

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 916 469**

51 Int. Cl.:

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

A61K 31/422 (2006.01)

A61K 31/4439 (2006.01)

A61P 1/16 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

A61P 35/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **09.06.2017** **E 19188723 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.05.2022** **EP 3587412**

54 Título: **Compuestos de modulación de FXR (NR1H4)**

30 Prioridad:

13.06.2016 US 201662349490 P

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

01.07.2022

73 Titular/es:

**GILEAD SCIENCES, INC. (100.0%)
333 Lakeside Drive
Foster City, CA 94404, US**

72 Inventor/es:

**BLOMGREN, PETER A;
CURRIE, KEVIN S;
GEGE, CHRISTIAN;
KROPF, JEFFREY E y
XU, JIANJUN**

74 Agente/Representante:

IZQUIERDO BLANCO, María Alicia

ES 2 916 469 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 modulación de FXR (NR1H4)

5 **CAMPO**

La presente divulgación se refiere a compuestos que se unen al receptor NR1H4 (FXR) y actúan como agonistas o moduladores de FXR. La divulgación se refiere además al uso de los compuestos para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades y/o afecciones mediante la unión de dicho receptor nuclear por dichos compuestos.

10

ANTECEDENTES

Los organismos multicelulares dependen de mecanismos avanzados de transferencia de información entre las células y los compartimentos corporales. La información que se transmite puede ser muy compleja y puede dar como resultado la alteración de los programas genéticos involucrados en la diferenciación, proliferación o reproducción celular. Las señales, u hormonas, suelen ser moléculas de bajo peso molecular como péptidos, ácidos grasos o derivados del colesterol.

15

20

Muchas de estas señales producen sus efectos cambiando en última instancia la transcripción de genes específicos. Un grupo bien estudiado de proteínas que median la respuesta de una célula a una variedad de señales es la familia de factores de transcripción conocidos como receptores nucleares, en lo sucesivo denominados a menudo "NR". Los miembros de este grupo incluyen receptores de hormonas esteroideas, vitamina D, ecdisona, ácido cis y trans retinoico, hormona tiroidea, ácidos biliares, derivados del colesterol, ácidos grasos (y otros proliferadores peroxisomales), así como los denominados receptores huérfanos, proteínas que son estructuralmente similares a otros miembros de este grupo, pero para los cuales no se conocen ligandos. Los receptores huérfanos pueden ser indicativos de vías de señalización desconocidas en la célula o pueden ser receptores nucleares que funcionan sin activación de ligando. La activación de la transcripción por algunos de estos receptores huérfanos puede producirse en ausencia de un ligando exógeno y/o a través de las vías de transducción de señales que se originan en la superficie celular.

25

30

En general, se han definido tres dominios funcionales en los NR. Se cree que un dominio amino terminal tiene alguna función reguladora. Le sigue un dominio de unión al ADN (en lo sucesivo referido como "DBD"), que habitualmente comprende dos elementos con dedos de zinc y reconoce un elemento de respuesta hormonal específico (en lo sucesivo referido como "HRE") dentro de los promotores de los genes de respuesta. Se ha demostrado que los residuos de aminoácidos específicos en el "DBD" confieren especificidad de unión a la secuencia de ADN. Un dominio de unión a ligando (en lo sucesivo referido como "LBD") se encuentra en la región carboxi-terminal de los NR conocidos.

35

40

En ausencia de hormona, el LBD parece interferir con la interacción del DBD con su HRE. La unión de hormonas parece dar como resultado un cambio conformacional en el NR y, por tanto, abre esta interferencia. Un NR sin LBD activa constitutivamente la transcripción pero a un nivel bajo.

45

Se proponen coactivadores o activadores transcripcionales para formar puentes entre factores de transcripción específicos de secuencia y la maquinaria de transcripción basal y, además, para influir en la estructura de la cromatina de una célula objetivo. Varias proteínas como SRC-1, ACTR y Grip1 interactúan con los NR de una manera mejorada por ligandos.

50

Los moduladores de los receptores nucleares, como las hormonas esteroideas, afectan el crecimiento y la función de células específicas uniéndose a los receptores intracelulares y formando complejos de receptor nuclear-ligando. Los complejos de receptor nuclear-hormona interactúan luego con un HRE en la región de control de genes específicos y alteran la expresión de genes específicos.

