

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 899 852**

(51) Int. Cl.:

C07D 213/85 (2006.01) **A61P 35/00** (2006.01)
C07C 311/20 (2006.01) **A61P 37/02** (2006.01)
A61K 31/18 (2006.01)
A61K 31/4418 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 1/04 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 17/00 (2006.01)
A61P 19/00 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.12.2015 PCT/EP2015/080022**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **23.06.2016 WO16097001**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.12.2015 E 15810646 (8)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.10.2021 EP 3262028**

(54) Título: **Compuestos de N-(4-hidroxi-4-metil-ciclohexil)-4-fenil-bencenosulfonamida y N-(4-hidroxi-4-metil-ciclohexil)-4-(2-piridil)-bencenosulfonamida y su uso terapéutico**

(30) Prioridad:

17.12.2014 GB 201422469

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

15.03.2022

(73) Titular/es:

PIMCO 2664 LIMITED (100.0%)
2nd Floor 3 Pancras Square Kings Cross
London N1C 4AG, GB

(72) Inventor/es:

SMITH, STEPHEN ALLAN;
PATEL, LISA y
GREIG, IAIN ROBERT

(74) Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

ES 2 899 852 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

Compuestos de N-(4-hidroxi-4-metil-ciclohexil)-4-fenil-bencenosulfonamida y N-(4-hidroxi-4-metil-ciclohexil)-4-(2-piridil)-bencenosulfonamida y su uso terapéutico

5

Campo técnico

La presente invención se refiere en general al campo de los compuestos terapéuticos. Más específicamente, la presente invención se refiere a una *N*-(4-hidroxi-4-metil-ciclohexil)-4-fenil-bencenosulfonamida sustituida determinada que es útil, por ejemplo, en el tratamiento de trastornos (por ejemplo, enfermedades) que incluyen inflamación y/o destrucción de articulaciones y/o disminución de la masa ósea; trastornos mediados por activación excesiva y/o inapropiada y/o prolongada del sistema inmunitario; trastornos inflamatorios y autoinmunitarios, por ejemplo, artritis reumatoide; psoriasis; artritis psoriásica; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); asma; ateroesclerosis; enfermedad inflamatoria intestinal; espondilitis anquilosante; esclerosis múltiple; lupus eritematoso sistémico; síndrome de Sjögren; un trastorno asociado a la disminución de la masa ósea, tal como la disminución de la masa ósea asociada a una actividad excesiva de los osteoclastos en la artritis reumatoide, osteoporosis, osteopatía asociada al cáncer o enfermedad de Paget; cáncer, tal como una neoplasia maligna hematológica, tal como mieloma múltiple, leucemia o linfoma, o un cáncer de tumor sólido, tal como cáncer de vejiga, cáncer de mama (femenino y/o masculino), cáncer de colon, carcinoma de células renales, cáncer de riñón, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de próstata, cáncer de cerebro, cáncer de piel, cáncer de tiroides, ameloblastoma de células basales o melanoma; un trastorno asociado a la fibrosis, tal como esclerosis sistémica o esclerodermia; o una vasculitis rara, tal como la enfermedad de Behçet.

La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de este tipo y dicho compuesto y composiciones para su uso en terapia.

Antecedentes

Se citan en el presente documento varias publicaciones con el fin de describir y desvelar más completamente la invención y el estado de la técnica a la que pertenece la invención.

A lo largo de la presente memoria descriptiva, incluyendo las reivindicaciones a continuación, a menos que el contexto requiera otra cosa, se entenderá que la palabra "comprender", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", implica la inclusión de un elemento integrante o etapa, o grupo de elementos integrantes o etapas, pero no la exclusión de ningún otro elemento integrante o etapa, o grupo de elementos integrantes o etapas.

Cabe señalar que, como se usa en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "uno/a" y "el/la" incluyen los referentes en plural salvo que el contexto indique claramente lo contrario. Por tanto, por ejemplo, la referencia a "un vehículo farmacéutico" incluye mezclas de dos o más de dichos vehículos y similares.

En el presente documento los intervalos se expresan con frecuencia como desde "aproximadamente" un valor particular y/o hasta "aproximadamente" otro valor particular. Cuando se expresa un intervalo de este tipo, otra realización incluye desde un valor particular y/o hasta el otro valor particular. De forma similar, cuando los valores se expresan como aproximaciones, mediante el uso del antecedente "aproximadamente", se entenderá que el valor particular constituye otra realización.

La presente divulgación incluye información que puede ser útil para comprender la presente invención.

Enfermedad inflamatoria crónica

La inflamación es la respuesta inmunitaria de los tejidos debido a una lesión corporal. La inflamación aguda es una respuesta protectora normal que protege y cura el cuerpo después de una lesión física o infección, caracterizada por calor, hinchazón y enrojecimiento en el sitio de la lesión. Sin embargo, si la inflamación persiste durante un periodo prolongado, se vuelve crónica. La inflamación crónica es un rasgo característico de, y un factor que contribuye a, una gama de enfermedades que incluyen artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, lupus eritematoso sistémico, esclerosis múltiple y psoriasis.

El proceso inflamatorio es complejo e implica una cascada biológica de señales moleculares y celulares que alteran las respuestas fisiológicas. En el lugar de la lesión, las células liberan señales moleculares tales como citocinas e interleucinas que causan una serie de cambios en el área afectada, incluyendo la dilatación de los vasos sanguíneos, aumento del flujo sanguíneo, aumento de la permeabilidad vascular, invasión por leucocitos (glóbulos blancos) y exudación de líquidos que contienen proteínas como inmunoglobulinas (anticuerpos). Varios tipos diferentes de leucocitos, incluyendo granulocitos, monocitos y linfocitos, están implicados en la cascada inflamatoria. Sin embargo, la inflamación crónica está mediada principalmente por monocitos y macrófagos de larga vida; los monocitos maduran y se convierten en macrófagos una vez que abandonan el torrente sanguíneo y entran en los tejidos. Los macrófagos engullen y digieren microorganismos, invasores extraños y células senescentes y los macrófagos liberan varios

mediadores químicos diferentes, incluyendo el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), interleucinas (por ejemplo, IL-1, IL-6, IL-12 e IL-23) y prostaglandinas que perpetúan la respuesta inflamatoria. En estadios tardíos, otras células, incluyendo linfocitos, invaden los tejidos afectados.

- 5 Por tanto, existe una patología común que subyace a una amplia variedad de afecciones inflamatorias crónicas. Además, las características de la inflamación crónica también se observan en otras enfermedades, incluyendo el cáncer y enfermedades metabólicas tales como la obesidad y la diabetes.
- 10 Una de las afecciones inflamatorias crónicas más comunes es la artritis reumatoide (AR), una afección que afecta hasta al 2 % de la población mundial. Aunque es una enfermedad compleja, existen varios factores fisiológicos, celulares y bioquímicos asociados a la progresión de la AR que son comunes a una gama de enfermedades adicionales, incluyendo las que tienen un componente de autoinmunidad (por ejemplo, esclerosis múltiple), inflamación (por ejemplo, aterosclerosis y cáncer), disminución de la masa ósea (por ejemplo, osteoporosis) y proliferación (por ejemplo, neoplasias hematológicas). Esto hace que la comprensión de la AR sea importante no solo para el estudio de una gama mucho más amplia de enfermedades, sino que también sugiere que los agentes farmacéuticos que actúan mediante la modificación de estos procesos comunes pueden tener utilidad más allá de la AR. Esto último se confirma en la práctica clínica donde se ha mostrado que los fármacos para la AR tienen una amplia utilidad en una gama de afecciones adicionales.

20 Artritis reumatoide y enfermedades autoinmunitarias/inflamatorias relacionadas

La artritis reumatoide (AR) es un trastorno autoinmunitario caracterizado por la inflamación crónica del revestimiento sinovial de múltiples articulaciones junto con la degradación articular progresiva. La AR afecta habitualmente las articulaciones de la muñeca y las manos y también puede afectar a los codos, hombros, caderas, cuello y rodillas que provocan dolor grave y discapacidad (véase, por ejemplo, Scott *et al.*, 2010). La Organización Mundial de la Salud predice que 23,7 millones de personas padecen AR, con una incidencia en aumento debido a la asociación entre la afección y el aumento de la edad.

30 La causa exacta de la AR, como para todos los trastornos autoinmunitarios, no está clara, aunque los posibles desencadenantes incluyen una reducción de la autotolerancia, una respuesta anómala a factores ambientales, agentes infecciosos y estímulos hormonales (véase, por ejemplo, Klareskog *et al.*, 2006; Firestein *et al.*, 2005).

35 A nivel celular, el desarrollo de AR comienza habitualmente con linfocitos T que se infiltran en la membrana sinovial que recubre la articulación afectada; esto conduce después a la activación de monocitos, macrófagos y fibroblastos sinoviales por medio del contacto célula-célula y la posterior liberación de diversas citocinas, incluyendo factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) e interleucinas proinflamatorias tales como IL-1, IL-6, IL-12 e IL-23 (véase, por ejemplo, Astry *et al.*, 2011). Estas citocinas proinflamatorias son fundamentales entonces para orquestar varias cascadas complejas de transducción de señales, incluyendo el NF κ B, factor regulador de interferón (IRF), receptor de tipo Toll (TLR) y rutas Jak/STAT (véase, por ejemplo, Malemud *et al.*, 2011) que conducen a la inducción de genes que codifican diversos productos que propagan la respuesta inflamatoria y también promueven la destrucción tisular. Estos productos incluyen enzimas de degradación tisular tales como colagenasas, metaloproteinasas de la matriz (MMP), catepsinas y otros factores proinflamatorios tales como selectinas, integrinas, leucotrienos, prostaglandinas, quimiocinas y otras citocinas (véase, por ejemplo, McInnes *et al.*, 2007; Smolen *et al.*, 2003). Además, estas células también aumentan la producción de MMP, los que conduce a la degradación de la matriz extracelular y la pérdida de cartílago dentro de la articulación (véase, por ejemplo, Sun, 2010), un proceso que también implica una clase especializada de células conocidas como osteoclastos y un factor conocido como activador receptor del ligando del factor nuclear kappa-B (RANKL) (véase, por ejemplo, Takayanagi, 2009).

50 RANKL es un factor esencial para la generación de osteoclastos, y la producción de RANKL regulada positivamente conduce a una mayor diferenciación de los osteoclastos y, en última instancia, a la destrucción ósea (véase, por ejemplo, Long *et al.*, 2012). La respuesta inflamatoria en la AR conduce a la acumulación de linfocitos, células dendríticas y macrófagos, que actúan todos localmente para producir citocinas y otros mediadores proinflamatorios tales como TNF α e IL-6 que potencian adicionalmente los efectos de RANKL sobre la destrucción ósea. Además, la cascada inflamatoria conduce a la hiperplasia de sinoviocitos (véase, por ejemplo, Takayanagi, 2009), que a su vez conduce al engrosamiento y vascularización de la membrana sinovial en un tejido destructivo y agresivo conocido como paño sinovial. El pánico contiene tanto osteoclastos, que destruyen el hueso, como metaloproteinasas, que están implicadas en la destrucción del cartílago. De este modo, el eje RANKL es fundamental para la progresión y patología de la AR, así como para el sistema osteoinmunitario (la interacción entre los sistemas inmunitario y óseo), que es central para la patología de varias enfermedades diferentes, que se describen a continuación.

60 La función del TNF α en la AR

65 La superfamilia de receptores y ligandos del TNF desempeña una función clave en la causa de la inflamación y la disminución de la masa ósea local y sistémica asociada. El TNF α es un potente agente proinflamatorio que regula muchas facetas de la función de los macrófagos. Se libera rápidamente después de un traumatismo, infección o exposición a LPS de origen bacteriano y se ha mostrado que es uno de los mediadores tempranos más abundantes

en el tejido inflamado. Entre sus diversas funciones se encuentra su función central en la orquestación de la producción de una cascada de citocinas proinflamatorias. Además de las citocinas proinflamatorias, el TNFa también aumenta los mediadores de la transducción de señales lipídicas, tales como prostaglandinas. Basándose en estas funciones, se ha propuesto al TNFa como un elemento central en la activación y el reclutamiento de células inflamatorias y se sugiere que desempeña una función fundamental en el desarrollo de muchas enfermedades inflamatorias crónicas, incluyendo la artritis reumatoide (véase, por ejemplo, Liu, 2005; Feldmann *et al.*, 2001; Brennan *et al.*, 1996; Brennan *et al.*, 1992). La importancia del TNFa en la AR se destaca por el hallazgo de que los anticuerpos que bloquean el TNFa pueden prevenir la inflamación en modelos animales de AR y que la terapia anti-TNFa es actualmente el tratamiento más eficaz para la AR (véase, por ejemplo, Pisetsky, 2012, y se proporcionan más detalles a continuación).

El propio TNFa instiga una cascada de señalización que conduce a la activación de los factores de transcripción NFkB y AP-1 (véase, por ejemplo, Parameswaran *et al.*, 2010). La unión de TNFa e IL-1 a sus respectivos receptores conduce al reclutamiento de transductores de señales corriente abajo denominados TRAF. Los TRAF reclutan más cinasas y el complejo de cinasa resultante activa la ruta de MAP-cinasa, lo que conduce en última instancia a la activación de AP-1 y la fosforilación de I kB cinasa. I kB es el inhibidor de NFkB, que actúa impidiendo la translocación de NFkB al núcleo. La fosforilación de I kB por la I kB cinasa conduce a la degradación de I kB. Una vez que I kB se ha degradado, NFkB migra al núcleo, donde promueve la transcripción de genes antiapoptóticos, que promueven la supervivencia de los linfocitos T y B, prolongando de este modo la respuesta inmunitaria. Esta prolongación de la respuesta inflamatoria es fundamental para la naturaleza crónica de la AR. La importancia de la activación de NFkB se demuestra por el hecho de que la inhibición de la actividad de NFkB por péptidos inhibidores puede prevenir la artritis en modelos animales de AR (véase, por ejemplo, Jimi *et al.*, 2004).

Otros factores clave en la artritis reumatoide

Como se ha descrito anteriormente, varios factores además del TNFa y NFkB actúan para promover la inflamación en la AR y otras enfermedades inflamatorias crónicas. Entre estos se encuentran la IL-6 y los factores reguladores de interferón (IRF).

La interleucina-6 (IL-6) es una citocina proinflamatoria cuyos niveles aumentan con la activación de diversas células del sistema inmunitario durante la inflamación en la AR, predominantemente macrófagos y linfocitos T. Tiene efectos pleiotrópicos en la enfermedad a través de su función clave en la respuesta de fase aguda y está muy implicado en el control de la transición de la inflamación aguda a la crónica. Lo hace modificando la composición del infiltrado de glóbulos blancos en el espacio inflamatorio, moviéndolo de neutrófilos a monocitos/macrófagos (véase, por ejemplo, Gabay, 2006). Además, la IL-6 ejerce efectos estimulantes sobre los linfocitos T y B, favoreciendo de este modo las respuestas inflamatorias crónicas, así como en osteoclastos, promoviendo de este modo el recambio de hueso. Estos efectos están implicados en la patología de una amplia gama de enfermedades autoinmunitarias/inflamatorias más allá de la AR, incluyendo lupus eritematoso sistémico, aterosclerosis, psoriasis, artritis psoriásica, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), síndrome de Sjögren, aterosclerosis y enfermedad inflamatoria intestinal, así como en cánceres tales como el mieloma múltiple y el cáncer de próstata. Además, la IL-6 se ha relacionado con enfermedades que implican disminución de la masa ósea (por ejemplo, osteoporosis), enfermedades mediadas por fibrosis (por ejemplo, esclerosis sistémica), diabetes, rechazo de trasplante, diversos cánceres (incluyendo, por ejemplo, mieloma múltiple, linfoma, cáncer de próstata), enfermedades neurodegenerativas (por ejemplo, enfermedad de Alzheimer), trastornos psiquiátricos (por ejemplo, depresión) y determinadas vasculitis raras (por ejemplo, enfermedad de Behcet). Para una revisión completa, véase, por ejemplo, Rincon, 2012.

Los factores reguladores de interferón (IRF) consisten en una familia de factores de transcripción con diversas funciones en la regulación transcripcional de respuestas celulares en salud y enfermedades. Los IRF contienen habitualmente un dominio de unión a ADN en el extremo N, conteniendo la mayoría de los miembros también un dominio asociado a IRF C-terminal que media en las interacciones entre proteínas. Se han identificado en mamíferos diez IRF y varios homólogos de IRF codificados por virus. Los IRF se activan en respuesta a estímulos endógenos y microbianos durante una respuesta inmunitaria, y modulan de manera selectiva y cooperativa la expresión de citocinas y factores de transcripción clave implicados en diversos procesos inflamatorios. Por ejemplo, la estimulación del receptor de lipopolisacárido bacteriano, TLR-4, activa una cascada de señalización que activa tanto NFkB como IRF-5, mientras que IRF-7 es activado por un proceso que implica la familia STAT de factores de transcripción, que también son activados, pero de forma independiente, por IL-6.

La activación de los IRF conduce a varios efectos posteriores, incluyendo la especificación del destino de los macrófagos (véase, por ejemplo, Krausgruber *et al.*, 2011), la diferenciación de linfocitos T auxiliares (véase, por ejemplo, Zhang *et al.*, 2012) y proliferación de linfocitos B (véase, por ejemplo, Minamino *et al.*, 2012). Estas diversas funciones en la enfermedad están subrayadas por datos de modelos de inactivación en animales que muestran, por ejemplo, niveles reducidos de IL-6 y TNFa en respuesta a estímulos inflamatorios (véase, por ejemplo, Takaoka *et al.*, 2005).

Además de las funciones biológicas de los IRF descritas anteriormente, varios miembros de la familia de IRF se han asociado genéticamente con predisposición a afecciones inflamatorias. Por ejemplo, los polimorfismos en IRF-3 e IRF-7 están asociados a la susceptibilidad al lupus eritematoso sistémico (véase, por ejemplo, Akahoshi *et al.*, 2008; Fu *et*

al., 2011). Además, IRF-5, que controla el destino de los macrófagos, está asociado a la susceptibilidad a la AR, lupus eritematoso sistémico, granulomatosis de Wegener, síndrome de Sjögren y esclerosis sistémica (véase, por ejemplo, Sharif *et al.*, 2012; Hu *et al.*, 2011).

5 Tratamiento de la artritis reumatoide

Las primeras terapias para la AR se centraron en controlar los síntomas de la enfermedad, principalmente por reducción de la inflamación, en lugar de retardar la progresión de la enfermedad. Estos medicamentos incluían AINE tales como la aspirina, diclofenaco y naproxeno. La inflamación se controló adicionalmente con glucocorticoides y su combinación con AINE proporcionó un control razonablemente eficaz a corto plazo de la inflamación. Más recientemente, se ha introducido un enfoque más agresivo para tratar la AR desde el inicio de la enfermedad, usando los denominados fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FARME), que actúan para ralentizar o incluso prevenir la progresión de la enfermedad. Estos incluyen varios fármacos más antiguos, incluyendo sales de oro; sulfasalazina; antipalúdicos como hidroxicloroquina; D-penicilamina; inmunosupresores tales como el ácido micofenólico, azatioprina, ciclosporina A, tacrolimus y sirolimus; minociclina; leflunomida; y, más importante, metotrexato (véase, por ejemplo, Smolen *et al.*, 2003).

El metotrexato es ahora la terapia de referencia para las comparaciones de ensayos clínicos y generalmente se usa en combinación con terapias más nuevas. Es eficaz en la mayoría de los pacientes, pero, en común con todos los agentes anteriores, tiene efectos secundarios gastrointestinales importantes, lo que lleva a que aproximadamente el 50 % de los pacientes finalmente tengan que suspender el tratamiento (véase, por ejemplo, Mount *et al.*, 2005). Otro inconveniente de estos FARME más antiguos es el tiempo que tarda el fármaco en empezar a actuar, que va desde semanas con metotrexato, hasta meses con sales de oro. Aunque solo se producen remisiones totales en aproximadamente una cuarta parte de los pacientes, para los que no muestran ningún efecto, generalmente no es posible detener la terapia sin sufrir el riesgo de un repunte de la enfermedad más violento (véase, por ejemplo, Smolen *et al.*, 2003).

En los últimos años, el tratamiento de la AR ha sido revolucionado por la llegada de agentes biológicos que se dirigen a rutas inflamatorias específicas. Actualmente, varios agentes biológicos están aprobados para su uso en la AR, incluyendo los productos biológicos anti-IL-6 e IL-1 tales como tocilizumab (Actemra®) y anakinra (Kineret®) (véase, por ejemplo, Scott *et al.*, 2010). Sin embargo, el primero y más importante de los agentes biológicos son las terapias anti-factor de necrosis tumoral (anti-TNF).

Las terapias anti-TNF α son el tratamiento líder en el mercado para la AR. Hay disponibles diversos agentes anti-TNF α , incluyendo anticuerpos neutralizantes tales como infliximab (Remicade®; J&J y Schering Plough) y adalimumab (Humira®; Abbott) o receptores señuelo tales como etanercept (Enbrel®; Amgen y Wyeth), que representan ambos tratamientos validados y muy eficaces para la AR, así como para otras enfermedades tales como la enfermedad de Crohn y la psoriasis. También se están investigando otros trastornos inflamatorios y autoinmunitarios como posibles dianas. Otros enfoques para bloquear la acción del TNF α incluyen el fragmento pegilado anti-TNF α certolizumab (Cimzia®, UCB). Todas estas terapias actúan, en última instancia, para prevenir la activación de los efectores corriente abajo del TNF α descritos anteriormente, incluyendo NF κ B. Sin embargo, a pesar de su éxito en el mercado, las terapias anti-TNF α adolecen de varios efectos secundarios que incluyen un mayor riesgo de determinadas neoplasias malignas tales como linfoma e infecciones graves tales como *Legionella* y *Listeria*, así como un mayor riesgo de insuficiencia cardíaca, reactivación de la hepatitis B y enfermedad desmielinizante.

Finalmente, y más recientemente, un inhibidor de cinasa JAK, tofacitinib (Xeljanz®, Pfizer) ha complementado la gama de tratamientos de la AR. Sin embargo, tofacitinib adolece de una serie de problemas de seguridad que incluyen un mayor riesgo de infecciones graves, así como un mayor riesgo de perforaciones gastrointestinales, daño hepático y determinados cánceres, que probablemente limiten su uso en el ser humano (véase, por ejemplo, O'Shea *et al.*, 2013).

De este modo, sigue existiendo la necesidad de terapias nuevas y mejoradas para la AR y otras enfermedades inflamatorias con un enfoque particular en la mejora de la seguridad.

55 El sistema osteoinmunitario y los trastornos óseos

El sistema osteoinmunitario es una expresión para la interacción combinada y relacionada entre el sistema inmunitario y el sistema esquelético.

En condiciones fisiológicas normales, el sistema esquelético proporciona apoyo, movilidad, protección de órganos vitales y depósito mineral de calcio y fosfato. Para lograr y adaptarse a estas funciones, el esqueleto existe en un equilibrio dinámico caracterizado por la reabsorción ósea continua mediada por osteoclastos y la deposición ósea mediada por osteoblastos (véase, por ejemplo, Karsenty *et al.*, 2002). Este proceso biológico se ha denominado "remodelación" ósea y se produce de manera acoplada, produciendo los osteoblastos los factores clave de diferenciación de los osteoclastos, incluyendo RANKL, descritos anteriormente, y promoviendo los osteoclastos la formación de hueso al producir mediadores osteoblásticos a medida que degradan el hueso.

