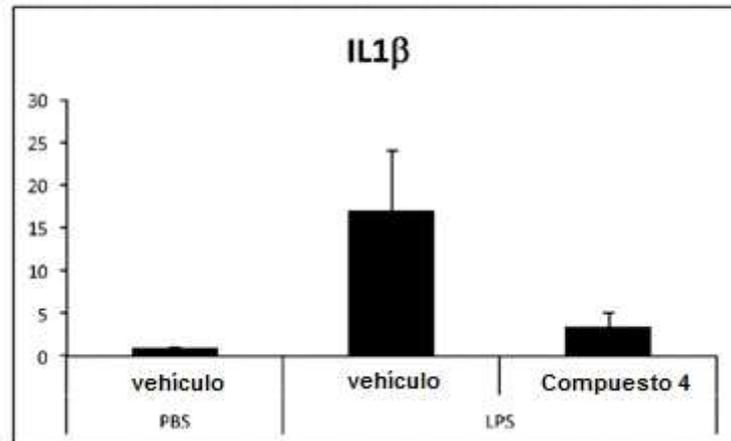


FIG. 4