55

60

El Receptor farnesoide X alfa (en lo sucesivo también referido a menudo como NR1H4 cuando se refiera al receptor humano) es un receptor nuclear de tipo 2 prototipo que activa genes tras unirse a una región promotora de genes objetivo de manera heterodimérica con el Receptor retinoide X. Los ligandos fisiológicos relevantes de NR1H4 son los ácidos biliares. El más potente es el ácido quenodesoxicólico (CDCA), que regula la expresión de varios genes que participan en la homeostasis de los ácidos biliares. El farnesol y sus derivados, en conjunto llamados farnesoides, se describieron originalmente para activar el ortólogo de rata a altas concentraciones, pero no activan el receptor humano o de ratón. FXR se expresa en el hígado, en todo el tracto gastrointestinal incluyendo el esófago, el estómago, el duodeno, el intestino delgado, el colon, los ovarios, las glándulas suprarrenales y los riñones. Más allá de controlar la expresión génica intracelular, parece que FXR también está implicado en la señalización paracrina y endocrina regulando por incremento la expresión de la citoquina factor de crecimiento de fibroblastos 15 (roedores) o 19 (monos, humanos A).

65

La WO 2015/138986 A1 divulga nuevos agonistas de FXR que son útiles para tratar o prevenir un trastorno

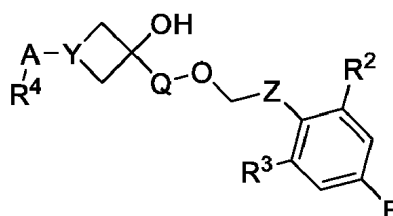
metabólico en un sujeto o tratar o prevenir la inflamación en una región intestinal de un sujeto. La WO 2013/037482 A1 divulga agonistas de FXR para su uso en el tratamiento o prevención de ciertos cánceres, metástasis, lesiones precancerígenas o angiogénesis en el contexto del cáncer en un paciente o para su uso en la inducción de la expresión del gen NDRG2 en ciertos tejidos de un paciente. La EP 2128158 divulga ciertos agonistas de FXR para la profilaxis y/o tratamiento de afecciones colestáticas intrahepáticas crónicas o algunas formas de las extrahepáticas, fibrosis hepática resultante de afecciones colestáticas crónicas, afecciones colestáticas intrahepáticas agudas, trastornos inflamatorios obstructivos o crónicos que surgen de una composición biliar inapropiada, afecciones gastrointestinales con una captación reducida de grasa dietética y vitaminas dietéticas solubles en grasas, enfermedades inflamatorias del intestino, trastornos de lípidos y lipoproteínas, diabetes Tipo II, y/o complicaciones clínicas de la diabetes Tipo I y Tipo II. La WO 2008/025539 divulga ciertos compuestos que actúan como agonistas o agonistas parciales de FXR y su uso para el tratamiento de enfermedades y/o afecciones mediante la unión del receptor nuclear por dichos compuestos.

Aunque se conocen numerosos agonistas de FXR, hay una necesidad de agonistas de FXR mejorados.

SUMARIO

La presente divulgación proporciona compuestos que se unen al receptor NR1H4 (FXR) y actúan como agonistas o moduladores de FXR. La divulgación se refiere además al uso de los compuestos para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades y/o afecciones mediante la unión de dicho receptor nuclear por dichos compuestos.

La presente divulgación proporciona compuestos de acuerdo con la Fórmula (I):



(I)

en donde:

Q es fenileno o piridileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, metilo, alcoxi C₁₋₄, halo-alcoxi C₁₋₄, -CH₂F, -CHF₂, y -CF₃;

Y es N o CH;

A es piridileno o fenileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de halógeno, alcoxi C₁₋₄, halo-alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄ y halo-alquilo C₁₋₄;

Z es isoxazol sustituido con R¹ o pirazol sustituido con R¹;

R¹ es alquilo C₁₋₄ o cicloalquilo C₃₋₆, en donde

dicho alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de fluoro, hidroxilo, alcoxi C₁₋₃ y fluoro-alcoxi C₁₋₃, y

dicho cicloalquilo C₃₋₆ está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de fluoro, hidroxilo, alquilo C₁₋₃, fluoro-alquilo C₁₋₃, alcoxi C₁₋₃ y fluoro-alcoxi C₁₋₃;

R² y R³ se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, metoxi, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -OCH₂F, -OCHF₂, -OCF₃ y metilo;

R⁴ es -CO₂R⁵ o -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, o halo-alquilo C₁₋₆; y

R⁶ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆, en donde dicho alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con de 1 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, -SO₃H y -CO₂H;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero de los mismos.