- Las células inmunitarias tanto innatas como adaptativas ejercen efectos sobre los osteoclastos y osteoblastos a través de diversos mediadores secretados y de la superficie celular (véase, por ejemplo, Takayanagi, 2009). La activación del receptor de RANKL (RANK) en los precursores de los osteoclastos inicia una cascada de cambios transcripcionales que dan lugar a la formación de osteoclastos y la expresión de la maquinaria necesaria para la reabsorción ósea, incluyendo las moléculas necesarias para la unión al hueso, secreción ácida y proteólisis. Muchos de los factores de transcripción importantes para la diferenciación de los osteoclastos son reguladores clave de las respuestas inmunitarias, tales como NF_kB y factor nuclear de linfocitos T activados c1 (NFATc1) y este proceso también es potenciado por factores implicados en la inflamación tales como TNF α e IL-6.
- Además de su función fundamental en la progresión y patogenia de la AR, el sistema osteoinmunitario desempeña una función crítica en varias enfermedades adicionales, incluyendo la osteoporosis y otros trastornos óseos y el cáncer (véase, por ejemplo, Jones *et al.*, 2011).
- La osteoporosis es una enfermedad habitual caracterizada por una reducción de la densidad ósea, deterioro del tejido óseo y un mayor riesgo de fractura. Muchos factores contribuyen a la patogenia de la osteoporosis, incluyendo la mala alimentación, falta de ejercicio, el tabaquismo y la ingesta excesiva de alcohol. La osteoporosis también surge en asociación con enfermedades inflamatorias tales como la artritis reumatoide, enfermedades endocrinas tales como la tirotoxicosis y con determinados tratamientos farmacológicos tales como el tratamiento con glucocorticoides. De hecho, las fracturas por fragilidad relacionadas con la osteoporosis representan una de las complicaciones más importantes que pueden producirse en pacientes con enfermedades reumáticas tales como la AR, el lupus eritematoso sistémico y la espondilitis anquilosante.
- La enfermedad ósea de Paget es una afección habitual de causa desconocida, caracterizada por un aumento del recambio óseo y una remodelación ósea desorganizada, con áreas de mayor actividad osteoclástica y osteoblástica. Aunque el hueso con enfermedad de Paget es con frecuencia más denso de lo normal, la arquitectura anómala hace que el hueso sea mecánicamente débil, lo que da lugar a deformidad ósea y mayor susceptibilidad a fracturas patológicas.
- Se ha mostrado que la señalización de IL-6, TNF α y RANKL desempeñan una función importante en la hiperactividad de los osteoclastos y el consiguiente aumento de la disminución de la masa ósea (véase, por ejemplo, Tanaka *et al.*, 2003; Roodman, 2006). El uso de fármacos que afectan a estas rutas ha sido validado mediante la realización de ensayos clínicos del anticuerpo monoclonal contra RANKL, AMG-162 (Denosumab®, Amgen), para el tratamiento de la osteoporosis/mieloma múltiple, así como por un conjunto de datos cada vez mayor que muestra que las terapias anti-TNF α y anti-IL-6 también previenen la disminución de la masa ósea en enfermedades artríticas (véase, por ejemplo, Ogata *et al.*, 2012; Billau, 2010).
- #### El sistema osteoinmunitario y el cáncer
- Muchos tipos de cáncer afectan a los huesos. La enfermedad ósea asociada al cáncer puede manifestarse por la aparición de hipercalcemia o el desarrollo de metástasis osteolíticas y/u osteoscleróticas. El aumento de la reabsorción ósea osteoclástica desempeña una función clave en la patogenia de ambas afecciones. Aunque casi cualquier cáncer puede complicarse por metástasis óseas, las fuentes más habituales son mieloma múltiple, carcinoma de mama y carcinoma de próstata. Los tumores más habituales asociados a la hipercalcemia son el mieloma múltiple, carcinoma de mama y carcinoma de pulmón.
- Como se ha descrito anteriormente, la señalización de RANK/RANKL es esencial para la formación de osteoclastos y la reabsorción ósea que se produce durante la remodelación esquelética. Aunque los niveles fisiológicos de señalización de RANK/RANKL estimulan la proliferación y supervivencia celular de las células epiteliales mamarias, se ha mostrado recientemente que la señalización anómala de RANK/RANKL en estos tejidos influye en la aparición y progresión de la tumorigénesis de mama y se ha mostrado que el bloqueo de la señalización de RANKL usando denosumab (Xgeva®, Amgen) es eficaz para prevenir las complicaciones secundarias de las metástasis óseas, tales como fractura patológica e hipercalcemia en pacientes con cáncer de mama (véase, por ejemplo, Steger *et al.*, 2011).
- Las terapias que bloquean la señalización de RANK/RANKL también pueden disminuir la capacidad de los cánceres osteotrópicos para hacer metastatizar en los huesos. Se ha mostrado que la señalización a través de RANK en la superficie de las células tumorales epiteliales humanas, así como en las células del melanoma, induce una respuesta quimiotáctica en estas células tumorales, mientras que en un modelo murino de metástasis de melanoma, el tratamiento terapéutico de ratones con osteoprotegrina, que neutraliza el receptor de RANKL, RANK, redujo significativamente la carga tumoral dentro de los huesos, pero no en otros órganos.
- Además de una función de RANKL en el cáncer, existen cada vez más pruebas de que la activación de NF_kB a través de moléculas tales como TNF α puede desempeñar una función importante en la promoción y progresión tanto de neoplasias malignas hematológicas, tales como mieloma y linfomas, como de tumores sólidos, tales como cáncer de mama, de próstata y de pulmón (véase, por ejemplo, Baud *et al.*, 2009). También existe una mayor conciencia sobre la función y la importancia de la inflamación y el sistema osteoinmunitario en el cáncer y en el desarrollo de resistencia a la radioterapia y a los agentes quimioterapéuticos. Asimismo, se ha sugerido que la inflamación es de hecho uno de

los rasgos característicos básicos del cáncer (véase, por ejemplo, Mantovani, 2009). Por lo tanto, mejorar la eficacia de los tratamientos antineoplásicos mediante la prevención de la activación de NF_kB es una estrategia prometedora para aumentar los regímenes terapéuticos existentes y actualmente se encuentra en investigación, más notablemente para el tratamiento del mieloma múltiple.

- 5 Los defectos en las rutas apoptóticas normales también están implicados en el desarrollo y progresión del crecimiento de células tumorales así como en la inflamación. La apoptosis (muerte celular programada) desempeña una función clave en la eliminación de células anómalas; defectos en las cascadas de señalización, que normalmente conducirían a su inducción, desempeñan una función clave en la oncogénesis. La radioterapia y muchos agentes 10 quimioterapéuticos actúan provocando daño celular, que normalmente induciría apoptosis; por lo tanto, los defectos en la ruta también reducirán la eficacia de dichos agentes. Las moléculas efectoras más importantes en la ruta de señalización que conduce a la apoptosis se conocen como caspasas, que pueden ser activadas por varios estímulos, incluyendo la unión de TNF α a su receptor. Se han encontrado mutaciones en los genes que codifican las caspasas 15 en varios tipos de tumores, incluyendo cánceres gástricos, de mama, de células renales y de cuello uterino, así como habitualmente en el linfoma linfoblástico de linfocitos T y ameloblastomas de células basales (véase, por ejemplo, Philchenkov *et al.*, 2004). Los compuestos que activan las caspasas y, por tanto, sensibilizan las células a la apoptosis, serían muy eficaces como terapias contra el cáncer, ya sea como agentes individuales o para mejorar la eficacia de la quimioterapia y la radioterapia contra el cáncer existentes.

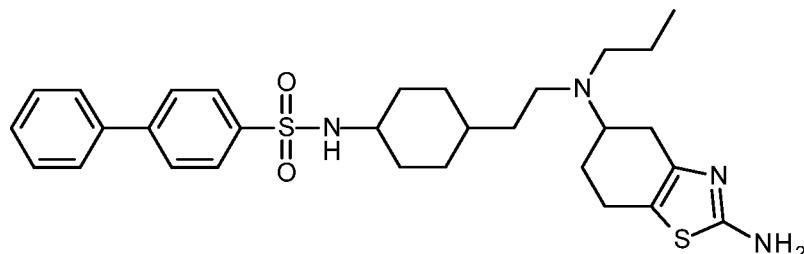
20 Agentes que previenen la inflamación y alteran el sistema osteoinmunitario

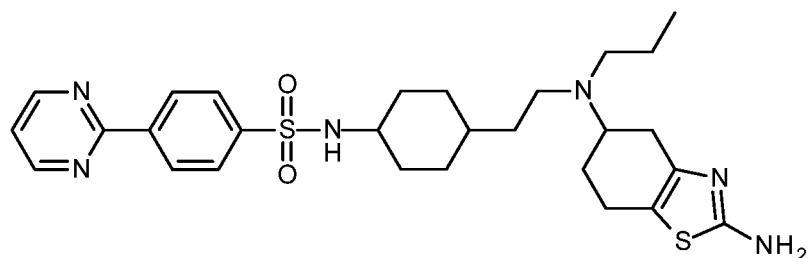
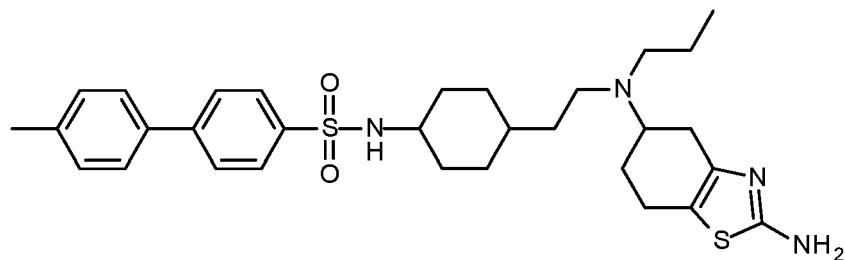
Los inventores han identificado nuevos compuestos que, por ejemplo, previenen la inflamación y/o la disminución de la masa ósea y, por tanto, puede usarse en el tratamiento de enfermedades con un componente inflamatorio o autoinmunitario, incluyendo, por ejemplo, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, lupus eritematoso sistémico, aterosclerosis, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), uveítis, enfermedad inflamatoria pélvica, endometriosis, psoriasis y artritis psoriásica; enfermedades que implican disminución de la masa ósea, incluyendo, por ejemplo, disminución de la masa ósea asociada a artritis reumatoide, osteoporosis, enfermedad ósea de Paget y mieloma múltiple; así como el cáncer asociado a la activación de NF_kB, con señalización anómala de NF_kB o con inflamación o sobreproducción de IL-6, incluyendo neoplasias malignas hematológicas tales como mieloma múltiple, leucemia, linfoma linfoblástico de linfocitos T y otros linfomas (por ejemplo, linfoma no hodgkiniano) y tumores sólidos tales como el cáncer de vejiga, cáncer de mama (femenino y/o masculino), cáncer de colon, cáncer de riñón, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer de próstata, cáncer de cerebro, cáncer de piel, cáncer de tiroides y melanoma; cáncer asociado a la inactivación o deterioro de la muerte celular mediada por caspasa, tal como cáncer gástrico, cáncer de mama, cáncer renal, cáncer de cuello uterino y ameloblastomas de células basales; afecciones 35 asociadas a la actividad modulada de IRF-5 que incluyen granulomatosis de Wegener y esclerosis sistémica; fibrosis asociada a la sobreproducción de IL-6, tal como esclerosis sistémica o esclerodermia; enfermedades neurodegenerativas asociadas a la sobreproducción de IL-6, tales como la enfermedad de Alzheimer; trastornos psiquiátricos también asociados a la sobreproducción de IL-6, tales como la depresión; enfermedades de la angiogénesis asociadas a la sobreproducción de IL-6, tales como la degeneración macular senil y la retinopatía 40 diabética, hiperplasias asociadas a IL-6 tales como la enfermedad de Castleman y determinadas vasculitis raras asociadas a la sobreproducción de IL-6, tales como la enfermedad de Behçet.

Sin desear quedar ligados a ninguna teoría en particular, los inventores creen que esta acción puede ser a través de un mecanismo que implica el bloqueo de TNF α y/o la señalización de RANKL y/o la actividad de IRF y/o la inhibición 45 de la producción de IL-6.

Compuestos conocidos

50 Wang *et al.*, 2010, describe determinados compuestos que aparentemente son agonistas completos del receptor de dopamina D₃ de alta afinidad y selectivos. Los ejemplos de compuestos mostrados en el mismo incluyen los siguientes (véase, por ejemplo, páginas 18-19 y 48-50 en el mismo):

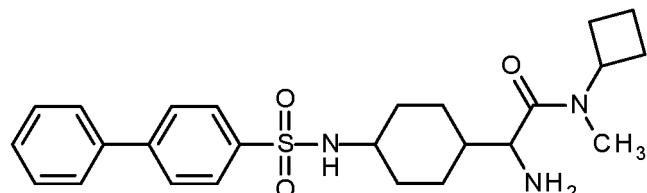




5 Chen *et al.*, 2012 describe compuestos similares.

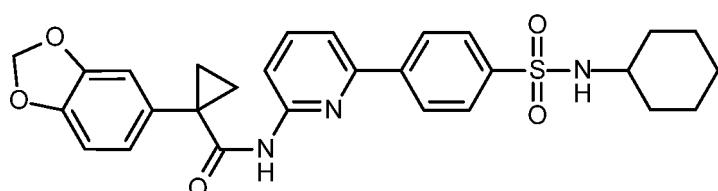
Tsutsumi *et al.*, 2005, describe determinados compuestos que aparentemente muestran actividad inhibidora de DPP-IV y aparentemente son útiles en el tratamiento de la diabetes de tipo II y la obesidad. El siguiente compuesto se muestra como el ejemplo 89 en la página 192 del mismo:

10



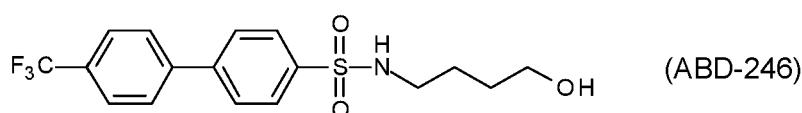
Hadida *et al.*, 2007 describe determinados compuestos que supuestamente son útiles como moduladores de transportadores de casete de unión a ATP ("ABC") o fragmentos de los mismos, incluyendo el regulador de conductancia transmembrana de fibrosis quística ("CFTR"). El siguiente compuesto se muestra como el ejemplo 208 en la página 77 del mismo:

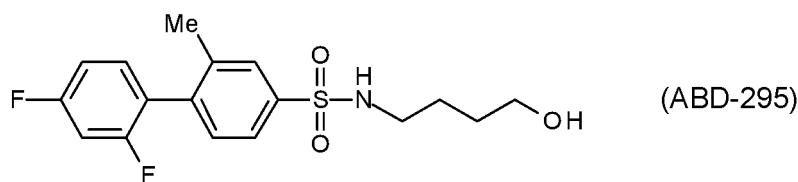
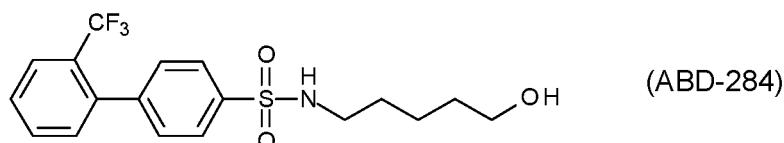
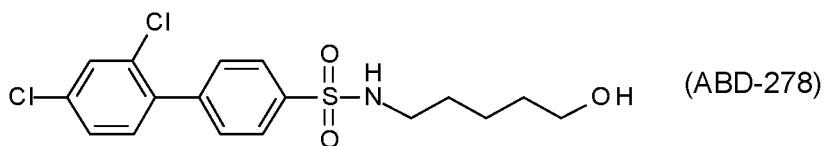
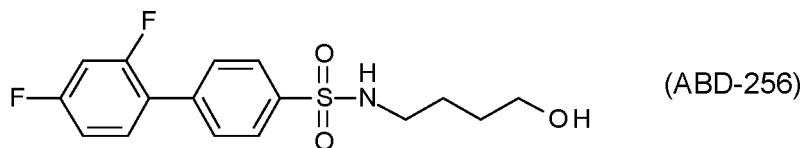
15



20 Ralston *et al.*, 2005, describe determinadas amidas bifenil-4-sulfónicas para su uso: para inhibir la supervivencia, formación y/o actividad de los osteoclastos; para inhibir afecciones mediadas por osteoclastos y/o caracterizadas por reabsorción ósea; en el tratamiento de trastornos óseos tales como la osteoporosis, artritis reumatoide, osteopatía asociada al cáncer y enfermedad de Paget; y en el tratamiento de afecciones asociadas a la inflamación o activación del sistema inmunitario. Los ejemplos de compuestos que se muestran en el mismo incluyen los siguientes:

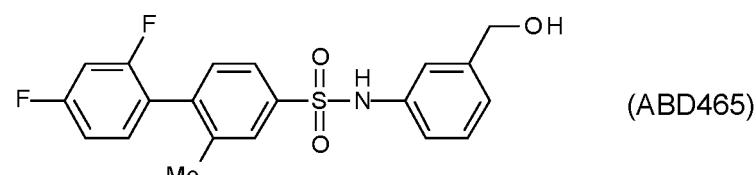
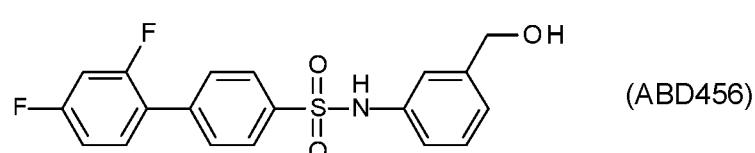
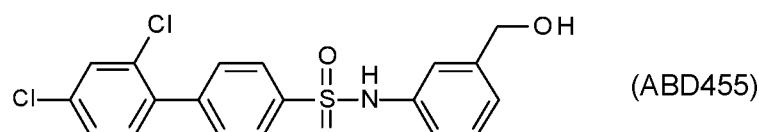
25

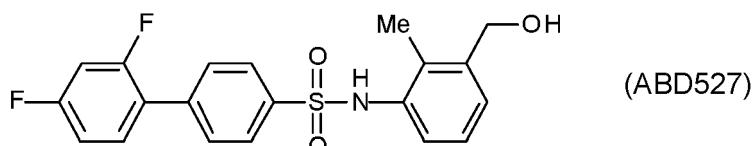
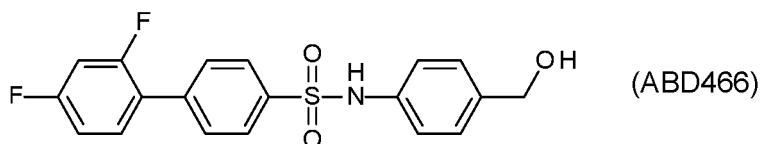




Greig *et al.*, 2006, describe compuestos similares.

Greig *et al.*, 2008, describe determinadas amidas de ácido bifenil-4-sulfónico para el tratamiento de la inflamación y/o destrucción articular y/o disminución de la masa ósea; trastornos mediados por activación excesiva y/o inapropiada y/o prolongada del sistema inmunitario; trastornos inflamatorios y autoinmunitarios, por ejemplo, artritis reumatoide, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), aterosclerosis, enfermedad inflamatoria intestinal y espondilitis anquilosante; y trastornos asociados a la disminución de la masa ósea, tal como la disminución de la masa ósea asociada a una actividad excesiva de los osteoclastos en la artritis reumatoide, osteoporosis, osteopatía asociada al cáncer y enfermedad de Paget. Los ejemplos de compuestos que se muestran en el mismo incluyen los siguientes:

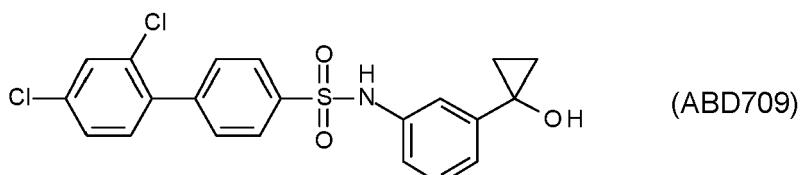
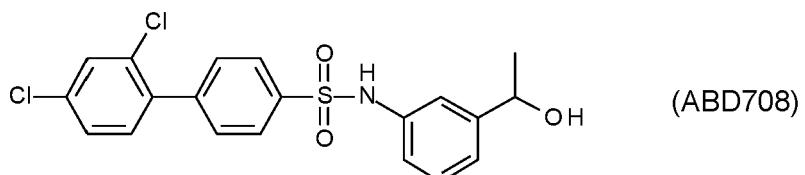




- 5 Greig *et al.*, 2010b, describe determinadas amidas de ácido bifenil-4-sulfónico para el tratamiento de la inflamación y/o destrucción articular y/o disminución de la masa ósea; trastornos mediados por activación excesiva y/o inapropiada y/o prolongada del sistema inmunitario; trastornos inflamatorios y autoinmunitarios, por ejemplo, artritis reumatoide, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), aterosclerosis, enfermedad inflamatoria intestinal y espondilitis anquilosante; trastornos asociados a la disminución de la masa ósea, tal como la disminución de la masa ósea asociada a una actividad excesiva de los osteoclastos en la artritis reumatoide, osteoporosis, osteopatía asociada al cáncer y enfermedad de Paget; y cáncer, tal como una neoplasia maligna hematológica y un tumor sólido. Los ejemplos de compuestos que se muestran en el mismo incluyen los siguientes:
- 10



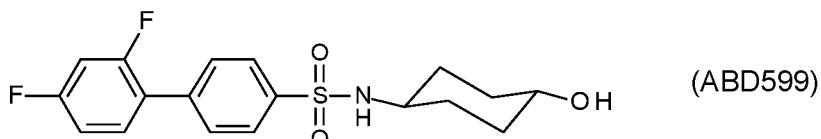
15

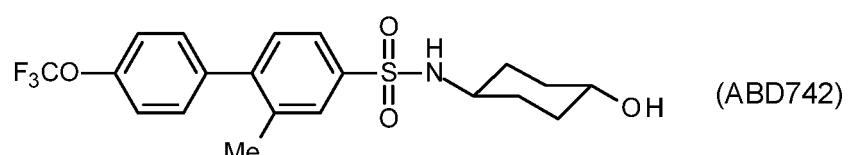
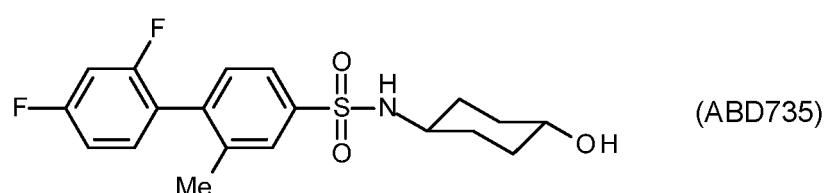
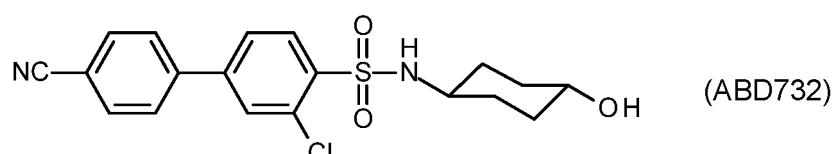
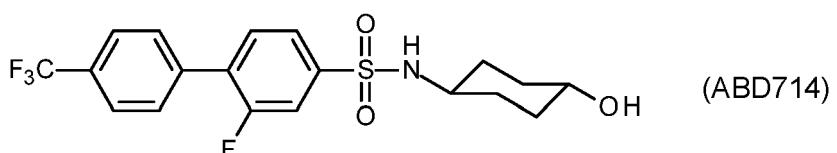
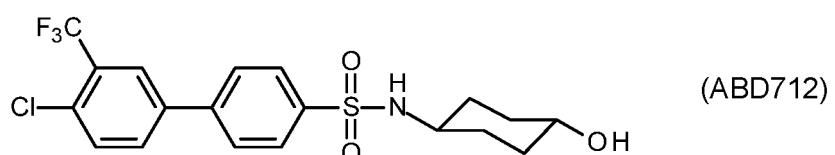
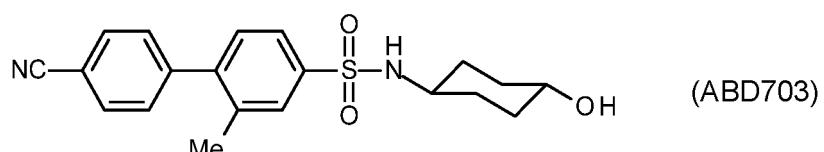
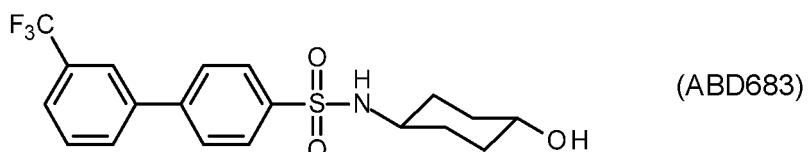
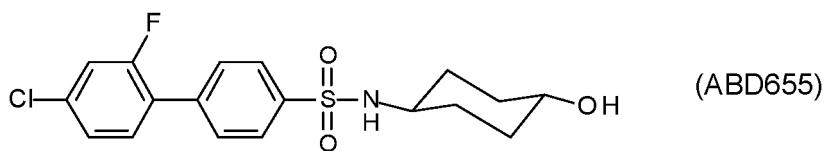


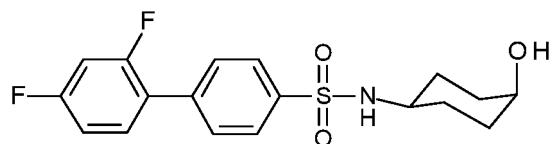
- 20 Greig *et al.*, 2013 describe compuestos similares.

- Greig *et al.*, 2010a, describe determinadas amidas de ácido bifenil-4-sulfónico para el tratamiento de la inflamación y/o destrucción articular y/o disminución de la masa ósea; trastornos mediados por activación excesiva y/o inapropiada y/o prolongada del sistema inmunitario; trastornos inflamatorios y autoinmunitarios, por ejemplo, artritis reumatoide, psoriasis, artritis psoriásica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), aterosclerosis, enfermedad inflamatoria intestinal y espondilitis anquilosante; trastornos asociados a la disminución de la masa ósea, tal como la disminución de la masa ósea asociada a una actividad excesiva de los osteoclastos en la artritis reumatoide, osteoporosis, osteopatía asociada al cáncer y enfermedad de Paget; y cáncer, tal como una neoplasia maligna hematológica y un tumor sólido. Los ejemplos de compuestos que se muestran en el mismo incluyen los siguientes:
- 25

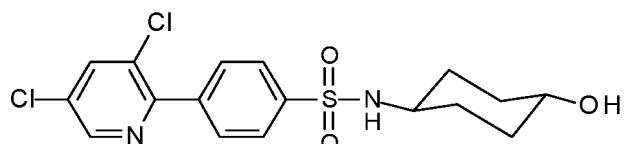
30



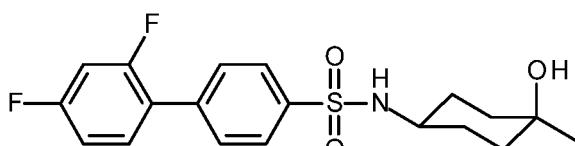




(ABD777)

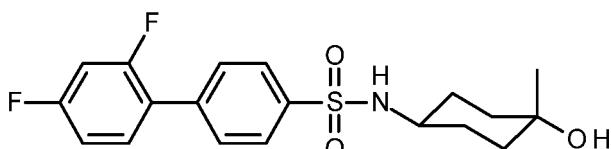


(ABD836)



(ABD899)

5



(ABD900)

Nuevos compuestos con propiedades mejoradas

10 Los compuestos de HMC descritos en el presente documento están protegidos contra varios riesgos tóxicos que están presentes en los compuestos conocidos, especialmente los que se muestran en Greig *et al.*, 2010a y muestran una eficacia mejorada en modelos de enfermedad.