Algunas realizaciones proporcionan composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

También se proporcionan en la presente compuestos de fórmula (I) para su uso en métodos para tratar a un

paciente que tiene una afección mediada por FXR.

DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

- 5 FIG. 1: exposición en plasma del Ejemplo 3 y el Ejemplo Comparativo 2 frente a niveles de FGF19 en plasma en monos cynomolgus.
 FIG. 2: niveles de FGF19 generados en monos cynomolgus con dosis orales crecientes del Ejemplo 3 y el Ejemplo Comparativo 2.

10 DESCRIPCIÓN DETALLADA

Definiciones

- 15 La siguiente descripción expone realizaciones ejemplares de la presente tecnología. Debe reconocerse, sin embargo, que no se pretende que dicha descripción sea una limitación del alcance de la presente divulgación, sino que se proporciona como una descripción de realizaciones ejemplares.

- 20 Como se usan en la presente memoria descriptiva, se pretende que las siguientes palabras, frases y símbolos tengan generalmente el significado que se expone a continuación, excepto en la medida en que el contexto en el que se usan indique lo contrario.

- 25 Las divulgaciones descritas de manera ilustrativa en el presente pueden ponerse en práctica adecuadamente en ausencia de cualquier elemento o elementos, limitación o limitaciones, no divulgadas específicamente en el presente. Así, por ejemplo, los términos "que comprende", "que incluye", "que contiene", etc. deben leerse de manera amplia y sin limitación. Además, los términos y expresiones empleados en la presente se han usado como términos de descripción y no de limitación, y el uso de tales términos y expresiones no tiene la intención de excluir ningún equivalente de las características mostradas y descritas o partes de las mismas, pero se reconoce que son posibles varias modificaciones dentro del alcance de la divulgación reivindicada.

- 30 Un guion ("-") que no está entre dos letras o símbolos se usa para indicar un punto de unión para un sustituyente. Por ejemplo, $-C(O)NH_2$ está unido a través del átomo de carbono. Un guion al principio o al final de un grupo químico es una cuestión de conveniencia; los grupos químicos pueden representarse con o sin uno o más guiones sin perder su significado ordinario. Una línea ondulada dibujada a través de una línea en una estructura indica un punto de unión de un grupo. A menos que se requiera química o estructuralmente, el orden en que se escribe o nombra un grupo químico no indica ni implica direccionalidad.

- 35 El sufijo "C_{u-v}" indica que el grupo anterior tiene de u a v átomos de carbono. Por ejemplo, "alquilo C₁₋₆" indica que el grupo alquilo tiene de 1 a 6 átomos de carbono.

- 40 La referencia a "aproximadamente" un valor o parámetro incluye (y describe) en la presente realizaciones que están dirigidas a ese valor o parámetro *per se*. En ciertas realizaciones, el término "aproximadamente" incluye la cantidad indicada $\pm 10\%$. En otras realizaciones, el término "aproximadamente" incluye la cantidad indicada $\pm 5\%$. En ciertas otras realizaciones, el término "aproximadamente" incluye la cantidad indicada $\pm 1\%$. Además, el término "aproximadamente X" incluye la descripción de "X". Además, las formas singulares "un" y "el" incluyen referencias en plural a menos que el contexto dicte claramente lo contrario. Por tanto, por ejemplo, la referencia al "compuesto" incluye una pluralidad de tales compuestos y la referencia al "ensayo" incluye la referencia a uno o más ensayos y equivalentes de los mismos conocidos por los expertos en la técnica.

- 50 En el contexto de la presente divulgación, "alquilo" significa una cadena hidrocarbonada saturada, que puede ser de cadena lineal o ramificada. En el contexto de la presente divulgación, "alquilo C₁₋₆" significa una cadena de alquilo saturada que tiene de 1 a 6 átomos de carbono que puede ser de cadena lineal o ramificada. Los ejemplos de los mismos incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, *n*-butilo, isobutilo, *terc*-butilo, *n*-pentilo, isopentilo, neopentilo y *n*-hexilo.

- 55 El término "haloalquilo" significa que uno o más átomos de hidrógeno en la cadena de alquilo están reemplazados por un halógeno. Un ejemplo no limitativo del mismo es CF₃.