15 Sin desear quedar ligados a ninguna teoría en particular, los inventores creen que las combinaciones particulares de sustituyentes y sus posiciones en la estructura del anillo de biairo dan lugar a propiedades extraordinarias. Estas combinaciones protegen a los compuestos de la toxicidad general y los riesgos de seguridad cardiovascular observados en los compuestos conocidos. De manera específica, los compuestos de HMC descritos en el presente documento están sustancialmente protegidos contra la inhibición del gen humano relacionado con Ether-a-go-go (hERG), lo que representa un gran riesgo para la seguridad cardiovascular.

20 Si se va a usar un fármaco en la clínica, debe tener un perfil de seguridad y eficacia adecuado. Debe mostrar una seguridad aguda adecuada para permitir la dosificación a seres humanos sin la expectativa de efectos secundarios generales graves. Un fármaco clínicamente aceptable tampoco debería inhibir hERG, un canal iónico que, cuando se inhibe, puede causar un trastorno cardíaco letal conocido como síndrome de QT largo. Junto a estas propiedades de seguridad, el fármaco debe ser lo suficientemente potente contra la diana biológica para proporcionar el efecto terapéutico deseado y debe tener la estabilidad suficiente para permanecer en circulación el tiempo suficiente para alcanzar la diana biológica.

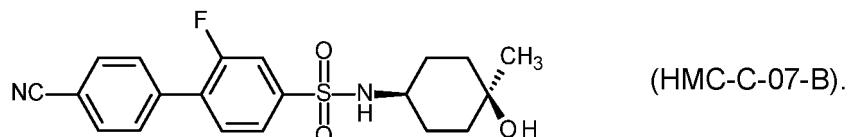
25 30 Asimismo, un fármaco debe tener un potencial mínimo de interacción con las enzimas que metabolizan el fármaco dentro del cuerpo para: permitir un suministro robusto del fármaco; minimizar la posibilidad de que el fármaco influya en el metabolismo de otros fármacos, la denominada interacción farmacológica; prevenir reacciones adversas graves que pueden ser causadas por interacciones farmacológicas. Este último es un componente crítico de la evaluación de un fármaco y los compuestos de HMC descritos en el presente documento muestran ventajas significativas para minimizar las posibles interacciones farmacológicas debido a su perfil metabólico *in vitro*.

35 La reducción de las propiedades toxicológicas (efectos adversos) de un fármaco es una barrera para el desarrollo de igual dificultad e importancia en comparación con la optimización de las propiedades farmacodinámicas (acción del fármaco en el organismo) y farmacocinéticas (acción del organismo sobre el fármaco). Los compuestos de HMC descritos en el presente documento proporcionan ventajas sustanciales como agentes terapéuticos orales (en comparación con los compuestos conocidos) mejorando la seguridad cardiovascular y proporcionando un perfil de metabolismo mejorado con poca o ninguna pérdida de potencia frente a la diana biológica.

40 45 Los compuestos de HMC descritos en el presente documento combinan las características requeridas de los agentes para el tratamiento de, por ejemplo, afecciones inflamatorias crónicas, disminución de la masa ósea y cáncer.

Sumario de la invención

5 Un primer aspecto de la invención es un compuesto de la siguiente fórmula, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo:



10 Un segundo aspecto de la invención es una composición farmacéutica que comprende un compuesto, sal, hidrato o solvato del primer aspecto, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Un tercer aspecto de la invención es un método para preparar una composición farmacéutica que comprende la etapa de mezclar un compuesto, sal, hidrato o solvato del primer aspecto y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.

15 15 Un cuarto aspecto de la invención es un compuesto, sal, hidrato o solvato del primer aspecto para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

20 En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
artritis reumatoide.

En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
psoriasis; artritis psoriásica; enfermedad pulmonar obstructiva crónica; asma; ateroesclerosis; enfermedad inflamatoria intestinal; o espondilitis anquilosante.

25 25 En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
esclerosis múltiple; lupus eritematoso sistémico; o síndrome de Sjögren.

30 30 En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
un trastorno asociado a la disminución de la masa ósea.

En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
disminución de la masa ósea asociada a una actividad excesiva de los osteoclastos en la artritis reumatoide, osteoporosis, osteopatía asociada al cáncer o enfermedad de Paget.

35 35 En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
cáncer.

40 40 En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
una neoplasia maligna hematológica.

En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
mieloma múltiple; leucemia; o linfoma.

45 45 En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
un cáncer de tumor sólido.

En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
cáncer de vejiga; cáncer de mama; cáncer de colon; carcinoma de células renales; cáncer de riñón; cáncer de pulmón;
50 cáncer de páncreas; cáncer gástrico; cáncer de próstata; cáncer de cerebro; cáncer de piel; cáncer de tiroides;
ameloblastoma de células basales; o melanoma.

55 55 En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
un trastorno asociado a la fibrosis.

En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
esclerosis sistémica o esclerodermia.

60 60 En una realización del cuarto aspecto, el tratamiento es el tratamiento de:
enfermedad de Behçet.

Descripción

En el presente documento se describen determinados compuestos de *N*-(4-hidroxi-4-metil-ciclohexil)-4-fenil-bencenosulfonamida and *N*-(4-hidroxi-4-metil-ciclohexil)-4-(2-piridil)bencenosulfonamida sustituidos (colectivamente denominados en el presente documento como compuestos HMC), como se describe en el presente documento.

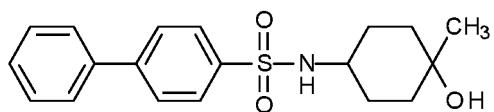
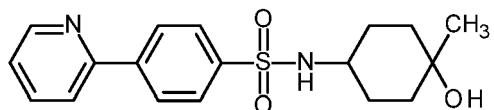
- 5 También se describe en el presente documento una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 10 También se describe en el presente documento un método para preparar una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende la etapa de mezclar un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, y un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 15 También se describe en el presente documento un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia, por ejemplo, para usar un método de tratamiento de un trastorno (por ejemplo, una enfermedad) como se describe en el presente documento.
- 20 También se describe en el presente documento el uso de un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, en la fabricación de un medicamento para tratamiento, por ejemplo, el tratamiento de un trastorno (por ejemplo, una enfermedad) como se describe en el presente documento.
- 25 También se describe en el presente documento un método de tratamiento, por ejemplo, de un trastorno (por ejemplo, una enfermedad) como se describe en el presente documento, que comprende administrar a un paciente que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, preferentemente en forma de una composición farmacéutica.
- 30 También se describe en el presente documento un kit que comprende (a) un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, preferentemente proporcionado como una composición farmacéutica y en un recipiente adecuado y/o con un empaque adecuado; y (b) instrucciones de uso, por ejemplo, instrucciones escritas sobre cómo administrar el compuesto.
- 35 También se describe en el presente documento un compuesto de HMC *obtenible* mediante un método de síntesis como se describe en el presente documento, o un método que comprende un método de síntesis como se describe en el presente documento.
- 40 También se describen en el presente documento nuevos intermedios, como se describe en el presente documento, que son adecuados para su uso en los métodos de síntesis descritos en el presente documento.
- 45 También se describe en el presente documento el uso de tales intermedios novedosos, como se describe en el presente documento, en los métodos de síntesis descritos en el presente documento.

Breve descripción de los dibujos

- 50 La Figura 1 es un gráfico del índice artrítico promedio en función del tiempo (día de dosificación) para: control (círculos rellenos), compuesto de referencia ABD899 (10 mg/kg/d) (círculos vacíos) y control positivo Etanercept (triángulos).
- 55 La Figura 2 es un gráfico del índice artrítico promedio en función del tiempo (día de dosificación) para: control (círculos rellenos), compuesto HMC-C-07-B (0,3 mg/kg/d) (círculos vacíos) y compuesto HMC-C-07-B (3 mg/kg/d) (cuadrados).

Descripción detallada**Compuestos**

60 En el presente documento se describen determinados compuestos que pueden describirse convenientemente como compuestos de *N*-(4-hidroxi-4-metil-ciclohexil)-4-fenil-bencenosulfonamida y *N*-(4-hidroxi-4-metil-ciclohexil)-4-(2-piridil)bencenosulfonamida sustituidos.

*N*-(4-hidroxi-4-metil-ciclohexil)-4-fenil-bencenosulfonamida

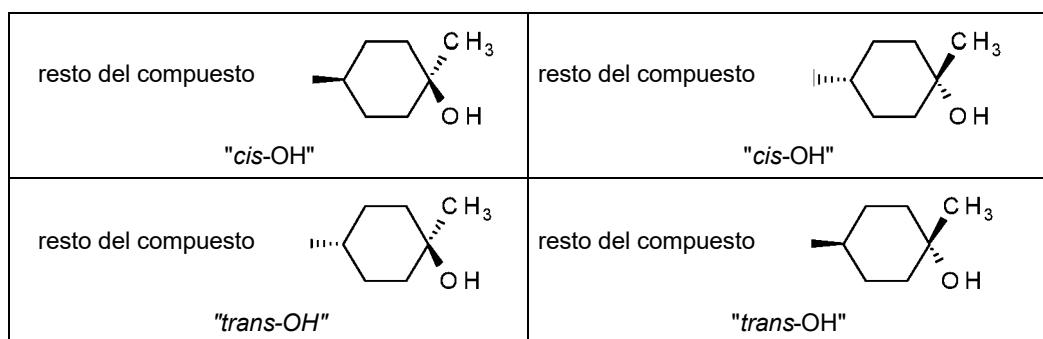
5

N-(4-hidroxi-4-metil-ciclohexil)-4-(2-piridil)bencenosulfonamida

- Por lo tanto, se describe en el presente documento un compuesto seleccionado entre compuestos de las siguientes fórmulas, o una sal, hidrato o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo (por conveniencia, denominados colectivamente en el presente documento como "compuestos HMC"):

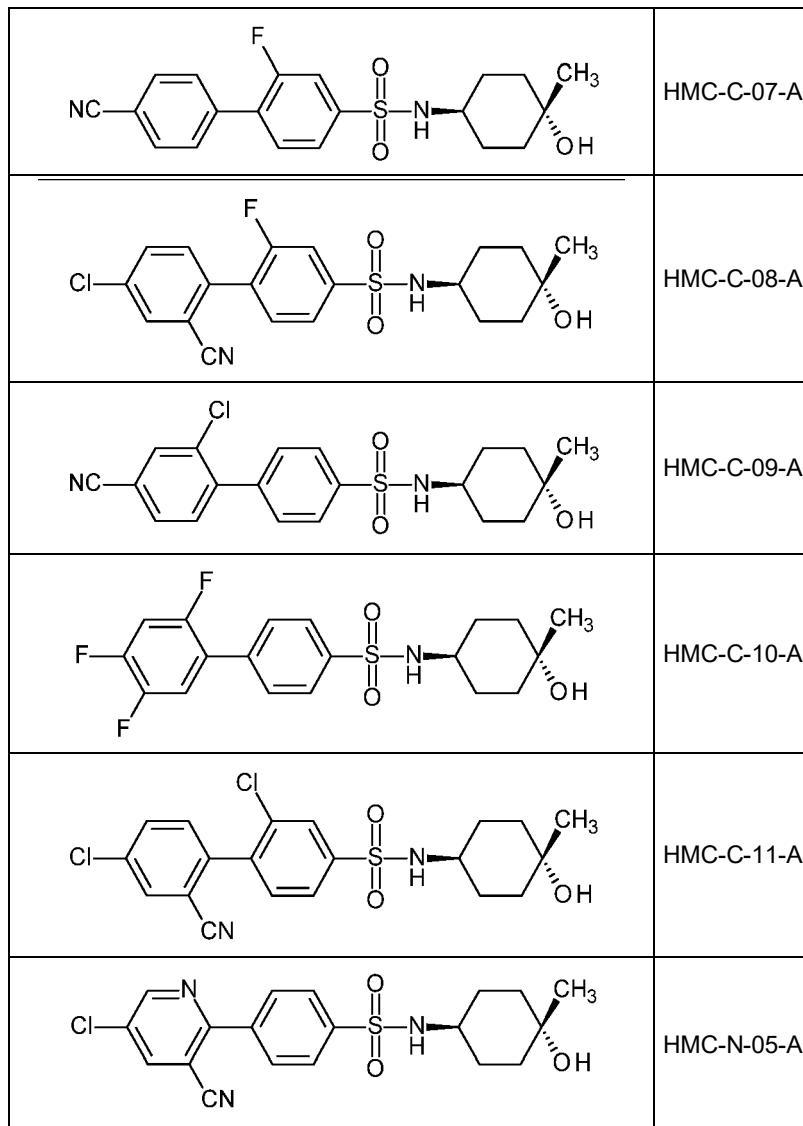
	HMC-C-07
	HMC-C-08
	HMC-C-09
	HMC-C-10
	HMC-C-11
	HMC-N-05

- 15 Tenga en cuenta que los sustituyentes en un lado del anillo ciclohexilo (es decir, -OH y -CH₃ en el lado derecho) pueden colocarse "*trans*" / "*cis*" o "*cis*" / "*trans*" con respecto al resto de la molécula. (es decir, en el anillo ciclohexilo al que se unieron, con respecto al resto del compuesto que está unido en la posición para del anillo ciclohexilo).



A menos que se indique lo contrario, se pretende que todas estas conformaciones estén englobadas por una referencia a un compuesto que no especifica una conformación particular.

- 5 En una realización, el compuesto está en la conformación "trans-OH", como en, por ejemplo, los siguientes compuestos:



En una realización, el compuesto está en la conformación "cis-OH", como en, por ejemplo, los siguientes compuestos:

	HMC-C-07-B
	HMC-C-08-B
	HMC-C-09-B
	HMC-C-10-B
	HMC-C-11-B
	HMC-N-05-B
<p>Nótese también que el anillo de ciclohexano puede adoptar una conformación de "silla", "bote" o "torsión", y que es posible la interconversión entre las conformaciones. A menos que se indique lo contrario, se pretende que todas estas conformaciones (por ejemplo, "silla", "barco", "giro", "OH es axial", "OH es ecuatorial", etc.) estén englobadas por una referencia a un compuesto que no especifica una conformación particular.</p>	

Formas sustancialmente purificadas

También se describen en el presente documento compuestos de HMC, como se describe en el presente documento, en forma sustancialmente purificada y/o en una forma sustancialmente libre de contaminantes.

En una realización, la forma sustancialmente purificada es al menos 50 % en peso, por ejemplo, al menos 60% en peso, por ejemplo, al menos 70 % en peso, por ejemplo, al menos 80 % en peso, por ejemplo, al menos 90 % en peso, por ejemplo, al menos 95 % en peso, por ejemplo, al menos 97 % en peso, por ejemplo, al menos 98 % en peso, por ejemplo, al menos 99 % en peso.

A menos que se especifique, la forma sustancialmente purificada se refiere al compuesto en cualquier forma conformacional. Por ejemplo, en una realización, la forma sustancialmente purificada se refiere a una mezcla de formas conformacionales, *es decir*, purificada con respecto a otros compuestos. En una realización, la forma sustancialmente purificada se refiere a una forma conformacional. En una realización, la forma sustancialmente purificada se refiere a una mezcla de formas conformacionales. En una realización, la forma sustancialmente purificada se refiere a una mezcla equimolar de formas conformacionales.

En una realización, los contaminantes no representan más del 50 % en peso, por ejemplo, no más del 40 % en peso, *por ejemplo*, no más del 30 % en peso, por ejemplo, no más del 20 % en peso, por ejemplo, no más del 10 % en peso,

por ejemplo, no más del 5 % en peso, por ejemplo, no más del 3 % en peso, por ejemplo, no más del 2 % en peso, por ejemplo, no más del 1 % en peso.

5 A menos que se especifique, los contaminantes se refieren a otros compuestos, es decir, distintos de las formas conformacionales. En una realización, los contaminantes se refieren a otros compuestos y otras formas conformacionales.

10 En una realización, la forma sustancialmente purificada es al menos 60 % conformacionalmente pura (es decir, 60 % del compuesto, sobre una base molar, es la conformación deseada y el 40 % son las formas conformacionales no deseadas), por ejemplo, al menos un 70 % conformacionalmente pura, por ejemplo, al menos un 80 % conformacionalmente pura, por ejemplo, al menos un 90 % conformacionalmente pura, por ejemplo, al menos un 95 % conformacionalmente pura, por ejemplo, al menos un 97 % conformacionalmente pura, por ejemplo, al menos un 98 % conformacionalmente pura, por ejemplo, al menos un 99 % conformacionalmente pura.

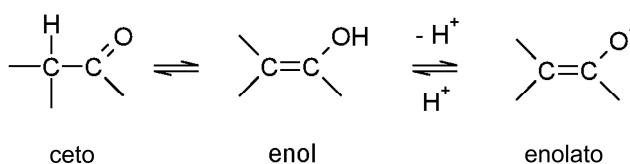
15 Isómeros

Determinados compuestos pueden existir en una o más formas geométricas, ópticas, enantioméricas, diastereoisoméricas, epiméricas, atrópicas, estereoisoméricas, tautoméricas, conformacionales o anoméricas particulares, que incluyen pero sin limitarse a, formas cis y trans; formas E y Z; formas c, t, y r; formas endo y exo; formas R, S y meso; formas D y L; formas d y l; formas (+) y (-); formas ceto, enol y enolato; formas syn y anti; formas sinclinal y anticlinal; formas α y β ; formas axiales y ecuatoriales; formas barco, silla, torsión, sobre, y media silla; y combinaciones de las mismas, citadas en lo sucesivo colectivamente como "isómeros" (o "formas isoméricas").

25 Una referencia a una clase de estructuras bien puede incluir formas estructuralmente isoméricas que caen dentro de esa clase (por ejemplo, alquilo C₁₋₇ incluye n-propilo e iso-propilo; butilo incluye n-, iso-, sec- y terc-butilo; metoxifenilo incluye orto-, meta- y para-metoxifenilo).

30 Sin embargo, la referencia a un grupo específico o patrón de sustitución no pretende incluir otros isómeros estructurales (o constitucionales) que difieran con respecto a las conexiones entre átomos en lugar de por posiciones en el espacio. Por ejemplo, una referencia a un grupo metoxi, -OCH₃, no debe interpretarse como una referencia a su isómero estructural, un grupo hidroximetilo, -CH₂OH. De forma análoga, una referencia al orto-clorofenilo no debe interpretarse como una referencia a su isómero estructural, el metaclorofenilo.

35 La exclusión anterior no se refiere a formas tautómeras, por ejemplo, formas ceto, enol y enolato, como en, por ejemplo, los siguientes pares tautómicos: ceto/enol (ilustrado a continuación), imina/enamina, amida/imino alcohol, amidina/amidina, nitroso/oxima, tiocetona/enotiol, N-nitroso/hidroxiazo y nitro/aci-nitro.



40 Obsérvese que se incluyen específicamente en el término "isómero" los compuestos con una o más sustituciones isotópicas. Por ejemplo, H puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo ¹H, ²H (D) y ³H (T); C puede estar en cualquier forma isotópica, incluyendo ¹¹C, ¹²C, ¹³C y ¹⁴C; O puede estar en cualquier forma isotópica, que incluye ¹⁵O, ¹⁶O y ¹⁸O; N puede estar en cualquier forma isopótica, incluidos ¹⁴N y ¹⁵N; F puede estar en cualquier forma isopótica incluyendo ¹⁸F y ¹⁹F y similares.

45 45 A menos que se especifique lo contrario, una referencia a un compuesto particular incluye todas esas formas isoméricas, incluidas las mezclas (por ejemplo, mezclas racémicas) de las mismas. Los métodos para la preparación (por ejemplo, síntesis asimétrica) y separación (por ejemplo, cristalización fraccionada y medios cromatográficos) de tales formas isoméricas son conocidos en la técnica o se obtienen fácilmente adaptando los métodos enseñados en el presente documento, o métodos conocidos, de una manera conocida.

Sales

55 Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular una sal correspondiente del compuesto, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable. Se analizan ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables en Berge *et al.*, 1977, "Pharmaceutically Acceptable Salts", J. Pharm. Sci., Vol. 66, págs. 1-19.

60 Por ejemplo, si el compuesto es aniónico, o tiene un grupo funcional que puede ser aniónico (por ejemplo, -COOH puede ser -COO⁻), entonces puede formarse una sal con un catión adecuado. Algunos ejemplos de cationes inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, iones de metales alcalinos tales como Na⁺ y K⁺, cationes

alcalinotérreos, tales como Ca^{2+} y Mg^{2+} y otros cationes tales como Al^{3+} . Algunos ejemplos de cationes orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, ion amonio (es decir, NH_4^+) e iones amonio sustituido (por ejemplo, NH_3R^+ , NH_2R_2^+ , NHR_3^+ , NR_4^+). Algunos ejemplos de algunos iones amonio sustituidos adecuados son aquellos derivados de: etilamina, dietilamina, diciclohexilamina, trietilamina, butilamina, etilendiamina, etanolamina, dietanolamina, piperazina, bencilamina, fenilbencilamina, colina, meglumina y trometamina, así como aminoácidos, tales como lisina y arginina. Un ejemplo de un ion amonio cuaternario común es $\text{N}(\text{CH}_3)_4^+$.

- 5 Si el compuesto es catiónico, o tiene un grupo funcional que puede ser catiónico (por ejemplo, $-\text{NH}_2$ puede ser $-\text{NH}_3^+$), entonces puede formarse una sal con un anión adecuado. Algunos ejemplos de aniones inorgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los obtenidos a partir de los siguientes ácidos inorgánicos: clorhídrico, bromhídrico, yodhídrico, sulfúrico, sulfuroso, nítrico, nitroso, fosfórico y fosforoso. Algunos ejemplos de aniones orgánicos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los obtenidos a partir de los siguientes ácidos orgánicos: 2-acetioxibenzoico, acético, ascórbico, aspártico, benzoico, alcanforsulfónico, cinámico, cítrico, edético, etandisulfónico, etanosulfónico, fumárico, gluqueptónico, glucónico, glutámico, glicólico, hidroximaleico, hidroxinaftalencarboxílico, isetónico, láctico, lactobiónico, láurico, maleico, mállico, metanosulfónico, mágico, oleico, oxálico, palmítico, pamoico, pantoténico, fenilacético, fenilsulfónico, propiónico, pirúvico, salicílico, esteárico, succínico, sulfanílico, tartárico, toluenosulfónico y valérico. Algunos ejemplos de aniones orgánicos poliméricos adecuados incluyen, pero no se limitan a, los obtenidos a partir de los siguientes ácidos poliméricos: ácido tánico, carboximetilcelulosa.
- 10 20 A menos que se especifique de otro modo, una referencia a un compuesto particular también incluye formas salinas del mismo.

Solvatos e Hidratos

- 25 Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular un solvato correspondiente del compuesto. El término "solvato" se usa en el presente documento en el sentido convencional para referirse a un complejo de soluto (por ejemplo, compuesto, sal del compuesto) y disolvente. Si el disolvente es agua, el solvato se puede denominar convenientemente hidrato, por ejemplo, un monohidrato, un dihidrato, un trihidrato, etc.
- 30 35 A menos que se especifique de otro modo, una referencia a un compuesto particular también incluye solvatos e hidratos del mismo.

Formas químicamente protegidas

- 35 40 45 Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular el compuesto en una forma químicamente protegida. La expresión "forma químicamente protegida" se usa en el presente documento en el sentido químico convencional y se refiere a un compuesto en el que se protegen uno o más grupos funcionales reactivos frente a reacciones químicas no deseables en condiciones específicas (por ejemplo, pH, temperatura, radiación, disolvente y similares). En la práctica, se emplean métodos químicos bien conocidos para, de manera reversible, hacer que no sea reactivo un grupo funcional, que de otro modo sería reactivo, en condiciones específicas. En una forma químicamente protegida, uno o más grupos funcionales reactivos se encuentra en forma de un grupo protegido o protector (también conocido como grupo enmascarado o de enmascaramiento o un grupo bloqueado o de bloqueo). Mediante la protección de un grupo funcional reactivo, pueden realizarse reacciones que implican otros grupos funcionales reactivos no protegidos, sin afectar al grupo protegido; el grupo protector puede eliminarse, normalmente en una etapa posterior, sin afectar sustancialmente al resto de la molécula. Véase, por ejemplo, Protective Groups in Organic Synthesis (T. Green y P. Wuts; 4^a Edición; John Wiley and Sons, 2006).

- 50 55 Se usa ampliamente y se conoce bien en la síntesis orgánica una gran variedad de dichos métodos "protectores", "de bloqueo" o "de enmascaramiento". Por ejemplo, un compuesto que tiene dos grupos funcionales reactivos no equivalentes, siendo ambos reactivos en condiciones específicas, puede derivatizarse para hacer que uno de los grupos funcionales esté "protegido", y por tanto no reactivo, en las condiciones específicas; protegido de este modo, el compuesto puede usarse como un reactivo que tiene efectivamente solo un grupo funcional reactivo. Después de que se complete la reacción deseada (que implica al otro grupo funcional), puede "desprotegerse" el grupo protegido para volver a su funcionalidad original.