- 60 Un grupo "cicloalquilo" significa un sistema de anillos de hidrocarburo mono-, bi- o espirocíclico saturado o parcialmente insaturado.

- Un grupo "alcoxi" se refiere a -O-alquilo, en donde el alquilo es como se define en la presente. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen metoxi, etoxi, *n*-propoxi, iso-propoxi, *n*-butoxi, *terc*-butoxi, *sec*-butoxi, *n*-pentoxi, *n*-hexoxi y 1,2-dimetilbutoxi.

- 65 "Halógeno" o "halo" se refiere a un átomo de F, Cl, Br o I.

"Hidroxilo" o "hidroxi" se refiere a -OH.

5 "Haloalcoxi" se refiere a un grupo alcoxi como se define en la presente en donde uno o más átomos de hidrógeno en la cadena de alquilo están reemplazados por un halógeno.

"Fluoroalquilo" se refiere a un grupo alquilo como se define en la presente en donde uno o más átomos de hidrógeno en la cadena de alquilo están reemplazados por fluoro.

10 "Fluoroalcoxi" se refiere a un grupo alcoxi como se define en la presente en donde uno o más átomos de hidrógeno en la cadena de alquilo están reemplazados por fluoro.

15 Los términos "opcional" u "opcionalmente" significan que el evento o circunstancia descrito posteriormente puede producirse o no, y que la descripción incluye casos en los que dicho evento o circunstancia se produce y casos en los que no. Además, el término "opcionalmente sustituido" se refiere a uno cualquiera o más átomos de hidrógeno en el átomo o grupo designado que puede o no estar reemplazado por una fracción distinta de hidrógeno.

20 Además, los compuestos de la presente divulgación pueden estar sujetos a tautomerismo. Cuando puede producirse tautomerismo, por ejemplo, tautomerismo ceto-enol, de los compuestos de la presente divulgación o sus profármacos, las formas individuales como, por ejemplo, la forma ceto y enol, están dentro del alcance de la divulgación, así como sus mezclas en cualquier proporción. Lo mismo se aplica a los estereoisómeros, como por ejemplo enantiómeros, isómeros cis/trans, confórmeros y similares.

25 El término "grupo protector" se refiere a una fracción de un compuesto que enmascara o altera las propiedades de un grupo funcional o las propiedades del compuesto en su totalidad. Los grupos protectores químicos y las estrategias para la protección/desprotección son bien conocidos en la técnica. Ver, por ejemplo, Protective Groups in Organic Chemistry, Theodora W. Greene, John Wiley & Sons, Inc., Nueva York, 1991. Los grupos protectores se utilizan a menudo para enmascarar la reactividad de ciertos grupos funcionales, para ayudar en la eficacia de las reacciones químicas deseadas, por ejemplo, formar y romper enlaces químicos de manera ordenada y planificada. El término "desproteger" se refiere a eliminar el grupo protector.

30 Un "grupo saliente" incluye un fragmento molecular que puede salir con un par de electrones de un enlace covalente al átomo de carbono que reacciona durante una reacción química.

35 El experto en la técnica apreciará que cuando las listas de sustituyentes alternativos incluyen miembros que, debido a sus requisitos de valencia u otras razones, no pueden usarse para sustituir un grupo en particular, se pretende que la lista se lea con el conocimiento del experto para incluir sólo aquellos miembros de la lista que son adecuados para sustituir el grupo particular.

40 En algunas realizaciones, los compuestos de la presente divulgación pueden estar en forma de "profármaco". El término "profármaco" se define en el campo farmacéutico como un derivado biológicamente inactivo de un fármaco que tras la administración al cuerpo humano se convierte en el fármaco original biológicamente activo de acuerdo con alguna vía química o enzimática. Los ejemplos de profármacos incluyen ácidos carboxílicos esterificados.

45 En el hígado humano, las UDP-glucuronosiltransferasas actúan sobre ciertos compuestos que tienen grupos amino, carbamilo, tio (sulfhidrilo) o hidroxilo para conjugar ácido uridina difosfato- α -D-glucurónico a través de enlaces glucósidos, o para esterificar compuestos con grupos carboxilo o hidroxilo en el proceso del metabolismo de fase II. Los compuestos de la presente divulgación pueden glucuronizarse, es decir, conjugarse con ácido glucurónico, para formar glucurónidos, particularmente (β -D)glucurónidos.