- 60 65 Por ejemplo, puede protegerse un grupo amina, por ejemplo, en forma de una amida (-NRCO-R) o un uretano (-NRCO-OR), por ejemplo, como: una metil amida (-NHCO-CH₃); una benciloxi amida (-NHCO-OCH₂C₆H₅, -NH-Cbz); en forma de una t-butoxi amida (-NHCO-OC(CH₃)₃, -NH-Boc); una 2-bifenil-2-propoxi amida (-NHCO-OC(CH₃)₂C₆H₄C₆H₅, -NH-Broc), en forma de una 9-fluorenilmetoxi amida (-NH-Fmoc), en forma de una 6-nitroveratriloxi amida (-NH-Nvoc), en forma de una 2-trimetilsililetiloxi amida (-NH-Teoc), en forma de una 2,2,2-tricloroetiloxi amida (-NH-Troc), en forma de una aliloxi amida (-NH-Alloc), en forma de una 2-(fenilsulfonil)etiloxi amida (-NH-Psec); o, en casos adecuados (por ejemplo, aminas cíclicas), en forma de un radical de nitróxido (>N-O-).

Profármacos

- 65 Puede ser conveniente o deseable preparar, purificar y/o manipular el compuesto en forma de profármaco. El término

"profármaco", como se usa en el presente documento, se refiere a un compuesto que, cuando se metaboliza (por ejemplo, *in vivo*), proporciona el compuesto activo deseado. Normalmente, el profármaco es inactivo o menos activo que el compuesto activo deseado, pero puede proporcionar una manipulación, administración o propiedades metabólicas ventajosas.

5

Síntesis químicas

Los métodos para la síntesis química de compuestos de HMC se describen en el presente documento. Estos y/u otros métodos bien conocidos pueden modificarse y/o adaptarse de formas conocidas para facilitar la síntesis de compuestos de HMC adicionales descritos en el presente documento.

Composiciones

También se describe en el presente documento una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

En una realización, la composición comprende además uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales, como se describe en el presente documento.

20

También se describe en el presente documento un método para preparar una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende mezclar un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, y un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

También se describe en el presente documento un método para preparar una composición (por ejemplo, una composición farmacéutica) que comprende mezclar un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento; uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales, como se describe en el presente documento; y un excipiente, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Usos

Los compuestos HMC, como se describe en el presente documento, son útiles, por ejemplo, en el tratamiento de trastornos (por ejemplo, enfermedades) que incluyen, por ejemplo, los trastornos (por ejemplo, enfermedades) descritos en el presente documento.

35

Uso en métodos de terapia

También se describe en el presente documento un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia, por ejemplo, para usar un método de tratamiento de un trastorno (por ejemplo, una enfermedad) como se describe en el presente documento.

También se describe en el presente documento un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, en combinación con uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales, como se describe en el presente documento, para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia, por ejemplo, para usar en un método de tratamiento de un trastorno (por ejemplo, una enfermedad) como se describe en el presente documento.

Uso en la fabricación de medicamentos

También se describe en el presente documento el uso de un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, en la fabricación de un medicamento para tratamiento, por ejemplo, el tratamiento de un trastorno (por ejemplo, una enfermedad) como se describe en el presente documento.

55

En una realización, el medicamento comprende el compuesto HMC.

También se describe en el presente documento el uso de un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, y uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales, como se describe en el presente documento, en la fabricación de un medicamento para tratamiento, por ejemplo, el tratamiento de un trastorno (por ejemplo, una enfermedad) como se describe en el presente documento.

60

En una realización, el medicamento comprende el compuesto HMC y uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales.

Métodos de tratamiento

También se describe en el presente documento un método de tratamiento, por ejemplo, de un trastorno (por ejemplo,

una enfermedad) como se describe en el presente documento, que comprende administrar a un paciente que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, preferentemente en forma de una composición farmacéutica.

- 5 También se describe en el presente documento un método de tratamiento, por ejemplo, de un trastorno (por ejemplo, una enfermedad) como se describe en el presente documento, que comprende administrar a un paciente que necesita tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, preferentemente en forma de una composición farmacéutica, y uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales, como se describe en el presente documento, preferentemente en forma de una composición farmacéutica.

Afecciones tratadas

- 10 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de un trastorno inflamatorio o un trastorno autoinmunitario.
- 15 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de un trastorno asociado a inflamación y/o activación del sistema inmunitario.
- 20 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de un trastorno mediado por una activación excesiva y/o inapropiada y/o prolongada del sistema inmunitario.
- 25 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la inflamación.
- 30 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de un trastorno asociado a inflamación o activación del sistema inmunitario.
- 35 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la artritis reumatoide; psoriasis; artritis psoriásica; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); asma; ateroesclerosis; enfermedad inflamatoria intestinal; o espondilitis anquilosante.
- 40 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la artritis reumatoide.
- 45 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la psoriasis.
- 50 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la artritis psoriásica.
- 55 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).
- 60 En una realización, el tratamiento es el tratamiento del asma.
- 65 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la aterosclerosis.
- 70 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la espondilitis anquilosante.
- 75 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal.
- 80 En una realización, el tratamiento es la prevención de una respuesta inmunitaria que conduce al rechazo de un órgano o injerto después del trasplante.
- 85 En una realización, el tratamiento es la prevención de una afección inflamatoria en la que la expresión o actividad de IRF-5 es aberrante.
- 90 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de un tumor que sobreexpresa TNF α , IL-1, IL-6, RANKL y/o NF κ B.
- 95 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de un tumor para el que la inhibición de la expresión o actividad o señalización de TNF α , IL-1, RANKL, NF κ B, IRF tales como IRF-3, -5 o -7 y/o IL-6 facilita o mejora la acción de agentes citotóxicos tumoricidas.
- 100 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de una neoplasia maligna hematológica.
- 105 En una realización, el tratamiento es el tratamiento del mieloma múltiple.
- 110 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la leucemia; por ejemplo, leucemia linfoblástica aguda.
- 115 En una realización, el tratamiento es el tratamiento del linfoma; por ejemplo, linfoma no hodgkiniano, linfoma de linfocitos T (por ejemplo, linfoma linfoblástico T, linfoma extraganglionar de linfocitos T, linfoma cutáneo de linfocitos

T, linfoma anaplásico de células grandes, linfoma angioinmunoblastico de linfocitos T) y linfoma de linfocitos B (por ejemplo, linfoma de Hodgkin, linfoma no hodgkiniano) (por ejemplo, linfoma difuso de linfocitos B grandes, linfoma folicular, linfoma de tejido linfático asociado a mucosa, linfoma linfocítico microcítico, linfoma de células del manto, tricoleucemia y linfoma de Burkitt).

- 5 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de un cáncer de tumor sólido, por ejemplo, cáncer de vejiga, cáncer de mama (femenino y/o masculino), cáncer de colon, carcinoma de células renales, cáncer de riñón, cáncer de pulmón, cáncer de páncreas, cáncer gástrico, cáncer de próstata, cáncer de cerebro, cáncer de piel, cáncer de tiroides, ameloblastoma de células basales o melanoma.
- 10 En una realización, la neoplasia maligna hematológica (por ejemplo, mieloma múltiple, leucemia, linfoma, etc.) y el cáncer de tumor sólido (por ejemplo, cáncer de vejiga, etc.) está asociado a la activación de NFkB, con la señalización aberrante de NFkB o con inflamación.
- 15 En una realización, la neoplasia maligna hematológica (por ejemplo, mieloma múltiple, leucemia, linfoma, etc.) y el cáncer de tumor sólido (por ejemplo, cáncer de vejiga, etc.) está asociado a la inactivación o el deterioro de la inducción de caspasa o con señalización aberrante de caspasa.
- 20 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de un trastorno proliferativo; por ejemplo, enfermedad de Castleman.
- 25 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de una enfermedad o trastorno seleccionado entre: enfermedades que tienen un componente inflamatorio o autoinmunitario, incluyendo asma, aterosclerosis, enfermedades alérgicas, tales como atopia, rinitis alérgica, dermatitis atópica, anafilaxia, aspergilosis broncopulmonar alérgica y neumonitis por hipersensibilidad (enfermedad de los avicultores, neumopatía del granjero, neumopatía por humidificador, neumopatía de los trabajadores de la malta); alergias, incluyendo dermatitis alérgica por pulgas en mamíferos tales como animales domésticos, por ejemplo, perros y gatos, alérgenos de contacto, incluyendo las picaduras de mosquitos u otras alergias a las picaduras de insectos, hiedra venenosa, roble venenoso, zumaque venenoso u otros alérgenos cutáneos; trastornos autoinmunitarios, incluyendo diabetes de tipo I y complicaciones asociadas, esclerosis múltiple, artritis,
- 30 lupus eritematoso sistémico, tiroiditis autoinmunitaria (de Hashimoto), hepatopatías autoinmunitarias tales como hepatitis y cirrosis biliar primaria, hipertiroidismo (enfermedad de Graves; tirotoxicosis), diabetes resistente a la insulina, insuficiencia suprarrenal autoinmunitaria (enfermedad de Addison), ooforitis autoinmunitaria, orquitis autoinmunitaria, anemia hemolítica autoinmunitaria, hemoglobinuria paroxística fría, enfermedad de Behcet, trombocitopenia autoinmunitaria, neutropenia autoinmunitaria, anemia perniciosa, anemia pura de glóbulos rojos, coagulopatías autoinmunitarias, endometriosis, miastenia grave, encefalomielitis alérgica experimental, polineuritis autoinmunitaria, pénfigo y otras enfermedades ampollosas, carditis reumática, síndrome de Goodpasture, síndrome poscardiotomía, síndrome de Sjögren, polimiositis, dermatomiositis y esclerodermia; patologías resultantes de inflamación inapropiada, ya sea local o sistémica, por ejemplo, síndrome del intestino irritable o inflamatorio (Mazzucchelli *et al.*, 1996), dermatopatías tales como liquen plano, hipersensibilidad de tipo retardado, inflamación pulmonar crónica, por ejemplo, alveolitis pulmonar y granuloma pulmonar, inflamación gingival u otra enfermedad periodontal e inflamación ósea asociada a lesiones de origen endodóntico (Volejnikova *et al.*, 1997), neumopatías por hipersensibilidad tales como neumonitis por hipersensibilidad (Sugiyama *et al.*, 1995) e inflamación relacionada con la liberación de histamina por los basófilos (Dvorak *et al.*, 1996), tal como la fiebre del heno, liberación de histamina por los mastocitos (Galli *et al.*, 1989), o tumores de mastocitos, tipos de reacciones de hipersensibilidad de tipo 1 (anafilaxia, alergia cutánea, urticaria, gota, rinitis alérgica y gastroenteritis alérgica); colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn; nefropatía poliquística inducida por TNF α (Li *et al.*, 2008); o síndromes periódicos asociados a la criopirina, incluyendo el síndrome de Muckle-Wells.
- 35 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de un trastorno mediado por osteoclastos.
- 40 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de un trastorno caracterizado por una reabsorción ósea excesiva.
- 45 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de un trastorno asociado a la disminución de la masa ósea.
- 50 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la disminución de la masa ósea.
- 55 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la disminución de la masa ósea.
- 60 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la disminución de la masa ósea asociada a la inflamación.
- 65 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la disminución de la masa ósea no asociada a la inflamación.

En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la destrucción articular asociada a la activación excesiva de los osteoclastos.

- 5 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la disminución de la masa ósea asociada a la activación excesiva de los osteoclastos en artritis reumatoide, osteoporosis, osteopatía asociada al cáncer o enfermedad de Paget.

En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la disminución de la masa ósea asociada a la artritis reumatoide, osteoporosis, osteopatía asociada al cáncer o enfermedad ósea de Paget.

- 10 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la artritis reumatoide, osteoporosis, osteopatía asociada al cáncer o enfermedad ósea de Paget.

- 15 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la neoplasia ósea, ya sea como tumor primario o como metástasis, incluyendo osteosarcoma y osteoma (véase, por ejemplo, Zheng *et al.*, 1998) y enfermedad ósea asociada al cáncer (por ejemplo, hipercalcemia de neoplasia maligna, metástasis ósea, metástasis óseas osteolíticas, mieloma múltiple, carcinoma de mama).

- 20 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la hipercalcemia causada por afecciones asociadas a un aumento de la reabsorción ósea, incluyendo: intoxicación por vitamina D, hiperparatiroidismo primario o terciario, inmovilización y sarcoidosis.

- 25 En una realización, el tratamiento es el tratamiento del aflojamiento aséptico de implantes protésicos (por ejemplo, articulaciones artificiales, por ejemplo, rodillas, caderas, etc., pueden aflojarse debido a la actividad de los osteoclastos impulsada por la inflamación local) (véase, por ejemplo, Childs *et al.*, 2001).

En una realización, el tratamiento es el tratamiento de la osteopetrosis, osteoartritis o formación de hueso ectópico.

- 30 En una realización, el tratamiento es el tratamiento de un trastorno asociado a la fibrosis, tal como esclerosis sistémica o esclerodermia.

En una realización, el tratamiento es el tratamiento de una vasculitis rara, tal como la enfermedad de Behçet.

Tratamiento

- 35 El término "tratamiento", como se usa en el presente documento en el contexto del tratamiento de una afección, se refiere en general al tratamiento y la terapia, ya sea de un ser humano o de un animal (por ejemplo, en aplicaciones veterinarias), en el que se consigue algún efecto terapéutico deseado, por ejemplo, la inhibición del progreso de la afección, e incluye una reducción de la velocidad de progreso, una detención de la velocidad de progreso, alivio de los síntomas de la afección, mejora de la afección y curación de la afección. También se incluye el tratamiento como medida profiláctica (es decir, profilaxis). Por ejemplo, el uso con pacientes que aún no han desarrollado la afección, pero que están en riesgo de desarrollar la afección, está abarcado por el término "tratamiento".

- 40 Por ejemplo, el tratamiento de la inflamación incluye la profilaxis de la inflamación, reducción de la incidencia de inflamación, reducción de la gravedad de la inflamación, alivio de los síntomas de la inflamación, etc.

- 45 La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a la cantidad de un compuesto, o un material, una composición o una forma farmacéutica que comprende un compuesto, que es eficaz para producir algún efecto terapéutico deseado, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable, cuando se administra de acuerdo con un régimen de tratamiento deseado.

Terapias combinadas

- 50 El término "tratamiento" incluye tratamientos combinados y terapias, en los que se combinan dos o más tratamientos o terapias, por ejemplo, de forma secuencial o simultánea. Por ejemplo, los compuestos descritos en el presente documento también se pueden usar en terapias combinadas, por ejemplo, junto con otros agentes, por ejemplo, agentes antiinflamatorios, etc. Los ejemplos de tratamientos y terapias incluyen quimioterapia (la administración de agentes activos, incluyendo, por ejemplo, fármacos, anticuerpos (por ejemplo, como en la inmunoterapia), profármacos (por ejemplo, como en la terapia fotodinámica, GDEPT, ADEPT, etc.); cirugía; radioterapia; terapia fotodinámica; genoterapia; y dietas controladas).

También se describe en el presente documento un compuesto como se describe en el presente documento, en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales.

- 55 60 65 La combinación particular sería a criterio del médico que seleccionaría dosificación usando su conocimiento general común y regímenes de dosificación conocidos por un facultativo experto.

Los agentes (es decir, el compuesto descrito en el presente documento, más uno o más agentes distintos) pueden administrarse de manera simultánea o secuencial y pueden administrarse en programas de dosis variables individualmente y a través de diferentes vías. Por ejemplo, cuando se administran secuencialmente, los agentes 5 pueden administrarse a intervalos poco separados (por ejemplo, durante un periodo de 5-10 minutos) o a intervalos más largos (por ejemplo, a 1, 2, 3, 4 o más horas de separación, o periodos incluso más largos cuando sea necesario), siendo la pauta posológica precisa acorde a las propiedades del agente o de los agentes terapéuticos.

10 Los agentes (es decir, el compuesto descrito aquí, más uno o más agentes distintos) se pueden formular juntos en una única forma farmacéutica o, como alternativa, los agentes individuales pueden formularse por separado y presentarse juntos en forma de un equipo, opcionalmente con instrucciones para su uso.

Otros usos

15 Los compuestos de HMC descritos en el presente documento también se pueden usar como parte de un ensayo *in vitro*, por ejemplo, para determinar si es probable que un hospedador candidato se beneficie del tratamiento con el compuesto en cuestión.

20 Los compuestos de HMC descritos en el presente documento también pueden usarse como patrón, por ejemplo, en un ensayo, para identificar otros compuestos, otros agentes antiinflamatorios, etc.

Equipos

25 También se describe en el presente documento un equipo que comprende (a) un compuesto de HMC como se describe en el presente documento o una composición que comprende un compuesto de HMC como se describe en el presente documento, por ejemplo, proporcionado preferentemente en un recipiente adecuado y/o con un embalaje adecuado; y (b) instrucciones de uso, por ejemplo, instrucciones escritas sobre cómo administrar el compuesto o la composición.

30 En una realización, el equipo comprende además uno o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4) agentes terapéuticos adicionales, como se describe en el presente documento.

Las instrucciones escritas también pueden incluir una lista de indicaciones para las que el principio activo es un tratamiento adecuado.

Vías de administración

El compuesto de HMC o la composición farmacéutica que comprende el compuesto de HMC puede administrarse a un sujeto por cualquier vía conveniente de administración, ya sea por vía sistémica/periférica o tópica (es decir, en el sitio de la acción deseada).

40 Las vías de administración incluyen oral (por ejemplo, por ingestión); bucal; sublingual; transdérmica (incluyendo, por ejemplo, por un parche, apósito, etc.); transmucosa (incluyendo, por ejemplo, por un parche, apósito, etc.); intranasal (por ejemplo, por aerosol nasal, gotas o de un atomizador o dispositivo de suministro de polvo seco); ocular (por ejemplo, por colirio); pulmonar (por ejemplo, por terapia de inhalación o insuflación usando, por ejemplo, un aerosol, por ejemplo, a través de la boca o la nariz); rectal (por ejemplo, por supositorio o enema); vaginal (por ejemplo, por óvulo vaginal); parenteral, por ejemplo, mediante inyección, incluyendo subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intraarterial, intracardíaca, intratecal, intrarraquídea, intracapsular, subcapsular, intraorbital, intraperitoneal, intratraqueal, subcuticular, intraarticular, subarachnoida e intraesternal; por implante de un depósito o reservorio, por ejemplo, por vía subcutánea o intramuscular.

50 En una realización preferida, la vía de administración es oral (por ejemplo, por ingestión).

En una realización preferida, la vía de administración es parenteral (por ejemplo, por inyección).

El sujeto/paciente

El sujeto/paciente puede ser un cordado, un vertebrado, un mamífero, un mamífero placentario, un marsupial (por ejemplo, canguro, wombat), un roedor (por ejemplo, una cobaya, un hámster, una rata, un ratón), murino (por ejemplo, un ratón), un lagomorfo (por ejemplo, un conejo), ave (por ejemplo, un pájaro), canino (por ejemplo, un perro), felino (por ejemplo, un gato), equino (por ejemplo, un caballo), porcino (por ejemplo, un cerdo), ovino (por ejemplo, una oveja), bovino (por ejemplo, una vaca), un primate, simio (por ejemplo, un mono o un homínido), un mono (por ejemplo, mono tití, babuino), un homínido (por ejemplo, gorila, chimpancé, orangután, gibón) o un ser humano. Asimismo, el sujeto/paciente puede estar en cualquiera de sus formas de desarrollo, por ejemplo, un feto.

65 En una realización preferida, el sujeto/paciente es un ser humano.

Formulaciones

Aunque es posible que el compuesto de HMC se administre solo, es preferible presentarlo como una formulación farmacéutica (por ejemplo, composición, preparación, medicamento) que comprende al menos un compuesto de HMC, 5 como se describe en el presente documento, junto con uno o más de otros ingredientes farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica, incluyendo vehículos, diluyentes, excipientes, adyuvantes, cargas, tampones, conservantes, antioxidantes, lubricantes, estabilizantes, solubilizantes, tensioactivos (por ejemplo, agentes humectantes), agentes de enmascaramiento, agentes colorantes, agentes aromatizantes y agentes edulcorantes farmacéuticamente aceptables. La formulación puede comprender además otros agentes activos, por ejemplo, otros 10 agentes terapéuticos o profilácticos.

Por tanto, también se describen en el presente documento composiciones farmacéuticas, como se han definido anteriormente, y métodos para elaborar una composición farmacéutica que comprende mezclar al menos un compuesto de HMC, como se describe en el presente documento, junto con uno o más de otros ingredientes 15 farmacéuticamente aceptables bien conocidos por los expertos en la técnica, por ejemplo, vehículos, diluyentes, excipientes, etc. Si se formula como unidades individuales (por ejemplo, comprimidos, etc.), cada unidad contiene una cantidad predeterminada (dosis) del compuesto.

La expresión "farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos, 20 ingredientes, materiales, composiciones, formas farmacéuticas, etc., que son, dentro del alcance del buen criterio médico, adecuados para su uso en contacto con los tejidos del sujeto en cuestión (por ejemplo, ser humano) sin una excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acordes con una relación de beneficio/riesgo razonable. Cada vehículo, diluyente, excipiente, etc. también debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación.

25 Los vehículos, diluyentes, excipientes, etc. adecuados se pueden encontrar en textos farmacéuticos convencionales, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18^a edición, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990; y Handbook of Pharmaceutical Excipients, 5^a edición, 2005.

30 Las formulaciones se pueden preparar mediante cualquier método bien conocido en el campo de la farmacia. Dichos métodos incluyen la etapa de asociar el compuesto con un vehículo que constituye uno o más ingredientes secundarios. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima el compuesto con vehículos (por ejemplo, vehículos líquidos, vehículo sólido finamente dividido, etc.) y, a continuación, dando forma al producto, si es necesario.

35 La formulación puede prepararse para proporcionar una liberación rápida o lenta; liberación inmediata, retardada, programada o sostenida; o una combinación de las mismas.

40 Las formulaciones pueden estar convenientemente en forma de líquidos, soluciones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), suspensiones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), emulsiones (por ejemplo, aceite en agua, agua en aceite), elixires, jarabes, electuarios, enjuagues bucales, gotas, comprimidos (incluyendo, por ejemplo, comprimidos recubiertos), gránulos, polvos, pastillas para chupar, pastillas, cápsulas (incluyendo, por ejemplo, cápsulas de gelatina dura y blanda), obleas, píldoras, ampollas, emboladas, supositorios, óvulos vaginales, tinturas, geles, pastas, pomadas, cremas, lociones, aceites, espumas, pulverizaciones, nebulizaciones o aerosoles.

45 Las formulaciones se pueden proporcionar adecuadamente como un parche, esparadrapo, vendaje, apósito o similar que está impregnado con uno o más compuestos y opcionalmente uno o más de otros ingredientes farmacéuticamente aceptables, incluyendo, por ejemplo, potenciadores de la penetración, permeación y absorción. Las formulaciones también pueden proporcionarse adecuadamente en forma de depósito o reservorio.

50 El compuesto puede disolverse en, suspenderse en o mezclarse con uno o más de otros ingredientes farmacéuticamente aceptables. El compuesto puede presentarse en un liposoma u otra micropartícula que está diseñada para dirigir el compuesto, por ejemplo, a componentes sanguíneos o uno o más órganos.

55 Las formulaciones adecuadas para la administración oral (por ejemplo, por ingestión) incluyen líquidos, soluciones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), suspensiones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), emulsiones (por ejemplo, aceite en agua, agua en aceite), elixires, jarabes, electuarios, comprimidos, gránulos, polvos, cápsulas, obleas, píldoras, ampollas, emboladas.

60 Las formulaciones adecuadas para la administración bucal incluyen enjuagues bucales, pastillas para chupar, pastillas, así como parches, esparadrapos, depósitos y reservorios. Las pastillas para chupar comprenden normalmente el compuesto en una base aromatizada, habitualmente sacarosa y goma arábica o tragacanto. Las pastillas comprenden normalmente el compuesto en una matriz inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábica. Los enjuagues bucales comprenden normalmente el compuesto en un vehículo líquido adecuado.

65 Las formulaciones adecuadas para la administración sublingual incluyen comprimidos, pastillas para chupar, pastillas,

cápsulas y píldoras.

Las formulaciones adecuadas para la administración transmucosa oral incluyen líquidos, soluciones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), suspensiones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), emulsiones (por ejemplo, aceite en agua, agua en aceite), enjuagues bucales, pastillas para chupar, pastillas, así como parches, esparadrapos, depósitos y reservorios.

5 Las formulaciones adecuadas para la administración transmucosa no oral incluyen líquidos, soluciones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), suspensiones (por ejemplo, acuosas, no acuosas), emulsiones (por ejemplo, aceite en agua, agua en aceite), supositorios, óvulos vaginales, geles, pastas, pomadas, cremas, lociones, aceites, así como parches, esparadrapos, depósitos y reservorios.

10 Las formulaciones adecuadas para la administración transdérmica incluyen geles, pastas, pomadas, cremas, lociones y aceites, así como parches, esparadrapos, vendajes, apósitos, depósitos y reservorios.