50 Un paso en la formación de la bilis es la conjugación de los ácidos biliares individuales con un aminoácido, particularmente glicina o taurina. Los compuestos de la presente divulgación pueden conjugarse con glicina o taurina en una posición sustituible.

55 Los compuestos de la presente divulgación pueden estar en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. El término "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de bases o ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo bases o ácidos inorgánicos y bases o ácidos orgánicos. En caso de que los compuestos de la presente divulgación contengan uno o más grupos ácidos o básicos, la divulgación también comprende sus correspondientes sales farmacéutica o toxicológicamente aceptables, en particular sus sales farmacéuticamente utilizables. Por tanto, los compuestos de la presente divulgación que contienen grupos ácidos pueden estar presentes en estos grupos y pueden usarse de acuerdo con la divulgación, por ejemplo, como sales de metales alcalinos, sales de metales alcalinotérreos o sales de amonio. Ejemplos más precisos de tales sales incluyen sales de sodio, sales de potasio, sales de calcio, sales de magnesio o sales con amoniaco o aminas orgánicas como, por ejemplo, etilamina, etanolamina, trietanolamina o aminoácidos. Los

compuestos de la presente divulgación que contienen uno o más grupos básicos, es decir, grupos que pueden protonarse, pueden estar presentes y pueden usarse de acuerdo con la divulgación en forma de sus sales de adición con ácidos inorgánicos u orgánicos. Los ejemplos de ácidos adecuados incluyen cloruro de hidrógeno, bromuro de hidrógeno, ácido fosfórico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido metanosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácidos naftalendisulfónicos, ácido oxálico, ácido acético, ácido tartárico, ácido láctico, ácido salicílico, ácido benzoico, ácido fórmico, ácido propiónico, ácido pivalico, ácido dietilacético, ácido malónico, ácido succínico, ácido pimélico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido málico, ácido sulfamínico, ácido fenilpropiónico, ácido glucónico, ácido ascórbico, ácido isonicotínico, ácido cítrico, ácido adípico y otros ácidos conocidos por el experto en la técnica. Si los compuestos de la presente divulgación contienen simultáneamente grupos ácidos y básicos en la molécula, la divulgación también incluye, además de las formas de sal mencionadas, sales internas o betaínas (zwitteriones). Las sales respectivas pueden obtenerse mediante métodos habituales que son conocidos por los expertos en la técnica como, por ejemplo, poniéndolas en contacto con un ácido o base orgánico o inorgánico en un solvente o dispersante, o por intercambio de aniones o intercambio de cationes con otras sales. La presente divulgación también incluye todas las sales de los compuestos de la presente divulgación que, debido a la baja compatibilidad fisiológica, no son directamente adecuadas para su uso en productos farmacéuticos pero que pueden usarse, por ejemplo, como productos intermedios para reacciones químicas o para la preparación de sales farmacéuticamente aceptables.

Además, los compuestos de la presente divulgación pueden estar presentes en forma de solvatos, como los que incluyen agua como solvato, o solvatos farmacéuticamente aceptables, como alcoholes, en particular etanol. Un "solvato" se forma por la interacción de un solvente y un compuesto.

En ciertas realizaciones, se proporcionan isómeros ópticos, racematos u otras mezclas de los mismos de los compuestos descritos en la presente o una sal farmacéuticamente aceptable o una mezcla de los mismos. Si se desea, los isómeros pueden separarse mediante métodos bien conocidos en la técnica, por ejemplo, mediante cromatografía líquida. En esas situaciones, el enantiómero o diastereómero individual, es decir, la forma ópticamente activa, puede obtenerse por síntesis asimétrica o por resolución. La resolución puede lograrse, por ejemplo, mediante métodos convencionales como cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía, usando, por ejemplo, una columna de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) quiral.

Un "estereoisómero" se refiere a un compuesto formado por los mismos átomos unidos por los mismos enlaces pero que tienen diferentes estructuras tridimensionales, que no son intercambiables. La presente invención contempla varios estereoisómeros y mezclas de los mismos e incluye "enantiómeros", que se refiere a dos estereoisómeros cuyas moléculas son imágenes especulares no superponibles entre sí. Los "diastereómeros" son estereoisómeros que tienen por lo menos dos átomos asimétricos, pero que no son imágenes especulares entre sí.

Los compuestos de acuerdo con la invención y sus sales farmacéuticamente aceptables pueden incluir un centro asimétrico y, por tanto, pueden dar lugar a enantiómeros, diastereómeros y otras formas estereoisómeras que pueden definirse, en términos de estereoquímica absoluta, como (R)- o (S)- o, como (D)- o (L)- para aminoácidos. Se pretende que la presente invención incluya todos los posibles isómeros, así como sus formas racémicas y ópticamente puras. Los isómeros (+) y (-), (R)- y (S)-, o (D)- y (L)- ópticamente activos pueden prepararse usando sintones quirales o reactivos quirales, o resolverse usando técnicas convencionales, por ejemplo, cromatografía y cristalización fraccionada. Las técnicas convencionales para la preparación/aislamiento de enantiómeros individuales incluyen la síntesis quiral a partir de un precursor ópticamente puro adecuado o la resolución del racemato (o el racemato de una sal o derivado) usando, por ejemplo, cromatografía líquida de alta presión (HPLC) quiral. Cuando los compuestos descritos en la presente contienen enlaces dobles olefínicos u otros centros de asimetría geométrica, y a menos que se especifique lo contrario, se pretende que los compuestos incluyan los isómeros geométricos tanto E como Z.

Las composiciones proporcionadas en la presente que incluyen un compuesto descrito en la presente o sales, isómeros o mezclas de los mismos farmacéuticamente aceptables pueden incluir mezclas racémicas o mezclas que contienen un exceso enantiomérico de un enantiómero o diastereómeros individuales o mezclas diastereoisoméricas. Todas las formas isoméricas de estos compuestos se incluyen expresamente en la presente como si todas y cada una de las formas isoméricas se enumeraran específica e individualmente.

También se pretende que cualquier fórmula o estructura proporcionada en la presente represente formas no marcadas así como formas marcadas isotópicamente de los compuestos. Los compuestos marcados isotópicamente tienen estructuras representadas por las fórmulas dadas en la presente, excepto que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o un número de masa seleccionados. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en los compuestos de la divulgación incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro como, pero no limitados a, ^2H (deuterio, D), ^3H (tritio), ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}F , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{36}Cl y ^{125}I . Se incorporan varios compuestos marcados isotópicamente de la presente divulgación, por ejemplo aquellos en los que se encuentran isótopos radiactivos como ^3H , ^{13}C y ^{14}C . Tales compuestos marcados isotópicamente pueden ser útiles en estudios metabólicos, estudios cinéticos de reacción, técnicas de detección o imagenología, como la tomografía por emisión de positrones (PET) o la tomografía computarizada por emisión de

fotón único (SPECT), incluyendo los ensayos de distribución de fármacos o sustratos en tejidos o en el tratamiento radiactivo de pacientes. Los compuestos marcados isotópicamente de esta divulgación y los profármacos de los mismos generalmente pueden prepararse llevando a cabo los procedimientos divulgados en los esquemas o en los ejemplos y preparaciones descritos a continuación sustituyendo un reactivo marcado isotópicamente fácilmente disponible por un reactivo no marcado isotópicamente.

La divulgación también incluye "análogos deuterados" de compuestos de Fórmula (I) en los que de 1 a n hidrógenos unidos a un átomo de carbono se reemplazan por deuterio, en los que n es el número de hidrógenos en la molécula. Tales compuestos pueden mostrar una resistencia aumentada al metabolismo y, por lo tanto, ser útiles para aumentar la vida media de cualquier compuesto de Fórmula I cuando se administran a un mamífero, por ejemplo, un ser humano. Ver, por ejemplo, Foster, "Deuterium Isotope Effects in Studies of Drug Metabolism," Trends Pharmacol. Sci. 5(12):524-527 (1984). Tales compuestos se sintetizan por medios bien conocidos en la técnica, por ejemplo, empleando materiales de partida en los que uno o más hidrógenos han sido reemplazados por deuterio.

Los compuestos terapéuticos marcados con deuterio o sustituidos de la divulgación pueden tener propiedades DMPK (farmacocinética y metabolismo de fármacos) mejoradas, relacionadas con la distribución, el metabolismo y la excreción (ADME). La sustitución con isótopos más pesados, como el deuterio, puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una mayor vida media *in vivo*, requisitos de dosificación reducidos y/o una mejora en el índice terapéutico. Un compuesto marcado con ¹⁸F puede ser útil para estudios PET o SPECT.