15

Los comprimidos pueden fabricarse por medios convencionales, por ejemplo, compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más ingredientes auxiliares. Los comprimidos preparados por compresión pueden prepararse mediante compresión en una máquina adecuada del compuesto en forma fluida tal como polvo o gránulos, opcionalmente mezclados con uno o más aglutinantes (por ejemplo, povidona, gelatina, goma arábiga, sorbitol, tragacanto, hidroxipropilmelcelulosa); cargas o diluyentes (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina, hidrogenofosfato de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco, sílice); disgregantes (por ejemplo, glicolato sódico de almidón, povidona reticulada, carboximetilcelulosa sódica reticulada); agentes tensioactivos o dispersantes o humectantes (por ejemplo, lauril sulfato de sodio); conservantes (por ejemplo, *p*-hidroxibenzoato de metilo, *p*-hidroxibenzoato de propilo, ácido sórbico); saporíferos, agentes potenciadores del sabor y edulcorantes. Los comprimidos moldeados se pueden elaborar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Opcionalmente, los comprimidos pueden recubrirse o ranurarse y pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del compuesto de los mismos usando, por ejemplo, hidroxipropilmelcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado. Los comprimidos pueden proporcionarse opcionalmente con un recubrimiento, por ejemplo, para afectar a la liberación, por ejemplo, un recubrimiento entérico, para proporcionar liberación en partes del intestino distintas del estómago.

30 Las pomadas se preparan normalmente a partir del compuesto y una base de pomada parafínica o miscible en agua.

35 Las cremas se preparan normalmente a partir del compuesto y una base de crema de aceite en agua. Si se desea, la fase acuosa de la base de crema puede incluir, por ejemplo, al menos aproximadamente el 30 % p/p de un alcohol polihídrico, es decir, un alcohol que tiene dos o más grupos hidroxilo tales como propilenglicol, butan-1,3-diol, manitol, sorbitol, glicerol y polietilenglicol, y mezclas de los mismos. Las formulaciones tópicas pueden incluir convenientemente un compuesto que potencie la absorción o la penetración del compuesto a través de la piel u otras zonas afectadas. Los ejemplos de dichos potenciadores de la penetración dérmica incluyen dimetilsulfóxido y análogos relacionados.

40 Las emulsiones se preparan normalmente a partir del compuesto y una fase oleosa, que puede comprender opcionalmente simplemente un emulsionante (también conocido como emulgente), o puede comprender una mezcla de al menos un emulsionante con una grasa o un aceite o con una grasa y un aceite.

45 Preferentemente, se incluye un emulsionante hidrófilo junto con un emulsionante lipófilo que actúa como estabilizante. También se prefiere incluir tanto un aceite como una grasa. En conjunto, el o los emulsionantes con o sin estabilizador o estabilizadores componen la denominada cera emulsionante y la cera junto con el aceite y/o la grasa componen la denominada base de pomada emulsionante que forma la fase oleosa dispersa de las formulaciones de crema.

50 Los emulgentes y estabilizantes de emulsión adecuados incluyen Tween 60, Span 80, alcohol cetoestearílico, alcohol miristílico, monoestearato de glicerilo y laurilsulfato de sodio. La elección de los aceites o grasas adecuados para la formulación se basa en lograr las propiedades cosméticas deseadas, ya que la solubilidad del compuesto en la mayoría de los aceites que probablemente se usen en formulaciones de emulsión farmacéutica puede ser muy baja. Por tanto,

55 la crema debería ser preferentemente un producto no graso, que no manche y lavable, con la consistencia adecuada para evitar la filtración desde tubos u otros recipientes. Pueden usarse ésteres de alquilo de cadena lineal o ramificada, mono o dibásicos tales como di-isoadipato, estearato de isocetilo, diéster de propilenglicol de ácidos grasos de coco, miristato de isopropilo, oleato de decilo, palmitato de isopropilo, estearato de butilo, palmitato de 2-ethylhexilo o una mezcla de ésteres de cadena ramificada conocida como Crodamol CAP, siendo los tres últimos los ésteres preferentes.

60 Estos pueden usarse solos o en combinación, dependiendo de las propiedades requeridas. Como alternativa, pueden usarse lípidos de punto de fusión alto tales como parafina blanca blanda y/o parafina líquida, u otros aceites minerales.

65 Las formulaciones adecuadas para administración intranasal, donde el vehículo es un líquido, incluyen, por ejemplo, aerosol nasal, gotas nasales o, mediante la administración de aerosol por nebulizador, incluyen soluciones acuosas u oleosas del compuesto.

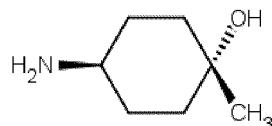
- Las formulaciones adecuadas para administración intranasal, donde el vehículo es un sólido, incluyen, por ejemplo, las presentadas como un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 20 a aproximadamente 500 micrómetros que se administra de la manera en que se toma el rapé, es decir, mediante inhalación rápida a través de las fosas nasales desde un recipiente que contiene el polvo y que se sujet a cerca de la nariz.
- 5 Las formulaciones adecuadas para la administración pulmonar (por ejemplo, Mediante terapia de inhalación o insuflación) incluyen las presentadas como una pulverización de aerosol de un envase presurizado, con el uso de un propulsor adecuado, tal como diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otros gases adecuados.
- 10 Las formulaciones adecuadas para la administración ocular incluyen colirios en los que el compuesto se disuelve o suspende en un vehículo adecuado, especialmente un disolvente acuoso para el compuesto.
- 15 Las formulaciones adecuadas para administración rectal pueden presentarse como un supositorio con una base adecuada que comprende, por ejemplo, aceites naturales o endurecidos, ceras, grasas, polioles líquidos o semilíquidos, por ejemplo, manteca de cacao o un salicilato; o como solución o suspensión para el tratamiento por enema.
- 20 Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como ovarios vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en aerosol que contienen además del compuesto, vehículos que se conocen en la técnica como adecuados.
- 25 Algunas formulaciones adecuadas para administración parenteral (por ejemplo, por inyección), incluyen líquidos estériles, acuosos o no acuosos, isotónicos, sin pirógenos (por ejemplo, soluciones, suspensiones), en los que el compuesto se disuelve, se suspende o se proporciona de otro modo (por ejemplo, en un liposoma u otra micropartícula). Dichos líquidos pueden contener adicionalmente otros ingredientes farmacéuticamente aceptables, tales como antioxidantes, tampones, conservantes, estabilizantes, bacteriostáticos, agentes de suspensión, agentes espesantes y solutos que hacen a la formulación isotónica con respecto a la sangre (u otro líquido corporal pertinente) del receptor deseado. Algunos ejemplos de excipientes incluyen, por ejemplo, agua, alcoholes, polioles, glicerol, aceites vegetales y similares. Los ejemplos de vehículos isotónicos adecuados para su uso en dichas formulaciones incluyen inyección de cloruro de sodio, solución de Ringer o inyección de solución de Ringer con lactato. Normalmente, la concentración del compuesto en el líquido es de aproximadamente 1 ng/ml a aproximadamente 10 µg/ml, por ejemplo, de aproximadamente 10 ng/ml a aproximadamente 1 µg/ml. Las formulaciones se pueden presentar en recipientes precintados unidosis o multidosis, por ejemplo, ampollas y viales, y pueden almacenarse en un estado criodesecado (liofilizado) que requiere únicamente la adición del vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua para inyecciones, inmediatamente antes de su uso. Se pueden preparar soluciones y suspensiones para inyección extemporáneas a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles.
- 30
- 35
- 40 Dosificación
- El experto en la técnica apreciará que las dosificaciones apropiadas de los compuestos de HMC y las composiciones que comprenden los compuestos de HMC, pueden variar entre pacientes. La determinación de la dosificación óptima implicará en general el equilibrio del nivel de beneficio terapéutico frente a cualquier riesgo o efecto secundario perjudicial. El nivel de dosis seleccionado dependerá de diversos factores, incluyendo la actividad de la composición de HMC particular, la vía de administración, el momento de la administración, la velocidad de secreción del compuesto de HMC, la duración del tratamiento, otros fármacos, compuestos y/o materiales usados en combinación, la gravedad de la afeción y la especie, el sexo, la edad, el peso, el estado, la salud en general y los antecedentes médicos previos del paciente. La cantidad de compuesto de HMC y la vía de administración será en última instancia a discreción del médico, veterinario o profesional clínico, aunque la dosificación se seleccionará en general para lograr unas concentraciones locales en el sitio de acción que consigan el efecto deseado sin causar efectos secundarios dañinos o perjudiciales considerables.
- 45
- 50
- 55 La administración puede efectuarse en una dosis, de forma continua o intermitente (por ejemplo, en dosis divididas a intervalos adecuados) a lo largo del transcurso del tratamiento. Los métodos para determinar el medio y la dosificación de administración más eficaces son bien conocidos por los expertos en la técnica y variarán según la formulación usada para la terapia, la finalidad de la terapia, la célula o células diana que traten y el sujeto que se trate. Las administraciones individuales o múltiples pueden llevarse a cabo con el nivel de dosis y el patrón seleccionados por el médico, veterinario o profesional clínico responsable.
- 60 En general, una dosis adecuada del compuesto de HMC está en el intervalo de aproximadamente 50 µg a aproximadamente 20 mg (más habitualmente de aproximadamente 100 µg a aproximadamente 10 mg) por kilogramo de peso corporal del sujeto al día. Para administración pulmonar (por ejemplo, por inhalación), una dosis adecuada está en el intervalo de aproximadamente 50 ng a aproximadamente 1 mg por kilogramo de peso corporal del sujeto al día. Cuando el compuesto es una sal, un éster, una amida, un profármaco o similares, la cantidad administrada se calcula en función del compuesto parental y, por lo tanto, el peso real que se va a usar se aumenta proporcionalmente.
- 65

Síntesis químicas

5 Los métodos para la síntesis química de los compuestos de HMC se describen en el presente documento. Estos y/u otros métodos bien conocidos (véase, por ejemplo, Greig *et al.*, 2010a; Bahmanyar *et al.*, 2010) pueden modificarse y/o adaptarse de formas conocidas para proporcionar métodos de síntesis alternativos o mejorados.

Síntesis A

10 (*1r,4r*)-4-Amino-1-metilciclohexan-1-ol

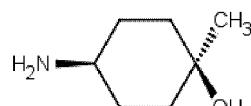


15 Se añadió hidróxido de paladio (50 % húmedo con agua; 2,0 g) a una solución agitada de (*1r,4r*)-4-(dibencilmonio)-1-metilciclohexanol (7,5 g, 24,2 mmol) en metanol (100 ml) en un autoclave de 300 ml. El autoclave se cargó con hidrógeno (50 atm; ~50 MPa) y se calentó a 80 °C durante 24 horas. La mezcla se enfrió y el catalizador se retiró por filtración. El filtrado se devolvió al autoclave y se añadió hidróxido de paladio (húmedo al 50% con agua; 3,0 g). El autoclave se cargó con hidrógeno (50 atm; ~50 MPa) y se calentó a 80 °C durante una noche. La mezcla se enfrió y el filtrado a través de celite y el filtrado se concentró para dar el compuesto del título en forma de un sólido gomoso de color blanquecino (3,2 g, cuant.).

20 RMN ^1H (400 MHz; CDCl_3) δ : 2,86-2,76 (1H, m), 1,84-1,76 (2H, m), 1,75-1,63 (2H, m), 1,55-1,43 (2H, m), 1,30 - 1,17 (5H, m).

Síntesis B

(*1s,4s*)-4-Amino-1-metilciclohexan-1-ol

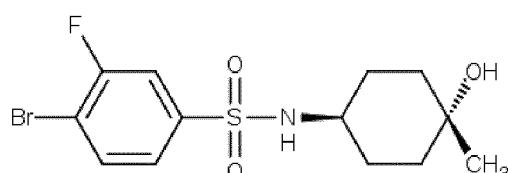


30 Se desbencilaron por separado cuatro lotes iguales de (*1s,4s*)-4-dibencilmonio-1-metilciclohexan-1-ol (cada lote era de 15 g, total 60 g) de la siguiente manera: A (*1s,4s*)-4-dibencilmonio-1-metilciclohexan-1-ol (15 g, 193,9 mmol) en etanol (450 ml) se le añadió hidróxido de paladio al 10% (15 g, catalizador húmedo al 50%). Las mezclas de reacción se lavaron abundantemente con nitrógeno seguido de gas hidrógeno y se agitaron en una atmósfera de hidrógeno durante 16 horas a temperatura ambiente. La solución se filtró a través de celite y se lavó con acetato de etilo adicional. Los filtrados de los cuatro lotes se combinaron y se evaporaron a presión reducida para producir el compuesto del título (23 g, rendimiento del 91,8%). El compuesto se usó sin purificación adicional en la siguiente etapa.

40 RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 2,6 (m, 1H), 1,74 - 1,56 (m, 4H), 1,5 - 1,3 (m, 7H), 1,21 (s, 3H).

Síntesis C

4-Bromo-3-fluoro-N-((*1r,4r*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)bencenosulfonamida

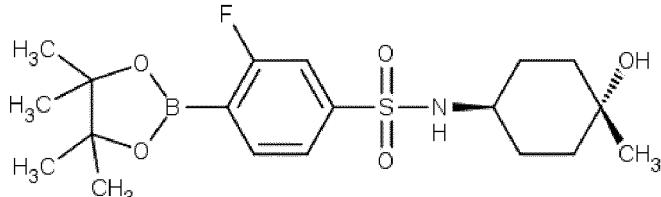


45 Se añadió diisopropiletilamina (20 ml, 116,2 mmol) a una solución de (*1r,4r*)-4-amino-1-metilciclohexanol (3 g, 23,2 mmol) en diclorometano (150 ml) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se añadió cloruro de 4-bromo-3-fluorobenceno-1-sulfonilo (6,98 g, 25,5 mmol) en forma de un sólido y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido clorhídrico 1 M y el compuesto se extrajo en diclorometano. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se lavó con n-pentano, se filtró y se secó para dar el compuesto del título (7 g, 82%).

EM (IEN) m/z 368[M+H].

Síntesis D3-Fluoro-N-((1*r*,4*r*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida

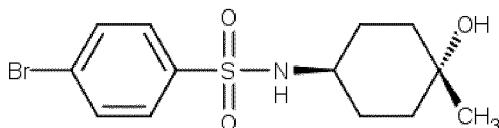
5



Una solución agitada de tolueno (50 ml), 4-bromo-3-fluoro-N-((1*r*,4*r*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)bencenosulfonamida (9 g, 24,6 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (9,33 g, 36,7 mmol) y acetato potásico (7,23 g, 73,7 mmol) se desgasificó usando argón durante 10 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfino) ferroceno]dicloropaladio (II) (1,8 g, 2,5 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó durante otros 10 minutos y se agitó a 110 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se filtró a través de celite. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (10 g, 98%). Para lotes a gran escala, el compuesto se usó sin purificación adicional. Cuando esta preparación se realizó a menor escala, el residuo se recogió en éter, se filtró y el filtrado se concentró para dar el producto deseado.

EM (IEN) *m/z* 412[M-H].Síntesis E

20

4-Bromo-N-((1*r*,4*r*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)bencenosulfonamida

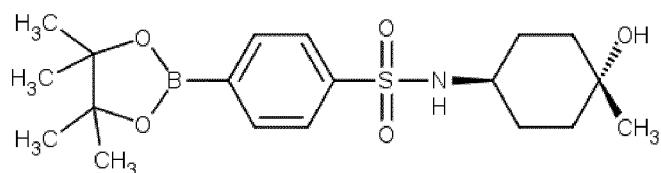
Se añadió diisopropiletilamina (24 ml, 137,8 mmol) a una solución de (1*r*,4*r*)-4-amino-1-metilciclohexanol (3,6 g, 27,86 mmol) en diclorometano (150 ml) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se añadió cloruro de 4-bromobenceno-1-sulfonilo (7,83 g, 30,6 mmol) en forma de un sólido y la mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido clorhídrico 1 M y el compuesto se extrajo en diclorometano. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se lavó con pentano, se filtró y se secó para dar el compuesto del título (7 g, 72%).

RMN ¹H (400 MHz; CDCl₃) δ: 7,74 (2H, d), 7,65 (2H, d), 4,77-4,61 (1H, m), 3,33-3,23 (1H, m), 1,85-1,75 (2H, m), 1,63-1,51 (2H, m), 1,49-1,30 (4H, m), 1,20 (3H, s).

35

CLEM: (Tiempo de ejecución: 3,5 min): Tiempo de retención: 1,33 min (97%, EM (IEN) *m/z* 346[M-H]).Síntesis F

40

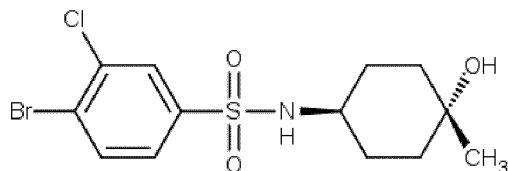
N-((1*r*,4*r*)-4-Hidroxi-4-metilciclohexil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida

Una solución de 4-bromo-N-((1*r*,4*r*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)bencenosulfonamida (9 g, 25,8 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (9,87 g, 38,9 mmol) y acetato potásico (7,6 g, 77,5 mmol), en tolueno (50 ml) se desgasificó usando argón durante 10 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfino) ferroceno]dicloropaladio (II) (1,8 g, 2,5 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó durante otros 10 minutos y se agitó a 100 °C durante 4 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida y el compuesto se extrajo en acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (8 g, 78 %). Para lotes a gran escala, el compuesto se usó sin purificación adicional. Cuando esta preparación se realizó a menor escala, el residuo se recogió en éter, se filtró y el filtrado se concentró para dar el producto deseado.

EM (IEN) m/z 394[M-H].

Síntesis G

- 5 4-Bromo-3-cloro-N-((1 r ,4 r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)bencenosulfonamida

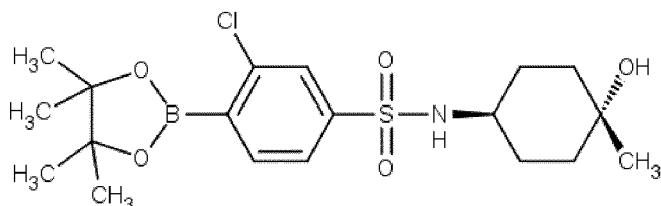


- 10 A una solución de (1 r ,4 r)-4-amino-1-metilciclohexanol (1,2 g, 9,29 mmol) en diclorometano (50 ml) se le añadió diisopropiletilamina (2,99 g, 23,13 mmol) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se añadió cloruro de 4-bromo-3-clorobencenosulfonilo cloruro (2,61 g, 9,0 mmol) y la mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3-4 horas. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido clorhídrico 1 M y el compuesto se extrajo en diclorometano. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se lavó con pentano, se filtró y se secó para proporcionar el compuesto del título (2,1 g, 59%).

- 15 EM (IEN) m/z 380[M-H].

Síntesis H

- 20 3-Cloro-N-((1 r ,4 r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida

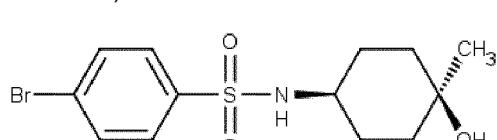


- 25 Una solución de 4-bromo-3-cloro-N-((1 r ,4 r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil) bencenosulfonamida (1 g, 2,61 mmol), 4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (0,729 g, 2,87 mmol) y acetato potásico (0,767 g, 7,82 mmol) en tolueno (30 ml) se desgasificó usando argón durante 10 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfino) ferroceno]dicloropaladio (II) (0,19 g, 0,26 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó durante otros 10 minutos y se agitó a 100 °C durante 4 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida y el compuesto se extrajo en acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para proporcionar el compuesto del título (1,2 g, 100%). El compuesto se usó sin purificación en la siguiente etapa.

EM (IEN) m/z 428[M-H].

Síntesis I

- 35 4-Bromo-N-((1 s ,4 s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)bencenosulfonamida

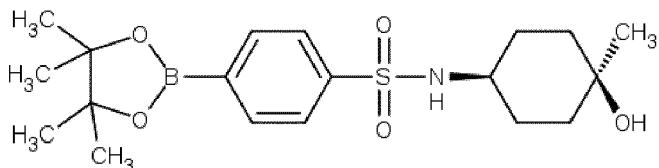


- 40 A una solución de (1 s ,4 s)-4-amino-1-metilciclohexan-1-ol (2 g, 15,48 mmol) en diclorometano (100 ml) se le añadió diisopropiletilamina (5 g, 38,68 mmol) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se añadió cloruro de 4-bromobenceno-1-sulfonilo (4,35 g, 17,02 mmol) y la mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 3-4 horas. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido clorhídrico 1 M y el compuesto se extrajo en diclorometano. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se lavó con pentano, se filtró y se secó para proporcionar el compuesto del título (3,6 g, 67 %).

EM (IEN) m/z 346[M-H].

Síntesis J

- 50 N-((1 s ,4 s)-4-Hidroxi-4-metilciclohexil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida

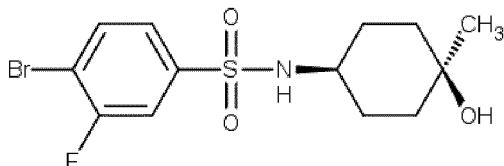


5 Una solución de 4-bromo-N-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)bencenosulfonamida (3,5 g, 10,05 mmol),
4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (2,8 g, 11,03 mmol) y acetato potásico (2,9 g, 29,5 mmol) en
tolueno (45 ml) se desgasificó usando argón durante 10 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (0,737 g, 1,01 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó durante otros
10 min y se agitó a 100 °C durante 4 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida y el compuesto se extrajo en
acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida para
proporcionar el compuesto del título (3,6 g, 91 %). El compuesto se usó sin purificación en la siguiente etapa.

EM (IEN) m/z 394[M-H].

Síntesis K

15 4-Bromo-3-fluoro-N-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)bencenosulfonamida

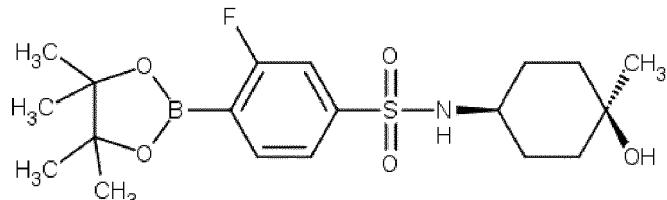


20 A una solución de (1s,4s)-4-amino-1-metilciclohexan-1-ol (1 g, 7,74 mmol) en diclorometano (80 ml), se le añadió
diisopropiletilamina (2,5 g, 19,3 mmol) y la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C. Se añadió cloruro de 4-bromo-3-
fluorobencenosulfonilo (2,33 g, 8,5 mmol) y la mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante
3-4 horas. La mezcla de reacción se neutralizó con ácido clorhídrico 1 M y el compuesto se extrajo en diclorometano.
La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El residuo obtenido se
lavó con pentano, se filtró y se secó para proporcionar el compuesto del título (1,6 g, 56 %).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8,03 - 7,90 (m, 1 H), 7,87 - 7,70 (m, 2 H), 7,61 - 7,54 (m, 1 H), 2,97 - 2,84 (m, 1 H),
1,59 - 1,37 (m, 4 H), 1,36 - 1,14 (m, 4 H), 1,01 (s, 3H).

30 Síntesis L

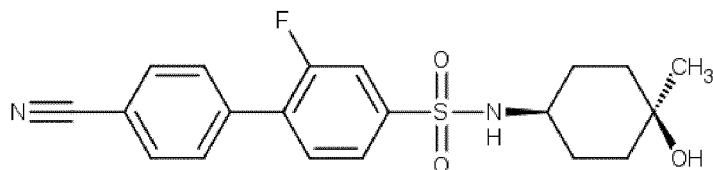
3-Fluoro-N-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida



35 Una solución de 4-bromo-3-fluoro-N-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)bencenosulfonamida (1,6 g, 4,37 mmol),
4,4,4',4',5,5,5',5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (1,22 g, 4,8 mmol) y acetato potásico (1,28 g, 13 mmol) en
tolueno (40 ml) se desgasificó usando argón durante 10 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfino)
ferroceno]dicloropaladio (II) (0,319 g, 0,44 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó durante otros 10 minutos y
se agitó a 110 °C durante 2 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se diluyó con acetato de
etilo. La capa orgánica se separó por filtración de los sólidos no disueltos, se secó sobre sulfato de sodio y se concentró
a presión reducida para producir el compuesto del título (rendimiento 1,5 g en bruto). El compuesto se usó sin
purificación en la siguiente etapa.

45 Síntesis M

4'-Ciano-2-fluoro-N-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida (**HMC-C-07-B**)



Una solución agitada de 3-fluoro-N-((1s,4s)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida (1,5 g, 3,63 mmol), 4-bromobenzonitrilo (1,63 g, 8,96 mmol) y carbonato sódico (0,961 g, 9,07 mmol) en 1,4-dioxano:agua (30:3 ml) se desgasificó usando argón durante 10 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (0,2649 g, 0,36 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó durante otros 10 minutos y se agitó a 80 °C durante 8 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando gel de sílice de malla 230-400 con acetato de etilo al 10-60 % en hexano como eluyente. El residuo resultante se lavó con hexano seguido de n-pentano para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanquecino (0,23 g, 16%).

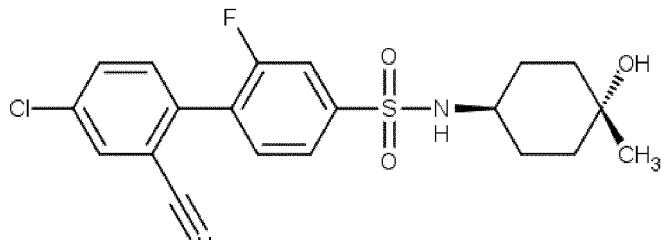
RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8,00 (d, J = 8,37 Hz, 2H), 7,90-7,79 (m, 4H), 7,79-7,71 (m, 2H), 4,01 (s, 1H), 3,05-2,90 (m, 1H), 1,62-1,48 (m, 2H), 1,48-1,32 (m, 4H), 1,27-1,13 (m, 2H), 1,02 (s, 3H).

CLEM: fase móvil A: formiato amónico 5 mM en agua + amoniaco al 0,1%, fase móvil B: acetonitrilo + fase móvil A al 5% + amoniaco al 0,1%; Columna: YMC Triart, C18 (50X4,6 mm) 3 um; Caudal: 1,4 ml/min. Tiempo de ejecución: 4,5 minutos - disolvente de partida 10:90 B: A aumenta linealmente a 95:5 B: A durante los primeros 2,5 minutos, mantenido a 95: 5 B: A durante 0,5 min, se redujo linealmente a 10:90 B: A durante 1 min y se mantuvo a 10:90 B: A durante los últimos 0,5 min. Tiempo de retención 2,39 min m/z 387[M-H].

20

Síntesis N

4'-Cloro-2'-ciano-2-fluoro-N-((1r,4r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida (**HMC-C-08-A**)



25

Una solución agitada de 3-fluoro-N-((1r,4r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida (1,3 g, 3,15 mmol) 2-bromo-5-clorobenzonitrilo (1,7 g, 7,85 mmol), carbonato sódico (0,834 g, 7,87 mmol) en dioxano:agua (20:2 ml) se desgasificó usando argón durante 10 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (0,230 g, 0,31 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó durante otros 10 minutos y se agitó a 110 °C durante 6 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida y el compuesto se extrajo en acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando gel de sílice de malla 100-200 con acetato de etilo al 10-60% en hexano como eluyente. El material resultante se lavó con hexano seguido de n-pentano para proporcionar el compuesto del título (0,16 g, 12%).

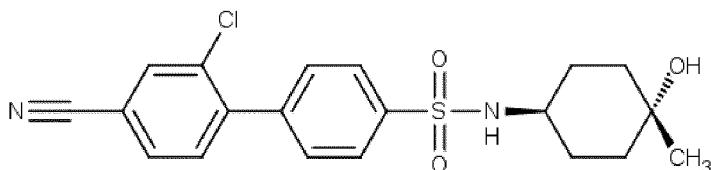
RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,85 - 7,64 (m, 4H), 7,61 - 7,54 (m, 1H), 7,52 - 7,44 (m, 1H), 4,62 - 4,52 (m, 1H), 3,5 - 3,35 (m, 1H), 1,98 - 1,82 (m, 2H), 1,55 - 1,35 (m, 5H), 1,24 (s, 3H).

CLEM: fase móvil A: formiato amónico 5 mM en agua + amoniaco al 0,1%, fase móvil B: acetonitrilo + fase móvil A al 5% + amoniaco al 0,1%; Columna: YMC Triart, C18 (50X4,6 mm) 3 um; Caudal: 1,4 ml/min. Tiempo de ejecución: 4,5 minutos - disolvente de partida 10:90 B: A aumenta linealmente a 95:5 B: A durante los primeros 2,5 minutos, mantenido a 95: 5 B: A durante 0,5 min, se redujo linealmente a 10:90 B: A durante 1 min y se mantuvo a 10:90 B: A durante los últimos 0,5 min. Tiempo de retención 2,35 min m/z 421[M-H].

45

Síntesis O

2'-Cloro-4'-ciano-N-((1r,4r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida (**HMC-C-09-A**)



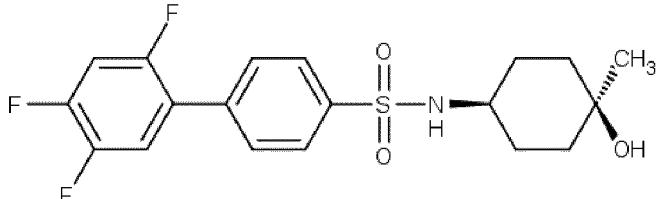
Una solución agitada de *N*-((1*r*,4*r*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida (1,7 g, 4,30 mmol), 3,4-diclorobenzonitrilo (1,85 g, 10,8 mmol) y carbonato sódico (1,14 g, 10,8 mmol) en dioxano:agua (25:3 ml) se desgasificó usando argón durante 10 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (0,315 g, 0,43 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó durante otros 10 minutos y se agitó a 110 °C durante 6 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida y el compuesto se extrajo en acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando gel de sílice de malla 230-400 con acetato de etilo al 10-60% en hexano como eluyente. El material resultante se lavó con hexano seguido de n-pentano para proporcionar el compuesto del título (0,58 g, 33%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,97 (d, J = 8,2 Hz, 2H), 7,83 - 7,78 (m, 1H), 7,68 - 7,62 (m, 1H), 7,57 (d, J = 8 Hz, 2H), 7,46 (d, J = 8 Hz, 1H), 4,55 - 4,45 (m, 1H), 3,42 - 3,32 (m, 1H), 1,94 - 1,82 (m, 2H), 1,67 - 1,55 (m, 2H), 1,55 - 1,35 (m, 4H), 1,23 (s, 3H), 1,11 (s a, 1H).

CLEM: fase móvil A: formiato amónico 5 mM en agua + amoniaco al 0,1%, fase móvil B: acetonitrilo + fase móvil A al 5% + amoniaco al 0,1%; Columna: YMC Triart, C18 (50X4,6 mm) 3 um; Caudal: 1,4 ml/min. Tiempo de ejecución: 4,5 minutos - disolvente de partida 10:90 B: A aumenta linealmente a 95:5 B: A durante los primeros 2,5 minutos, mantenido a 95: 5 B: A durante 0,5 min, se redujo linealmente a 10:90 B: A durante 1 min y se mantuvo a 10:90 B: A durante los últimos 0,5 min. Tiempo de retención 2,26 min m/z 403[M-H].

Síntesis P

25 2',4',5'-Trifluoro-*N*-((1*s*,4*s*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida (**HMC-C-10-B**)



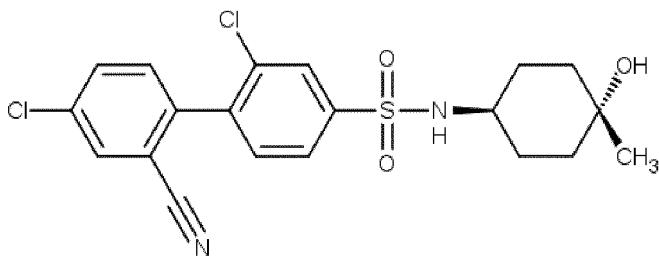
Una solución agitada de *N*-((1*s*,4*s*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida (1,8 g, 4,55 mmol), 1-bromo-2,4,5-trifluorobenceno (2,4 g, 11,4 mmol) y carbonato sódico (1,2 g, 11,3 mmol) en dioxano:agua (30:3 ml) se desgasificó usando argón durante 10 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dicloropaladio (II) (0,333 g, 0,455 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó durante otros 10 minutos y se agitó a 110 °C durante 6 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida y el compuesto se extrajo en acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando gel de sílice de malla 230-400 con acetato de etilo al 10-60% en hexano como eluyente. El residuo resultante se lavó con hexano seguido de n-pentano para proporcionar el compuesto del título (0,60 g, 33%).

RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 8,00 - 7,91 (m, 2H), 7,66 - 7,58 (m, 2H), 7,33 - 7,27 (m, 1H), 7,12 - 7,02 (m, 1H), 4,42 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 3,25 - 3,11 (m, 1H), 1,77 - 1,45 (m, 7H), 1,45 - 1,32 (m, 2H), 1,20 (s, 3H).

CLEM: fase móvil A: formiato amónico 5 mM en agua + amoniaco al 0,1%, fase móvil B: acetonitrilo + fase móvil A al 5% + amoniaco al 0,1%; Columna: YMC Triart, C18 (50X4,6 mm) 3 um; Caudal: 1,4 ml/min. Tiempo de ejecución: 4,5 minutos - disolvente de partida 10:90 B: A aumenta linealmente a 95:5 B: A durante los primeros 2,5 minutos, mantenido a 95: 5 B: A durante 0,5 min, se redujo linealmente a 10:90 B: A durante 1 min y se mantuvo a 10:90 B: A durante los últimos 0,5 min. Tiempo de retención 2,53 min m/z 398[M-H].

Síntesis Q

50 2,4'-Dicloro-2'-ciano-*N*-((1*r*,4*r*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida (**HMC-C-11-A**)



Una solución agitada de 3-cloro-N-((1r,4r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida (1,122 g, 2,61 mmol), 2-bromo-5-clorobenzonitrilo (1,41 g, 6,51 mmol) y carbonato sódico (0,691 g, 6,52 mmol) en dioxano:agua (30:3 ml) se desgasificó usando argón durante 10 minutos.

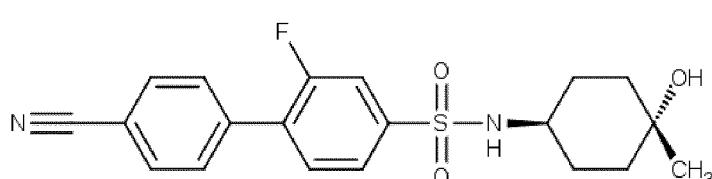
Se añadió [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dcloropaladio (II) (0,190 g, 0,26 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó durante otros 10 minutos y se agitó a 110 °C durante 6 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida y el compuesto se extrajo en acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía de fluidos supercríticos (SFC) usando una columna de sílice-2-etilpiridina y mezclas de dióxido de carbono líquido:metanol (metanol comenzando al 10%, aumentando al 40% y regresando al 10% durante un tiempo de ejecución de 19 minutos) para producir el compuesto del título (0,285 g, 25%).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8,25 (d, J = 2,2 Hz, 1H), 8,04 - 8,01 (m, 1H), 7,97 - 7,83 (m, 3H), 7,75 - 7,64 (m, 2H), 4,14 (s, 1H), 3,2 - 3,1 (m, 1H), 1,7 - 1,55 (m, 2H), 1,55 - 1,42 (m, 2H), 1,33 - 1,2 (m, 4H), 1,06 (s, 3H).

CLEM: fase móvil A: formiato amónico 5 mM en agua + amoniaco al 0,1%, fase móvil B: acetonitrilo + fase móvil A al 5% + amoniaco al 0,1%; Columna: YMC Triart, C18 (50X4,6 mm) 3 um; Caudal: 1,4 ml/min. Tiempo de ejecución: 4,5 minutos - disolvente de partida 10:90 B: A aumenta linealmente a 95:5 B: A durante los primeros 2,5 minutos, mantenido a 95: 5 B: A durante 0,5 min, se redujo linealmente a 10:90 B: A durante 1 min y se mantuvo a 10:90 B: A durante los últimos 0,5 min. Tiempo de retención 2,48 min m/z 437[M-H].

Síntesis R

4'-Ciano-2-fluoro-N-((1r,4r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-[1,1'-bifenil]-4-sulfonamida (**HMC-C-07-A**)



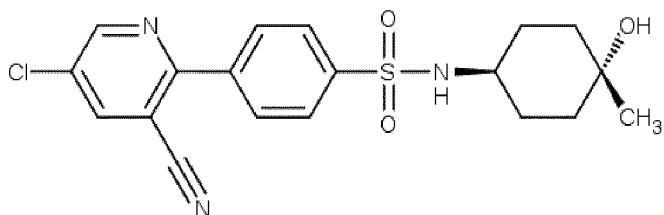
Una solución agitada de 3-fluoro-N-((1r,4r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida (1,3 g, 3,15 mmol), 4-bromobenzonitrilo (1,43 g, 7,86 mmol) y carbonato sódico (0,834 g, 7,87 mmol) en dioxano:agua (20:2 ml) se desgasificó usando argón durante 10 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfino)ferroceno]dcloropaladio (II) (0,230 g, 0,314 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó durante otros 10 minutos y se agitó a 110 °C durante 6 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida y el compuesto se extrajo en acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando gel de sílice de malla 230-400 con acetato de etilo al 10-60% en hexano como eluyente. El material resultante se lavó con hexano seguido de n-pentano para proporcionar el compuesto del título (0,28 g, 23 %).

RMN ¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8,00 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,86 - 7,80 (m, 4H), 7,78 - 7,72 (m, 2H), 4,14 (s, 1H), 3,21 - 3,09 (m, 1H), 1,70 - 1,56 (m, 2H), 1,55 - 1,42 (m, 2H), 1,34-1,20 (m, 4H), 1,06 (s, 3H).

CLEM: fase móvil A: formiato amónico 5 mM en agua + amoniaco al 0,1%, fase móvil B: acetonitrilo + fase móvil A al 5% + amoniaco al 0,1%; Columna: YMC Triart, C18 (50X4,6 mm) 3 um; Caudal: 1,4 ml/min. Tiempo de ejecución: 4,5 minutos - disolvente de partida 10:90 B: A aumenta linealmente a 95:5 B: A durante los primeros 2,5 minutos, mantenido a 95: 5 B: A durante 0,5 min, se redujo linealmente a 10:90 B: A durante 1 min y se mantuvo a 10:90 B: A durante los últimos 0,5 min. Tiempo de retención 2,22 min m/z 387[M-H].

Síntesis S

4-(5-Cloro-3-cianopiridin-2-il)-N-((1r,4r)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)bencenosulfonamida (**HMC-N-05-A**)



Una solución agitada de N-((1*r*,4*r*)-4-hidroxi-4-metilciclohexil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)bencenosulfonamida (1,7 g, 4,30 mmol), 2,5-dicloronicotinonitrilo (1,86 g, 10,75 mmol) y carbonato sódico (1,14 g, 10,8 mmol) en dioxano:agua (25:3 ml) se desgasificó usando argón durante 10 minutos. Se añadió [1,1-bis(difenilfosfino) ferroceno]dicloropaladio (II) (0,315 g, 0,43 mmol) y la mezcla de reacción se desgasificó durante otros 10 minutos y se agitó a 110 °C durante 6 horas. El disolvente se evaporó a presión reducida y el compuesto se extrajo en acetato de etilo. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando gel de sílice de malla 230-400 con acetato de etilo al 10-60% en hexano como eluyente. El material resultante se lavó con hexano seguido de n-pentano para proporcionar el compuesto del título (0,63 g, 36 %).

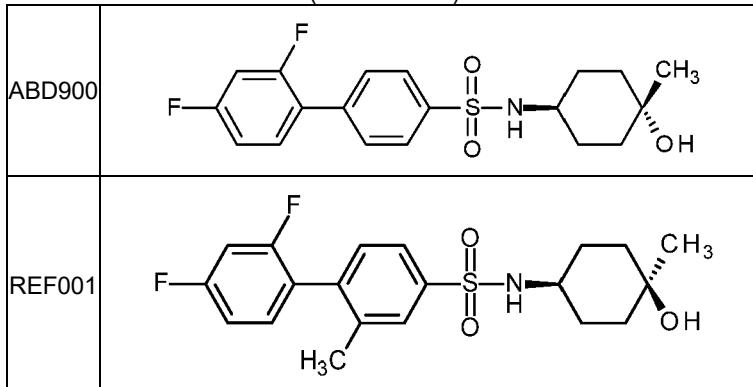
RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ : 8,86 (d, $J = 2,4$ Hz, 1H), 8,13 - 7,99 (m, 5H), 4,53 (d, $J = 6,8$ Hz, 1H), 3,42 - 3,32 (m, 1H), 1,92 - 1,81 (m, 2H), 1,66 - 1,54 (m, 2H), 1,53 - 1,36 (m, 4H), 1,23 (s, 3H), 1,12 (s a, 1H).
 15 CLEM: fase móvil A: formiato amónico 5 mM en agua + amoniaco al 0,1%, fase móvil B: acetonitrilo + fase móvil A al 5% + amoniaco al 0,1%; Columna: YMC Triart, C18 (50X4,6 mm) 3 um; Caudal: 1,4 ml/min. Tiempo de ejecución: 4,5 minutos - disolvente de partida 10:90 B: A aumenta linealmente a 95:5 B: A durante los primeros 2,5 minutos, mantenido a 95: 5 B: A durante 0,5 min, se redujo linealmente a 10:90 B: A durante 1 min y se mantuvo a 10:90 B: A durante los últimos 0,5 min. Tiempo de retención 2,20 min m/z 406[M+H].
 20

Compuestos adicionales

Los siguientes compuestos también se prepararon para su uso como compuestos de referencia en los estudios biológicos descritos en el presente documento:

Código	Estructura
ABD599	
ABD735	
ABD836	
ABD899	

(continuación)

Estudios biológicos

- 5 La potencia se evaluó usando un ensayo de viabilidad basado en la supervivencia de la línea celular de macrófagos J774. Los macrófagos están estrechamente relacionados con los osteoclastos y se han usado anteriormente como un sistema modelo para la supervivencia de los osteoclastos (véase, por ejemplo, Luckman *et al.*, 1998, "Heterocycle-containing bisphosphonates cause apoptosis and inhibit bone resorption by preventing protein prenylation: evidence from structure-activity relationships in J774 macrophages", *J. Bone Miner. Res.*, vol. 13, págs. 1668-1678). El modelo es indicativo tanto de los efectos sobre la protección ósea en enfermedades tales como la osteoporosis, osteoartritis y artritis reumatoide, como de los efectos sobre la inflamación ya que, como los osteoclastos, los macrófagos J774 dependen para su supervivencia de la activación continua de NF κ B.
- 10 15 Los efectos antiinflamatorios se caracterizaron adicionalmente mediante la evaluación de la producción de interleucina-6 (IL-6) por macrófagos humanos procedentes de Thp-1 estimulados con un lipopolisacárido (LPS) bacteriano estimulante proinflamatorio. El LPS actúa con un receptor de superficie celular, receptor tipo Toll-4 para activar las vías de señalización de NF κ B e IRF para producir IL-6. La reducción de IL-6 en este ensayo estimulado es indicativa de efectos antiinflamatorios con utilidad en el tratamiento de afecciones en las que la producción de IL-6 es aberrante.
- 20 25 El potencial de los compuestos para inhibir una familia de enzimas metabolizadoras de fármacos conocida como citocromo P450 (CYP450) es un determinante clave de su potencial como compuestos terapéuticos. Los compuestos se probaron frente a un sustrato de sonda de control en un sistema de bactosoma recombinante en el que se sobreexpresan enzimas CYP450 clave. La reducción de la actividad de CYP450 en este ensayo es indicativa del potencial de un compuesto para influir en sus propios niveles farmacológicos en plasma, y los de otros, en el ser humano y potencialmente conducir a reacciones farmacológicas adversas de toxicidad.

Además, se evaluó la toxicidad potencial en un ensayo de canal iónico humano Ether-a-go-go (hERG). hERG contribuye a la actividad eléctrica que coordina los latidos del corazón y su inhibición puede dar lugar a un trastorno potencialmente letal denominado síndrome de QT largo. De este modo, debe evitarse la inhibición de hERG en el desarrollo de fármacos.

También se realizaron estudios *in vivo* para evaluar el potencial de estos compuestos como fármacos.

- 30 Se evaluó la farmacocinética en ratas.
35 Se evaluaron los efectos sobre la enfermedad en un modelo de ratón de artritis inducida por colágeno.

Estudio biológico 1

- 40 Ensayo de viabilidad de macrófagos J774 con resazurina

La potencia *in vitro* de los compuestos de prueba se determinó mediante incubación con macrófagos J774 y posterior determinación de la viabilidad celular usando resazurina.

- 45 50 La resazurina es un colorante redox usado habitualmente como indicador de la viabilidad en células cultivadas (véase, por ejemplo, Anoopkumar-Dukie, 2005, "Resazurin assay of radiation response in cultured cells", *British Journal of Radiology*, vol. 78, págs. 945-947). No es tóxico para las células y es estable en medio de cultivo, lo que permite la medición continua de la proliferación celular *in vitro* como ensayo cinético o de punto final. El ensayo se basa en la capacidad de las células viables, metabólicamente activas, para reducir la resazurina (que es azul y no fluorescente) a resorufina y dihidrorresorufina (que son rojas y fluorescentes) usando electrones de especies reductoras, tales como el dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADPH) y el dinucleótido de flavina y adenina (FADH). Esta transformación, de forma oxidada a forma reducida, puede medirse de forma colorimétrica o fluorométrica. Las lesiones que alteran la

viabilidad y la proliferación celular también afectan a la capacidad de las células para reducir la resazurina y la tasa de reducción del colorante es directamente proporcional al número de células viables presentes.

- 5 Para mediciones de fluorescencia, normalmente se usan longitudes de onda de excitación de 530-560 nm y de emisión de 590 nm. Para mediciones colorimétricas, normalmente se mide la absorbancia a 570 nm (forma reducida) y 600 nm (forma oxidada). Se realiza un cálculo sencillo para determinar las cantidades relativas de las dos especies: una alta relación de resorufina (la forma reducida) con respecto a resazurina (la forma oxidada) es un indicador de que las células están proliferando y son viables. Una relación baja indica células que están inactivas o no son viables.
- 10 Se sembraron células J774 a 10^4 células por pocillo en 100 μl de αMEM (medio de Eagle con modificación α) en placas de 96 pocillos y se dejó adherir durante una noche. Al día siguiente, los compuestos de prueba se prepararon como soluciones 100 mM en DMSO. Estas soluciones de reserva se diluyeron en DMSO y después se diluyeron 1000x en medio de cultivo (αMEM) antes de añadirse directamente a los pocillos para proporcionar la concentración final deseada del compuesto. Después de 72 horas de incubación a 37 °C / CO₂ al 5 %, se añadió resazurina (Alamar Blue, Biosource International) a cada pocillo (1:10 v/v, 10 μl). A continuación, la placa se incubó a 37 °C durante 3 horas y se midió la fluorescencia a 590 nm, con un ancho de banda de 25 nm.

- 20 Los resultados promedio para cada compuesto de prueba se expresaron como un porcentaje (%) del valor de control promedio que refleja la viabilidad celular. A continuación, se representaron gráficamente los valores promedios de todas las concentraciones analizadas y se calculó una Cl_{50} ajustando los datos a una ecuación de Cl_{50} de 4 parámetros usando el programa informático GraphPad Prism para Windows (GraphPad Software, San Diego, California, Estados Unidos) o Grafit versión 5 (Erithacus Software). Cada experimento se repitió dos veces y los datos se presentan como la Cl_{50} media de ambos experimentos.

- 25 Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 1 Ensayo de viabilidad de macrófagos J774 con resazurina		
Compuesto	Cl_{50} (μM) ^(a)	Cl_{50} (μM) ^(a)
ABD599	0,41 (n=2) ⁽¹⁾	
ABD735	0,07 (n=3) ⁽¹⁾	0,11 (n=5) ⁽²⁾
ABD836	1,45 (n=2) ⁽¹⁾	
ABD899	0,27 (n=3) ⁽¹⁾	0,21 (n=5) ⁽²⁾
ABD900	3,64 (n=3) ⁽¹⁾	2,91 (n=5) ⁽²⁾
REF001	0,05 (n=2) ⁽¹⁾	
HMC-C-07-A		1,66 (n=2) ⁽²⁾
HMC-C-07-B	0,09 (n=2) ⁽²⁾	0,096 (n=4) ⁽²⁾
HMC-C-08-A		1,25 (n=2) ⁽²⁾
HMC-C-09-A		0,69 (n=2) ⁽²⁾
HMC-C-10-B		0,54 (n=2) ⁽²⁾
HMC-C-11-A		1,46 (n=2) ⁽²⁾
HMC-N-05-A		1,82 (n=2) ⁽²⁾

(a) El número de repeticiones experimentales se muestra entre paréntesis, por ejemplo, n=2 indica que cada experimento se realizó dos veces y la Cl_{50} mostrada es la media de ambos resultados. Cuando el número de repeticiones experimentales ha aumentado en la segunda columna con respecto a la primera, se realizaron repeticiones adicionales del experimento y el nuevo resultado mostrado es un promedio de los experimentos originales y nuevos.

(1) Resultados de un ensayo de viabilidad de macrófagos con resazurina realizado en un intervalo de concentración de 10 puntos de 30 μM a 1,5 nM con n=3 repeticiones por concentración. Se calcularon las Cl_{50} usando Grafit versión 5 (Erithacus Software).

(2) Resultados de un ensayo de viabilidad de macrófagos con resazurina realizado en un intervalo de concentración de 12 puntos de 10 μM a 0,5 nM con n=4 repeticiones por concentración. Se calcularon las Cl_{50} usando el programa informático GraphPad Prism versión 5 para Windows (GraphPad Software).

- Estos datos demuestran que los compuestos de HMC descritos en el presente documento muestran una potencia excelente en el ensayo de viabilidad de macrófagos J774 con resazurina y ninguna pérdida de potencia en comparación con los compuestos de referencia. HMC-C-07-B en particular muestra una excelente actividad.

Estudio biológico 2

- 35 Ensayo de liberación de IL-6 de macrófagos Thp1
- La potencia *in vitro* de los compuestos de prueba en células humanas se determinó mediante incubación con macrófagos Thp1 y estimulación posterior con un estímulo inflamatorio (lipopolisacárido bacteriano (LPS)) seguido de medición de la liberación de interleucina-6 (IL-6) celular.

El ensayo es muy indicativo de efectos sobre la inflamación. El LPS es un ligando para el receptor de tipo Toll-4 (TLR4), que es un miembro de la familia de receptores de tipo Toll de receptores de la superficie celular. Este receptor es importante en la activación del sistema inmunitario innato, cuyas principales funciones son:

- 5 (a) reclutar células inmunitarias a los sitios de infección mediante la producción de citocinas tales como IL-6;
 (b) activar la cascada del complemento, para identificar bacterias, activar células y eliminar tanto las células muertas como los complejos de anticuerpos;
 10 (c) activar la eliminación de sustancias extrañas por células tales como macrófagos y células dendríticas; y
 (d) activar la presentación de antígenos, parte del sistema inmunitario adaptativo.

El TLR4 ejerce sus efectos activando una cascada de señalización que da lugar a la activación de varios factores de transcripción, incluyendo el NFkB y los miembros 3, 5 y 7 de la familia del factor de transcripción regulador del interferón (IRF) (IRF-3, IRF-5 e IRF-7). La activación de estos factores de transcripción, y en particular NFkB e IRF-5, impulsa la 15 síntesis y secreción de citocinas tales como la interleucina 6 (IL-6).

La sobreproducción/expresión de IL-6 se asocia con varios trastornos, incluyendo la autoinmunidad, inflamatorios y cáncer. La IL-6 es sintetizada predominantemente por macrófagos y linfocitos T y está muy implicada en el control de la transición de la inflamación aguda a la crónica. Lo hace modificando la composición del infiltrado de glóbulos blancos 20 en el espacio inflamatorio, moviéndolo de neutrófilos a monocitos/macrófagos (véase, por ejemplo, Gabay, 2006). Además, la IL-6 ejerce efectos estimulantes sobre los linfocitos T y B (favoreciendo de este modo las respuestas inflamatorias crónicas) así como sobre los osteoclastos (promoviendo de este modo el recambio de hueso). Estos efectos están implicados en la patología de varias enfermedades, incluyendo la osteoporosis, artritis reumatoide, 25 diabetes, aterosclerosis, depresión, enfermedad de Alzheimer, lupus eritematoso sistémico, enfermedad de Behcet, mieloma múltiple y cáncer de próstata. Asimismo, los pacientes con cáncer avanzado o metastásico tienen niveles de IL-6 en circulación más altos de lo normal. Por lo tanto, la disminución de los niveles de IL-6 en los macrófagos es terapéuticamente beneficiosa.

30 Se sembraron células Thp1 en placas a una concentración de $1,7 \times 10^5$ células/pocillo en 150 µl de medio completo RPMI que contenía penicilina-estreptomicina al 1 % y suero bovino fetal termoinactivado al 10 % en placas de 24 pocillos y se dejó adherir durante una noche. Al día siguiente, las células se estimularon con ácido mirístico forbol (PMA) a una concentración final de 200 nM para inducir la diferenciación y se mantuvieron durante 3 días. Los compuestos de prueba se prepararon como soluciones 100 nM en DMSO y después se diluyeron en serie en DMSO antes de la dilución en medio de cultivo. Los compuestos diluidos se añadieron a los cultivos 1 hora antes de la 35 estimulación con LPS 100 ng/ml. Los compuestos se probaron por triplicado en una curva de respuesta a la concentración de 9 puntos a concentraciones de 30, 10, 3, 1, 0,3, 0,1, 0,03, 0,01 y 0,001 µM. Después de una incubación de 18 horas a 37 °C/CO₂ al 5 %, el medio de cultivo celular se recogió y se ensayó para determinar los niveles de IL-6 humana usando el equipo de ELISA duo-set de IL-6 humana (R&D Systems). Los resultados promedio para cada compuesto de prueba (n=3) se expresaron como un porcentaje (%) del valor de control promedio. A 40 continuación, se representaron gráficamente los valores promedios de todas las concentraciones analizadas y se calculó la Cl₅₀ para la inhibición de IL-6 ajustando los datos a una ecuación de Cl₅₀ de 4 parámetros usando el programa informático GraphPad Prism para Windows (GraphPad Software, San Diego, California, Estados Unidos) o Grafit versión 5 (Erithacus Software). Cada experimento se repitió dos veces y los datos se presentan como la Cl₅₀ media de ambos experimentos.

45

Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 2
Datos del ensayo de liberación de IL-6 de macrófagos

Compuesto	Cl ₅₀ (µM)	Cl ₅₀ (µM)
ABD599	0,07 ⁽¹⁾	0,19 ⁽²⁾
ABD899	0,03 ⁽¹⁾	0,04 ⁽²⁾
ABD900	0,09 ⁽¹⁾	0,11 ⁽²⁾
HMC-C-07-B		0,018 ⁽²⁾
HMC-C-08-A		0,16 ⁽²⁾
HMC-C-09-A		0,17 ⁽²⁾
HMC-C-10-B		0,55 ⁽²⁾
HMC-C-11-A		0,26 ⁽²⁾
HMC-N-05-A		0,30 ⁽²⁾

⁽¹⁾ Las células Thp1 se sembraron en placas a una concentración de 3×10^5 células/pocillo. Se calcularon las Cl₅₀ usando Grafit versión 5 (Erithacus Software).

⁽²⁾ Las células Thp1 se sembraron en placas a una concentración de $1,7 \times 10^5$ células/pocillo. Se calcularon las Cl₅₀ usando el programa informático GraphPad Prism versión 5 para Windows (GraphPad Software).

Estos datos demuestran que los compuestos de HMC descritos en el presente documento muestran una excelente potencia para inhibir la liberación de IL-6 de macrófagos humanos, lo que indica su utilidad en el tratamiento de

trastornos en los que la IL-6 está regulada positivamente. HMC-C-07-B en particular muestra una excelente actividad.

Estudio biológico 3

5 Ensayo de inhibición del citocromo humano P450

La inhibición de las enzimas del citocromo P450 (CYP450) es una de las principales razones de las interacciones entre fármacos en el uso clínico y puede complicar o detener el desarrollo de un nuevo fármaco.

- 10 La capacidad de los compuestos de prueba para inhibir cinco de las enzimas del citocromo P450 más relevantes se midió mediante la determinación de la actividad de las enzimas del citocromo P450 en preparaciones de citocromos recombinantes, denominadas bactosomas (Cypex Ltd, Dundee, Escocia, Reino Unido, DD2 1NH), en presencia de un sustrato de sonda específico. Los bactosomas son una fuente muy eficiente y rentable de CYP450 recombinantes que tienen una actividad enzimática específica mayor en comparación con otras fuentes, tales como los microsomas hepáticos. Si un compuesto inhibe la actividad enzimática, se reduce la velocidad de desaparición del sustrato de la sonda. Se ensayaron las siguientes isoformas de CYP450: CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6 y CYP3A4. El estudio del potencial de inhibición de CYP450 en bactosomas se acepta como un modelo valioso que permite una rápida predicción de posibles interacciones entre fármacos *in vivo* (véase, por ejemplo, Weaver *et al.*, 2003).
- 15 20 Se obtuvieron bactosomas de una fuente comercial (Cypex, Escocia, Reino Unido). Los compuestos de prueba se incubaron con bactosomas a 6 concentraciones. Las muestras se incubaron durante 10 minutos, después de lo cual se detuvo la reacción y las muestras se analizaron mediante monitorización de reacciones múltiples (MRM) de LC-MS/MS para determinar la presencia/cantidad de sonda de sustrato.
- 25 30 35 Las enzimas CYP450 (proteína final 75 pmol/ml para CYP1A2; 12,5 pmol/ml para CYP2C19; y 25 pmol/ml para CYP2C9, 2D6 y 3A4), tampón fosfato 0,1 M pH 7,4, sonda y compuesto de prueba (concentración final 50, 15,8, 5, 1,58, 0,5 y 0,158 µM; diluidos a partir de una solución de reserva 10 mM para dar una concentración final de DMSO del 1 %) se preincubaron a 37 °C durante 5 minutos. La reacción se inició mediante la adición de 20 µl de NADPH 10 mM en tampón fosfato. El volumen de incubación final fue de 200 µl. Se usaron los siguientes inhibidores de control para cada ensayo de inhibición de CYP450: CYP1A2: α-naftoflavona; CYP2C9: sulfafenazol; CYP2C19: traniilcipromina; CYP2D6: quinidina; CYP3A4: ketoconazol.

Cada compuesto se incubó durante 10 minutos a 37 °C. Las reacciones se detuvieron mediante la adición de metanol (composición final 1:1, acuoso: metanol). Las placas de incubación se agitaron, se enfriaron a 20 °C durante 2 horas y se centrifugaron a 3500 rpm durante 15 minutos a 4 °C para precipitar la proteína. A continuación, el sobrenadante se transfirió a viales para su análisis usando MS/MRM, con las condiciones mostradas en la siguiente tabla.

Tabla 3
Condiciones de MS

HPLC:	Waters Alliance 2790
MS/MS:	Triple cuadrupolo Quattro Ultima (Micromass, Manchester)
Programa informático:	Analyst 1.5
Modo de ionización:	ESI+
Modo de barrido:	Monitorización de reacciones múltiples (MRM)
Columna:	Devolis C30
Temperatura de la columna (°C):	40
Fase A:	Ácido fórmico al 0,1 % en agua
Fase B:	Ácido fórmico al 0,1 % en metanol
Gradiente	97 % A (0-0,3 min), 5 % A (0,55-1,55 min), 97 % A (1,6 min)
Tiempo de parada	2,5 min
Volumen de inyección (µl):	30
Caudal (ml/min):	1,2

Los valores de IC_{50} se determinaron mediante transformación lineal en Microsoft Excel.

Los datos se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 4
Inhibición del CYP450 humano

Compuesto	IC ₅₀ (µM)				
	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
ABD599	>25	9,5	>25	20,7	>25
ABD735	>25	25	>25	>25	>25
ABD899	>25	3,9	7,3	45,3	21,6
HMC-C-07-A	>50	>50	>50	>50	>50
HMC-C-07-B	>50	>50	>50	>50	>50

(continuación)

Compuesto	Inhibición del CYP450 humano				
	Cl ₅₀ (μM)				
	CYP1A2	CYP2C9	CYP2C19	CYP2D6	CYP3A4
HMC-C-08-A	27	6,7	30	19	29
HMC-C-09-A	23	34	>50	>50	33
HMC-C-10-B	>16	2,4	8,5	>16	9,2
HMC-C-11-A	11	2,7	5,1	9,3	12
HMC-N-05-A	36	27	>50	>50	>50

Los datos demuestran que los compuestos de HMC descritos en el presente documento muestran una reducción de la probabilidad de interacción entre fármacos en comparación con el compuesto de referencia. HMC-C-07-A mostró un perfil particularmente bueno.

Estudio biológico 4

Ensayo de canal iónico hERG

La inhibición del canal iónico humano gen relacionado con Ether-a-go-go (hERG) media en la corriente repolarizante de IKr en el potencial de acción cardíaco, lo que indica que contribuye a la actividad eléctrica que coordina los latidos del corazón. Cuando la capacidad de hERG para conducir corriente eléctrica a través de la membrana celular se inhibe o se pone en riesgo, puede dar lugar a un trastorno potencialmente letal denominado síndrome de QT largo. Esta asociación entre el hERG y el síndrome de QT largo ha hecho de la inhibición de hERG una antídiana importante que debe evitarse durante el desarrollo de fármacos.

Se probó la actividad de los compuestos contra el canal iónico hERG. El ensayo se realizó usando el pinzamiento zonal automático, método de Q-patch, usando células de ovario de hámster chino transfectadas de forma estable (hERG-CHO). Se cultivaron células hERG-CHO en medio de mezcla de nutrientes F-12 de Kaighn (Invitrogen) + FBS al 10 % a 37 °C durante 1-3 días. Las células se mantuvieron a 30 °C durante 24 a 48 horas antes del pinzamiento zonal para aumentar la amplitud de la corriente de hERG. Posteriormente, las células se recogieron mediante tripsinización y se mantuvieron en medio sin suero (SFM) en el estado de preparación de células de Q-patch durante un máximo de 6 horas a temperatura ambiente antes de lavarlas y resuspenderlas en una solución extracelular y se aplicaron en los sitios de pinzamiento zonal para el registro de datos.

Protocolo de tensión de pinzamiento zonal: Despues de lograr la configuración de célula completa, la célula se mantuvo a -80 mV. Se suministró un pulso de 50 milisegundos a -40 mV para medir la corriente de fuga, que se restó de la corriente de cola en línea. A continuación, la célula se despolarizó a +20 mV durante 2 segundos, seguido de un pulso de un segundo a -40 mV para revelar la corriente de cola de hERG. Este paradigma se suministró una vez cada 5 segundos para supervisar la amplitud de corriente.

Solución extracelular: NaCl 137 mM, KCl 4 mM, CaCl₂ 1,8 mM, MgCl₂ 1 mM, D(+)-glucosa 10 mM, tampón HePES 10 mM (pH ajustado a 7,4 con NaOH).

Después de lograr la configuración de célula completa, se aplicó en primer lugar la solución extracelular (control) y se estabilizó la célula durante 2 minutos en solución extracelular. A continuación, se aplicó el compuesto de prueba desde concentraciones bajas hasta concentraciones altas de forma acumulativa. La célula se incubó con cada concentración de prueba durante 5 minutos. Durante cada incubación, la célula se estimuló repetidas veces usando el protocolo de tensión descrito anteriormente y la amplitud de la corriente de cola se supervisó de forma continua.

Criterios de aceptación:

- (1) Corriente de cola de pico >100 pA en control.
- (2) Reducción inicial <30 % y la reducción se detiene antes de la primera aplicación del compuesto de prueba.
- (3) Corrientes de fuga <50 % de las corrientes de cola de pico de control en cualquier momento.
- (4) rs <20 MΩ durante todo el experimento.

El grado de inhibición (%) se obtuvo midiendo la amplitud de la corriente de cola, inducida por un pulso de prueba de un segundo a -40 mV después de un pulso de dos segundos a +20 mV, antes y después de la incubación con el compuesto de prueba. La diferencia de corriente se normalizó con respecto al control y se multiplicó por 100 para obtener el porcentaje de inhibición.

Las curvas de respuesta a la concentración (log) se ajustaron a una ecuación logística (tres parámetros suponiendo un bloqueo completo de la corriente a concentraciones muy altas del compuesto de prueba) para generar estimaciones de la concentración inhibidora del 50 % (Cl₅₀). La relación concentración-respuesta de cada compuesto se construyó a partir de las reducciones porcentuales de la amplitud de la corriente mediante concentraciones secuenciales.

Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 5 Inhibición del canal iónico hERG	
Compuesto	% de inhibición a 10 µM
ABD599	74,9
ABD899	85,2
ABD900	15,1
HMC-C-07-A	47
HMC-C-07-B	40
HMC-C-08-A	29
HMC-C-09-A	57
HMC-N-05-A	35

- 5 Los datos demuestran que los compuestos de HMC descritos en el presente documento tienen propiedades de seguridad cardíaca que son necesarias para un fármaco activo por vía oral.

Estudio biológico 5

10 Estudios de osteoclastogénesis primaria humana

- 10 La potencia *in vitro* de los compuestos de prueba se determinó incubándolos con monocitos primarios humanos y evaluando los efectos sobre la formación de osteoclastos maduros.
- 15 La remodelación ósea se produce durante toda la vida, para mantener la integridad esquelética. Este proceso lo llevan a cabo células de la médula ósea, osteoblastos y osteoclastos, que son responsables de la síntesis y reabsorción de hueso respectivamente. Un equilibrio entre la reabsorción ósea, mediada por osteoclastos, y la formación de hueso, mediada por osteoblastos, es necesario para mantener la homeostasis ósea; cualquier desequilibrio entre estas dos actividades puede dar lugar a anomalías esqueléticas. En particular, trastornos óseos tales como osteoporosis, osteólisis inflamatoria y osteopatía metastásica osteolítica surgen de un aumento de la activación de los osteoclastos y una posterior elevación de las tasas de reabsorción ósea. El aumento de la actividad de los osteoclastos también es un rasgo característico de la artritis reumatoide (Sato *et al.*, 2006). Los nuevos fármacos que tienen la capacidad de inhibir la reabsorción ósea por los osteoclastos son de gran interés para el tratamiento de estas patologías.

- 25 La actividad de los compuestos para reducir la formación de osteoclastos primarios humanos (osteoclastogénesis) se probó usando monocitos procedentes de sangre completa humana. Los monocitos, que son positivos para el marcador de superficie celular CD14, son parte del sistema inmunitario innato que se encuentra en la circulación. Los monocitos de la sangre periférica se diferencian para formar varios tipos de células, incluyendo los osteoclastos. Se formaron osteoclastos primarios humanos aislando monocitos CD14+ de sangre completa humana y cultivándolos durante 6 días en medio αMEM que contenía factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF) y RANKL + suero de ternero fetal al 10 % durante aproximadamente 6 días, dependiendo la duración exacta del donante individual de las células.

- 35 Cuando los monocitos se cultivan en las condiciones descritas anteriormente, forman células multinucleadas grandes (osteoclastos), que se tiñen positivamente para la fosfatasa ácida resistente al tartrato (TRAP). La tinción con TRAP se realizó entre los días 5-6 de cultivo dependiendo del donante individual. Los osteoclastos se identifican como células que se tiñen positivamente para TRAP y contienen más de 3 núcleos. Los compuestos que reducen el número de células positivas para TRAP reducen la formación de osteoclastos. El compuesto de bisfosfonato, alendronato, que se usa en el tratamiento de la osteoporosis, se usa como control positivo para reducir la osteoclastogénesis en este ensayo.

- 40 Los efectos sobre la formación de osteoclastos se evaluaron mediante tinción para TRAP y contando las células que contenían más de tres núcleos en cada pocillo bajo un microscopio. Esto permite la determinación absoluta del número de células en cada pocillo tratado.

Osteoclastogénesis y evaluación de la influencia de los compuestos:

- 45 Se recogieron PBMC (células mononucleares de sangre periférica) de donantes sanos y se aislaron mediante centrifugación en una capa de Ficoll Paque (GE Healthcare, Reino Unido). A continuación, los monocitos se clasificaron a partir de las PBMC usando un separador autoMACS Pro (MiltenyiBiotec), que clasifica las células en función de los marcadores presentes en su superficie celular. Los monocitos CD14+ resultantes se resuspendieron en αMEM complementado con FCS al 10 %, M-CSF 25 ng/ml y RANKL 100 ng/ml y se añaden a una placa de 48 pocillos, que después se incubó durante hasta 6 días a 37 °C/CO₂ al 5 %. Las células se complementaron con un vehículo (DMSO al 0,1 %) o compuesto de prueba desde el día de la siembra en los pocillos. El medio se repuso cada 2 días.

Al final del periodo de cultivo, el medio se retiró de las células y las células se fijaron a temperatura ambiente y después se lavaron con solución salina tamponada con fosfato. A continuación, se añadió la solución de tinción TRAP y las células se incubaron a 37 °C hasta que se reveló un color rojo, después de lo cual se detuvo la reacción aclarando con agua. Las células teñidas se secaron al aire y a continuación se fotografiaron usando un microscopio convencional y los osteoclastos multinucleados positivos para TRAP contados por dos observadores independientes.

Los resultados promedio ($n=6$) para cada concentración de compuesto de prueba se promediaron entre los dos observadores y después se expresaron como un factor de cambio frente al valor de control promedio. A continuación, los datos se representaron gráficamente usando un programa informático de Grafit (Erihacus Software).

10

Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 6 Osteoclastogénesis primaria humana (*)		
Compuesto de prueba	% de reducción a 1 µM	Cl ₅₀ (µM)
Alendronato	12	No calculada
ABD900	90	0,37
HMC-C-07-B	90	0,12

(*) El compuesto se añadió el día 4 de la diferenciación de monocitos, cuando ya se observaban osteoclastos maduros.

Los datos muestran que HMC-C-07-B presenta mayor potencia para reducir la formación de osteoclastos que el control positivo en el ensayo, alendronato, o el compuesto de referencia, ABD900.

15

Estudio biológico 6

Estudios de farmacocinética en roedores

20

La absorción y la estabilidad metabólica se estudiaron usando un ensayo de farmacocinética *in vivo*.

Se trataron tres ratas macho Han Wistar, de 8-12 semanas de edad, con compuestos de prueba administrados por vía oral o intravenosa (nivel de dosis de 1 mg/kg de peso corporal por vía intravenosa o 5 mg/kg de peso corporal por vía oral). Los compuestos de prueba se formularon en carboximetilcelulosa (CMC) al 0,5 %/Tween-80 al 0,1 % para la administración por vía oral o en DMSO al 5 %/solutol al 10 % en solución salina para la administración por vía intravenosa. Para el compuesto HMC-C-01-A, la administración oral se formuló en dimetilacetamida al 2 %/hidroxipropil-β-ciclodextrina al 20 % en agua. A los animales se les proporcionó acceso libre a la comida durante todo el estudio, excepto en ayunas durante la noche y hasta 2 horas después de la dosis el día de la administración.

30

Se tomaron muestras de sangre del plexo retroorbitario en los siguientes puntos temporales y se colocaron en microtubos que contenían solución K₂EDTA al 20 %:

Dosificación oral: antes de la dosis; 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 horas después de la dosis.

Dosificación intravenosa: antes de la dosis; 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8 y 24 horas después de la dosis.

35

Se centrifugaron muestras de sangre para obtener plasma, que se transfirió a un recipiente separado y se congeló a -20 °C.

40

Para el análisis, las muestras se descongelaron a temperatura ambiente y se prepararon mediante precipitación de proteínas con acetonitrilo enriquecido con patrón interno (500 ng/ml de glipizida) en una relación de 1:4 con plasma. A continuación, las muestras se agitaron con vórtex durante 5 minutos y se centrifugaron durante 10 minutos a 20.600 x g a 4 °C. Se recogieron 100 µl del sobrenadante para su análisis. Las muestras patrón se prepararon de manera similar, después de añadir 10 µl de analito a muestras de plasma de rata en blanco.

45

La concentración de compuesto de prueba en muestras de plasma de rata se determinó usando LC-MS/MS, con las condiciones mostradas en la siguiente tabla.

Tabla 7 Condiciones de LC-MS/MS	
HPLC:	Schimadzu Agilent
MS/MS:	API 4000
Programa informático:	Analyst 1.5
Modo de ionización:	Turbo pulverización, modo negativo
Modo de barrido:	Monitorización de reacciones múltiples (MRM)
Columna	Waters, Xterra, MS-C18 (2) 5 µm 50 x 3,0 mm; Discovery Grace Smart PP183µ, 150 x 2,1, 3 µM; Waters Symmetry Shelf C18 75 x 4,6, 3,5 µM; Agilent Zorbax XDB, 150 x 4,6, 5 µM

(continuación)

Tabla 7
Condiciones de LC-MS/MS

Temperatura de la columna (°C):	40
Fase A:	Acetonitrilo
Fase B:	Ácido fórmico al 0,1 %
Caudal (ml/min):	0,8-1,2

Los parámetros farmacocinéticos para los compuestos de prueba se calcularon mediante Phoenix WinNonlin versión 6.3 (Pharsight Corp, CA) usando métodos convencionales no compartimentales. Las concentraciones plasmáticas máximas (C_{\max}) y el tiempo de la concentración plasmática máxima (T_{\max}) fueron los valores observados. El área bajo la curva de concentración plasmática-tiempo (ABC) se determinó mediante el uso de la regla del trapecio lineal hasta la última concentración medible (ABC_{última}) y a continuación por extrapolación de la fase de eliminación terminal al infinito (ABC_{inf}). La constante de tasa de eliminación terminal (k_{el}) se determinó mediante análisis de regresión de la porción terminal lineal de la curva logarítmica de concentración plasmática-tiempo. La semivida ($t_{1/2}$) de la fase de eliminación se calculó como $0,693 / k_{el}$. La biodisponibilidad oral preliminar (F) se calculó dividiendo el ABC (0-24 horas) después de la administración oral por el ABC ajustado (0-8 horas) después de la administración intravenosa (es decir, F = ABC (p.o.) x Dosis (i.v.) / ABC (i.v.) x dosis (p.o.)) y se indica como porcentaje (%).

Los datos farmacocinéticos se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 8 Datos farmacocinéticos				
Compuesto	Biodisponibilidad, F (%)	i.v. ABC (ng/ml/min)	p.o. ABC (ng/ml/min)	$T_{1/2}$ (h)
ABD735	83	1081	8965 ⁽⁴⁾	3,8
ABD836	55	2142	5927	5,3
ABD899	50	2133	10740 ⁽⁴⁾	10,8
REF001	50	963	4766 ⁽⁴⁾	7,2
HMC-C-07-B ⁽¹⁾⁽²⁾	100	24072	146299 ⁽⁵⁾	9,7
HMC-C-07-B ⁽³⁾	86	11627	39463	9,0
HMC-N-05-A ⁽¹⁾	88	891	3937	0,8

⁽¹⁾ El compuesto se dosificó en DMSO al 5 %/solutol al 10 % en solución salina para la administración por las vías tanto oral como intravenosa.
⁽²⁾ Las muestras se recogieron: antes de la dosis, 0,08, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 8, 23 y 24 horas después de la dosificación intravenosa, y antes de la dosis, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 23 y 24 horas después de la dosificación oral.
⁽³⁾ Las muestras se recogieron: antes de la dosis, 0,03, 0,1, 0,167, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8 y 24 horas después de la dosificación intravenosa.
⁽⁴⁾ Dosificado a 5 mg/kg por vía oral.
⁽⁵⁾ Dosificado a 10 mg/kg por vía oral.

Estos datos demuestran que los compuestos de HMC descritos en el presente documento tienen excelentes propiedades farmacocinéticas orales comparables a las de los compuestos de referencia. Esto indica que es probable que estos compuestos sean adecuados para su uso como fármacos orales.

Estudio biológico 7

Artritis inducida por colágeno de ratón

Se usaron ratones DBA/1j macho de siete a ocho semanas de edad para todos los procedimientos. Los animales se alojaron en grupos de 10 y se mantuvieron a $21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas con comida y agua a voluntad. El adyuvante completo de Freund (CFA) se preparó emulsionando colágeno bovino tipo II a 4 mg/ml con una suspensión de 4 mg/ml de *Mycobacterium tuberculosis* H37Ra en adyuvante incompleto de Freund (IFA) (0,85 ml de aceite de parafina y 0,15 ml de monooleato de manida) en una relación 1:1 (v/v). Todos los ratones se inmunizaron por vía subcutánea con 200 µg de colágeno bovino de tipo II en CFA. 21 días después, todos los ratones se inmunizaron por vía subcutánea con 100 µg de colágeno bovino de tipo II en IFA. Los ratones comenzaron a desarrollar signos y síntomas de artritis después de la inmunización de "refuerzo".

Para la evaluación macroscópica de la artritis, se supervisaron los siguientes signos en cada pata de cada ratón tres veces por semana y se sumaron para generar el índice artrítico (IA) (el IA máximo para un animal es 16):

0 = sin efectos visibles de la artritis.

1 = edema y/o eritema de 1 dedo.

2 = edema y/o eritema de 2 dedos.

3 = edema y/o eritema de más de 2 dedos.
 4 = artritis grave de toda la pata y dedos.

- 5 Los animales se clasificaron en grupos de tratamiento con un índice artrítico medio de 2,5 y después se dosificaron una vez al día durante 14 días con el compuesto por sonda oral para los compuestos de prueba o mediante inyección subcutánea a una dosis de 10 mg/kg para el control positivo, etanercept. Después de completar el experimento, se sacrificaron los ratones.
- 10 Los datos se analizaron generando un promedio del índice artrítico en cada grupo de tratamiento. El índice artrítico medio se comparó después con el índice artrítico de animales de control (sin tratar) usando la siguiente fórmula para generar un porcentaje de inhibición de la enfermedad.

$$\% \text{ de inhibición de la enfermedad} = 100 - \left[\frac{\text{índice artrítico medio: animales tratados}}{\text{índice artrítico medio: animales sin tratar}} \times 100 \right]$$

- 15 Los datos se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 9 Inhibición de la artritis		
Compuesto	Dosis (mg/kg/día)	% de inhibición de la enfermedad
ABD735	10	44
ABD899	10	77
HMC-C-07-B	3	56
HMC-C-07-B	0,3	16

- 20 La figura 1 es un gráfico del índice artrítico promedio en función del tiempo (día de dosificación) para: control (círculos rellenos), compuesto de referencia ABD899 (10 mg/kg/d) (círculos vacíos) y control positivo Etanercept (triángulos).
- 25 La figura 2 es un gráfico del índice artrítico promedio en función del tiempo (día de dosificación) para: control (círculos rellenos), compuesto HMC-C-07-B (0,3 mg/kg/d) (círculos vacíos) y compuesto HMC-C-07-B (3 mg/kg/d) (cuadrados).

- 30 Los datos muestran que HMC-C-07-B puede reducir los signos y síntomas de la enfermedad en ratones con artritis inducida por colágeno en un grado similar al del tratamiento utilizado clínicamente, Etanercept. Sin embargo, significativamente, HMC-C-07-B logra este efecto en dosis menores que las necesarias para el compuesto de referencia, ABD899.

Estudio biológico 8

- 35 Proliferación de la línea celular del linfoma DoHH2

- La potencia *in vitro* de los compuestos de prueba se determinó mediante incubación con células de linfoma de linfocitos B DoHH2 y la posterior determinación del número de células usando citometría de flujo.
- 40 La citometría de flujo es una tecnología biofísica basada en láser, empleada en el recuento celular, clasificación de células y detección de biomarcadores, suspendiendo las células en una corriente de fluido y haciéndolas pasar por un aparato de detección electrónico. Permite el análisis multiparamétrico simultáneo de las características físicas y químicas de hasta miles de partículas por segundo. Para cuantificar el número de células, se usan perlas de recuento como patrón interno. Las perlas de recuento son una suspensión calibrada de microperlas que se añaden a un volumen conocido de muestra de modo que se conozca el volumen de muestra por perla. Esto permite la determinación absoluta del número de células en una muestra. La proliferación celular se mide usando un colorante conocido como colorante de proliferación celular (eFluor® 450). eFluor® 450 es un colorante orgánico que se puede conjugar con marcadores específicos de células. Emite fluorescencia cuando se excita con un láser de una manera proporcional al número de células con las que se une el conjugado. Por lo tanto, su señal proporciona una indicación de la proliferación de tipos celulares específicos.

- 45 Las células DoHH2 se sembraron a 10^5 células por pocillo en 100 µl de medio RPMI complementado con FCS al 10 %, L-glutamina 2 mM, penicilina 100 U/ml y estreptomicina 100 µg/ml, en placas de 96 pocillos y se dejaron adherir durante una noche. Al día siguiente, los compuestos de prueba se prepararon como soluciones 100 mM en DMSO. Estas soluciones de reserva se diluyeron en DMSO y después se diluyeron 1000x en medio de cultivo antes de añadirse directamente a los pocillos para proporcionar la concentración final deseada del compuesto. A continuación, también se añadió a las células el colorante de proliferación celular. Después de 72 horas de incubación a 37 °C / CO₂ al 5 %,

las células se fijaron y se procesaron en un citómetro de flujo con un volumen exacto de perlas de recuento. Se consideró que habían proliferado las células que eran bajas en eFluor 450.

Los resultados promedio para cada compuesto de prueba se expresaron como un porcentaje (%) del valor de control promedio que refleja la viabilidad celular. A continuación, se representaron gráficamente los valores promedio de todas las concentraciones analizadas y se calculó una IC_{50} ajustando los datos a una ecuación de IC_{50} de 4 parámetros usando el programa informático KaleidaGraph (Synergy Software, Reading, Pensilvania EE. UU.).

Los resultados se resumen en la siguiente tabla.

Tabla 10 Ensayo de proliferación de linfoma de linfocitos B DoHH2	
Compuesto	IC_{50} (μM)
ABD899	0,135
HMC-C-07-B	0,186

Estos datos demuestran que HMC-C-07-B muestra una potencia excelente en el ensayo de proliferación de linfoma de linfocitos B DoHH2, comparable al compuesto de referencia ABD899.

Lo anterior ha descrito los principios, realizaciones preferidas y modos de funcionamiento de la presente invención. Sin embargo, la invención no debe interpretarse como limitada a las realizaciones particulares analizadas. En cambio, las realizaciones descritas anteriormente deben considerarse ilustrativas en lugar de restrictivas.

REFERENCIAS

- Se citan en el presente documento varias publicaciones con el fin de describir y desvelar más completamente la invención y el estado de la técnica a la que pertenece la invención. Las citas completas para estas publicaciones se proporcionan a continuación.
- Akahoshi *et al.*, 2008, "Promoter polymorphisms in the IRF3 gene confer protection against systemic lupus erythematosus", *Lupus*, vol. 17 págs. 568-574.
 Astry *et al.*, 2011, "A cytokine-centric view of the pathogenesis and treatment of autoimmune arthritis", *J Interferon Cytokine Res.*, vol. 31, págs. 927-940.
 Bahmanyar *et al.*, 2010, "Aminotriazolopyridines and their use as kinase inhibitors", número de publicación de patente internacional WO 2010/027500 A1 publicada el 11 de marzo de 2010.
 Baud *et al.*, 1999, "Signalling by proinflammatory cytokines: oligomerization of TRAF2 and TRAF6 is sufficient for JNK and IKK activation and target gene induction via an amino-terminal effector domain", *Genes Dev.*, vol. 13, págs. 1297-1308.
 Baud *et al.*, 2009, "Is NF κ B a good target for cancer therapy? Hopes and pitfalls", *Nat. Rev. Drug Disc.*, vol. 8, págs. 33-40.
 Billiau, 2010, "Etanercept improves linear growth and bone mass acquisition in MTX-resistant polyarticular-course juvenile idiopathic arthritis", *Rheumatology (Oxford)*, vol. 49, págs. 1550-1558.
 Bladh *et al.*, 2006, "Novel sulphonamide derivatives as glucocorticoid receptor modulators for the treatment of inflammatory diseases", número de publicación de patente internacional WO 2006/046916 A1 publicada el 4 de mayo de 2006.
 Brennan *et al.*, 1992, "Enhanced expression of tumor necrosis factor receptor mRNA and protein in mononuclear cells isolated from rheumatoid arthritis synovial joints", *Eur. J. Immunol.*, vol. 22, págs. 1907-1912.
 Brennan *et al.*, 1996, "Cytokines in autoimmunity", *Curr. Opin. Immunol.*, vol. 8, págs. 872-877. Chen *et al.*, 2012, "High-affinity and selective dopamine D3 receptor full agonists", *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, vol. 22, págs. 5612-5617. Childs, L.M., *et al.*, 2001, "Efficacy of etanercept for wear debris-induced osteolysis", *Journal of Bone and Mineral Research*, vol. 16, n.º 2, págs. 338-347.
 Jones *et al.*, 2011, "Osteoimmunology at the nexus of arthritis, osteoporosis, cancer, and infection", *J. Clin. Invest.*, vol. 121, págs. 2534-2542.
 Papanicolaou *et al.*, 1998, "The Pathophysiologic Roles of Interleukin-6 in Human Disease", *Ann Intern Med.*, vol. 128, n.º 2, págs. 127-137.
 Dvorak *et al.*, 1996, "Comparative ultrastructural morphology of human basophils stimulated to release histamine by anti-IgE, recombinant IgE-dependent histamine-releasing factor, or monocyte chemotactic protein-1", *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, vol. 98, págs. 355-370.
 Feldmann *et al.*, 1994, "TNF alpha as a therapeutic target in rheumatoid arthritis", *Circ. Shock*, vol. 43, págs. 179-184. Feldmann *et al.*, 1996, "Rheumatoid arthritis", *Cell*, vol. 85, págs. 307-310.
 Feldmann *et al.*, 2001, "The role of TNF alpha and IL-1 in rheumatoid arthritis", *Curr. Dir. Autoimmun.*, vol. 3, págs. 188-199.
 Firestein, 2005 "Immunologic mechanisms in the pathogenesis of rheumatoid arthritis", *J. Clin. Rheumatol.*, vol. 11, págs. S39-S44.
 Fu *et al.*, 2011, "Association of a functional IRF7 variant with systemic lupus erythematosus", *Arthritis Rheum.*, vol.

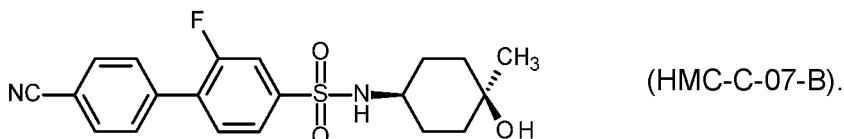
- 63, págs. 749-754.
- Gabay, 2006, "Interleukin-6 and chronic inflammation", *Arthritis Research & Therapy*, vol. 8 (supl 2), S3.
- Galli *et al.*, 1989, "IgE, Mast Cells and the Allergic Response", Ciba Foundation Symposium, vol. 147, págs. 53-73.
- Gottlieb, 2005, "Psoriasis: Emerging Therapeutic Strategies", *Nat. Rev. Drug Disc.*, vol. 4, págs. 19-34.
- 5 Greig *et al.*, 2006, "Development and characterization of biphenylsulfonamides as novel inhibitors of bone resorption", *J. Med. Chem.*, vol. 49: págs. 7487-7492.
- Greig *et al.*, 2008, "Biphenyl-4-yl-sulfonic acid arylamides and their use as therapeutic agents", número de publicación de patente internacional WO 2008/114022 A1 publicada el 25 de septiembre de 2008.
- 10 Greig *et al.*, 2010a, "Aryl-phenyl-sulfonamido-cycloalkyl compounds and their use", número de publicación de patente internacional WO 2010/032009 A1 publicada el 25 de marzo de 2010.
- Greig *et al.*, 2010b, "Aryl-phenyl-sulfonamido-phenylene compounds and their use", número de publicación de patente internacional WO 2010/032010 A1 publicada el 25 de marzo de 2010.
- 15 Greig *et al.*, 2013, "Development of triarylsulfonamides as novel anti-inflammatory agents", *Bioorg. & Med. Chem. Lett.*, vol. 23, págs. 816-820.
- Hadida *et al.*, 2007, "Heterocyclic modulators of ATP-binding cassette transporters", número de publicación de patente internacional WO 2007/056341 A1 publicada el 18 de mayo de 2007.
- Hu *et al.*, 2011, "A meta-analysis of the association of IRF5 polymorphism with systemic lupus erythematosus International", *Journal of Immunogenetics*, vol. 38, págs. 411-417.
- 20 Jimi *et al.*, 2004, "Selective inhibition of NF-kappa B blocks osteoclastogenesis and prevents inflammatory bone destruction *in vivo*", *Nat. Med.*, vol. 10, págs. 617-624.
- Joosten *et al.*, 1996, "Anticytokine treatment of established type II collagen-induced arthritis in DBA/1 mice. A comparative study using anti-TNF alpha, anti-IL-1 alpha/beta, and IL-1Ra", *Arthritis Rheum.*, vol. 39, págs. 797-809.
- 25 Karsenty *et al.*, 2002, "Reaching a genetic and molecular understanding of skeletal development", *Dev. Cell.*, vol. 2, págs. 389-406.
- Klareskog *et al.*, 2006, "Mechanisms of disease: Genetic susceptibility and environmental triggers in the development of rheumatoid arthritis", *Nat. Clin. Pract. Rheumatol.*, vol. 2, págs. 425-433.
- Korzenik *et al.*, 2006, "Evolving knowledge and therapy of inflammatory bowel disease", *Nat. Rev. Drug Disc.*, vol. 5, págs. 197-209.
- 30 Krausgruber *et al.*, 2011, "IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and TH1-TH17 responses", *Nat. Immunol.*, vol. 12, págs. 231-238.
- Li *et al.*, 2008, "A tumor necrosis factor- α -mediated pathway promoting autosomal dominant polycystic kidney disease", *Nature Medicine*, vol. 14, n.º 8, págs. 863-868.
- Liu, 2005, "Molecular mechanism of TNF signalling and beyond", *Cell Res.*, vol. 15, págs. 24-27.
- 35 Long, 2012, "Osteoimmunology: the expanding role of immunoreceptors in osteoclasts and bone remodeling", *Bone Key Rep.*, vol. 1, pág. 59.
- Malemud *et al.*, 2011, "Myeloid-related protein activity in Rheumatoid Arthritis", *International Journal of Inflammation*, vol. 2011, págs. 1-5.
- Mantovani, 2009, "Inflaming metastasis", *Nature*, vol. 457, págs. 36-37.
- 40 Mazzucchelli *et al.*, 1996, "Differential *in situ* expression of the genes encoding the chemokines MCP-1 and RANTES in human inflammatory bowel disease", *J. Pathol.*, vol. 178, n.º 2, págs. 201-206.
- McInnes *et al.*, 2007, "Cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis", *Nat. Rev. Immunol.*, vol. 7, págs. 429-442.
- 45 Minamino *et al.*, 2012, "IRF-2 regulates B-cell proliferation and antibody production through distinct mechanisms", *Int Immunol.*, vol. 24, págs. 573-581.
- Mount *et al.*, 2005, "Rheumatoid arthritis market", *Nat. Rev. Drug Disc.*, vol. 2, págs. 11-12.
- O'Shea *et al.*, 2013, "Janus kinase inhibitors in autoimmune diseases", *Annals of Rheumatic Disease*, vol. 72, suplemento 2, págs. 111-115.
- 50 Ogata *et al.*, 2012, "Safety and Efficacy of Tocilizumab for the Treatment of Rheumatoid Arthritis", *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord.*, vol. 5, págs. 27-42.
- Patel *et al.*, 2014, "N-(4-hydroxy-4-methyl-cyclohexyl)-4-phenyl-benzenesulfonamide and N-(4-hydroxy-4-methyl-cyclohexyl)-4-(2-pyridyl)benzenesulfonamide compounds and their therapeutic use", número de publicación de patente internacional WO 2014/207445 A1 publicada el 31 de diciembre de 2014.
- 55 Parameswaran *et al.*, 2010, "Tumor necrosis factor- α signaling in macrophages", *Crit. Rev. Eukarvot. Gene Expr.*, vol. 20, págs. 87-103.
- Philchenkov *et al.*, 2004, "Caspases and cancer: mechanisms of inactivation and new treatment modalities", *Exp. Oncol.*, vol. 26, págs. 82-97.
- Pisetsky, 2012, "Advances in the treatment of inflammatory arthritis", *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.*, vol. 26, págs. 251-261.
- 60 Ralston *et al.*, 2005, "Aryl alkyl sulfonamides as therapeutic agents for the treatment of bone conditions", número de publicación de patente internacional WO 2005/118528 A2 publicada el 15 de diciembre de 2005.
- Rincon, 2012 "Interleukin-6: from an inflammatory marker to a target for inflammatory diseases", *Trends in Immunology*, vol. 33, n.º 11, págs. 571-577.
- Roodman, 2006, "Regulation of osteoclast differentiation", *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1068, págs. 100-109.
- 65 Sato *et al.*, 2006, "Osteoclasts, rheumatoid arthritis, and osteoimmunology", *Curr. Opin. Rheumatol.*, vol. 18, n.º 4, págs. 419-426.

- Scott *et al.*, 2010, "Rheumatoid Arthritis", Lancet, vol. 376, págs. 1094-1108.
- Sharif *et al.*, 2012, "IRF5 polymorphism predicts prognosis in patients with systemic sclerosis", Annals of the Rheumatic Diseases, vol. 71, págs. 1197-1202.
- 5 Smolen *et al.*, 2003, "Therapeutic Strategies for Rheumatoid Arthritis", Nat. Rev. Drug Disc. , vol. 2, págs. 473-488.
- Steger *et al.*, 2011, "Denosumab for the treatment of bone metastases in breast cancer: evidence and opinion", Ther. Adv. Med. Oncol., vol. 3, págs. 233-243.
- Sugiyama *et al.*, 1995, "Chemokines in bronchoalveolar lavage fluid in summer-type hypersensitivity pneumonitis", Eur. Respir. J., vol. 8, págs. 1084-1090.
- 10 Sun, 2010, "Mechanical loading, cartilage degradation and arthritis", Annals of the New York Academy of Sciences, vol. 1211, págs. 37-50.
- Takaoka *et al.*, 2005, "Integral role of IRF-5 in the gene induction programme activated by Toll-like receptors", Nature, vol. 434, págs. 243-249.
- Takayanagi, 2009, "Osteoimmunology and the effects of the immune system on bone", Nature Reviews Rheumatology, vol. 5, págs. 667-676.
- 15 Tanaka *et al.*, 2003, "Signal transduction pathways regulating osteoclast differentiation and function", J. Bone Miner. Metab., vol. 21, págs. 123-133.
- Tsutsumi *et al.*, 2005, "Dipeptidyl peptidase IV inhibitor", número de publicación de patente internacional WO 2005/025554 A2 publicada el 24 de marzo de 2005.
- 20 van den Berg *et al.*, 1999, "Pathogenesis of joint damage in rheumatoid arthritis: evidence of a dominant role for interleukin-1", Baillieres Best Pract. Res. Clin. Rheumatol., vol. 13, págs. 577-597.
- van den Berg, 2002, "Is there a rationale for combined TNF and IL-1 blocking in arthritis?", Clin. Exp. Rheumatol. , vol. 20, págs. S21-S25.
- Volejnikova *et al.*, 1997, "Monocyte recruitment and expression of monocyte chemoattractant protein-1 are developmentally regulated in remodeling bone in the mouse", Am. J. Pathol., vol. 150, n.º 5, págs. 1711-1721.
- 25 Wang *et al.*, 2010, "Selective ligands for the dopamine 3 (D₃) receptor and methods of using same", número de publicación de patente internacional WO 2010/025235 A1 publicada el 4 de marzo de 2010.
- Weaver, *et al.*, 2003, "Cytochrome p450 inhibition using recombinant proteins and mass spectrometry/multiple reaction monitoring technology in a cassette incubation", Drug Metabolism and Disposition, vol. 31, n.º 7, págs. 955-966.
- 30 Zhang *et al.*, 2012 "Regulation of T helper cell differentiation by interferon regulatory factor family members", Immunol. Res., vol. 54 págs. 169-176.
- Zheng *et al.*, 1998, "Gene expression of monocyte chemoattractant protein-1 in giant cell tumors of bone osteoclastoma: Possible involvement in CD68+ macrophage-like cell migration", Journal of Cellular Biochemistry, vol. 70, n.º 1, págs. 121-129.

35

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la siguiente fórmula, o una sal, un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptables del mismo:



2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato de acuerdo con la reivindicación 1 y un vehículo o un diluyente farmacéuticamente aceptables.

10 3. Un método para preparar una composición farmacéutica que comprende la etapa de mezclar un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato de acuerdo con la reivindicación 1 y un vehículo o un diluyente farmacéuticamente aceptables.

15 4. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 1 para su uso en un método de tratamiento del cuerpo humano o animal mediante terapia.

5 5. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:
artritis reumatoide.

20 6. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:
psoriasis; artritis psoriásica; enfermedad pulmonar obstructiva crónica; asma; ateroesclerosis; enfermedad inflamatoria intestinal; o espondilitis anquilosante.

25 7. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:
esclerosis múltiple; lupus eritematoso sistémico; o síndrome de Sjögren.

30 8. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:
un trastorno asociado a la disminución de la masa ósea.

35 9. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:
disminución de la masa ósea asociada a una actividad excesiva de los osteoclastos en artritis reumatoide, osteoporosis, osteopatía asociada al cáncer o enfermedad de Paget.

40 10. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:
cáncer.

45 11. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:
una neoplasia maligna hematológica.

50 12. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:
mieloma múltiple; leucemia; o linfoma.

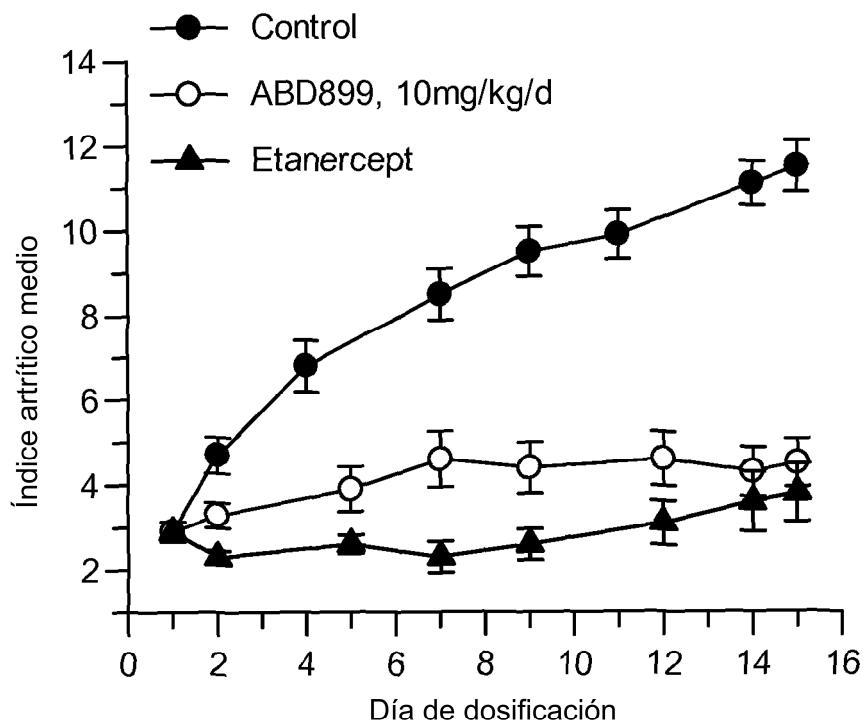
55 13. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:
un cáncer de tumor sólido.

55 14. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:
cáncer de vejiga; cáncer de mama; cáncer de colon; carcinoma de células renales; cáncer de riñón; cáncer de pulmón;
cáncer de páncreas; cáncer gástrico; cáncer de próstata; cáncer de cerebro; cáncer de piel; cáncer de tiroides;
ameloblastoma de células basales; o melanoma.

60 15. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:

un trastorno asociado a la fibrosis.

16. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:
5 esclerosis sistémica o esclerodermia.
17. Un compuesto, una sal, un hidrato o un solvato para su uso según la reivindicación 4, en un método de tratamiento de:
enfermedad de Behçet.
10

FIGURA 1**FIGURA 2**