La concentración de un isótopo más pesado, específicamente el deuterio, puede definirse mediante un factor de enriquecimiento isotópico. En los compuestos de esta divulgación, se pretende que cualquier átomo no designado específicamente como un isótopo particular represente cualquier isótopo estable de ese átomo. A menos que se indique lo contrario, cuando una posición se designa específicamente como "H" o "hidrógeno", se entiende que la posición tiene hidrógeno en su composición isotópica de abundancia natural. Por consiguiente, en los compuestos de esta divulgación, se pretende que cualquier átomo designado específicamente como deuterio (D) represente deuterio.

Además, la presente divulgación proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden por lo menos un compuesto de la presente divulgación, o un compuesto profármaco del mismo, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo como ingrediente activo junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

"Composición farmacéutica" significa uno o más ingredientes activos y uno o más ingredientes inertes que componen el portador, así como cualquier producto que resulte, directa o indirectamente, de la combinación, formación de complejos o agregación de dos cualquiera o más de los ingredientes, o de la disociación de uno o más de los ingredientes, o de otros tipos de reacciones o interacciones de uno o más de los ingredientes. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas de la presente divulgación abarcan cualquier composición preparada mezclando por lo menos un compuesto de la presente divulgación y un portador farmacéuticamente aceptable.

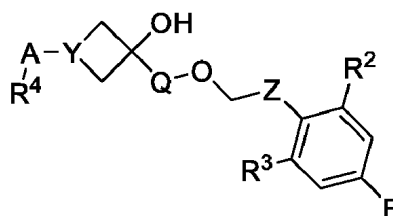
Lista de abreviaturas y acrónimos

45	Abreviatura	Significado
	(±)-BINAP	(±)-2,2'-Bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftaleno
	2-MeTHF	2-metiltetrahidrofurano
	ACN o MeCN	acetonitrilo
	ac.	acuoso
50	Bn	bencilo
	BOC o Boc	t-butiloxicarbonilo
	BSA	Albúmina de suero bovino
	BSS	Solución Salina Equilibrada
	calc.	calculado
55	DAST	trifluoruro de (dietilamino) zufre
	DCM	diclorometano
	DIBAL-H	Hidruro de diisobutilaluminio
	DMF	dimetilformamida
	DMSO	Dimetilsulfóxido
60	EA	Acetato de etilo
	EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético
	ESI	Ionización por pulverización de electrones
	Et	Etilo
	Et ₂ O	Éter dietílico
65	EtOAc	Acetato de etilo

	FBS	Suero bovino fetal
	h o hr	Horas
	HATU	Hexafluorofosfato de 3-óxido de 1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5- <i>b</i>]piridinio
5	HPLC	Cromatografía líquida de alto rendimiento
	IPA	Alcohol isopropílico
	IPTG	Isopropil β-D-1-tiogalactopiranosido
	LCMS o LC/MS	Cromatografía líquida Espectrometría de masas
	Me	Metilo
10	MEM	Medio Esencial Mínimo
	MeOH	metanol
	min	Minutos
	MS	Espectrometría de masas
	m/z	Relación masa-carga
15	NADPH	Fosfato de dinucleótido de dihidronicotinamida-adenina
	NMP	N-metilpirrolidona
	NMR	Espectroscopia por resonancia magnética nuclear
	n-BuLi	n-butilitio
20	rpm	Revoluciones por minuto
	PE	Éter de petróleo
	TA o ta	Temperatura ambiente
	sat.	Saturado
	TBAF	Fluoruro de tetrabutilamonio
	TBDMS	<i>t</i> -butildimetilsililo
25	TBS	<i>t</i> -butildimetilsililo
	TEMPO	2,2,6,6-tetrametilpiperidina 1-oxilo
	TFA	Ácido trifluoroacético
	THF	tetrahidrofurano
	TMS	trimetilsililo
30	UPLC	Cromatografía líquida de ultra rendimiento

Compuestos

En la presente se proporcionan compuestos de acuerdo con la Fórmula (I):



(I)

en donde:

Q es fenileno o piridileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, metilo, alcoxi C₁₋₄, halo-alcoxi C₁₋₄, -CH₂F, -CHF₂, y -CF₃;
Y es N o CH;

A es piridileno o fenileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de halógeno, alcoxi C₁₋₄, halo-alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄ y halo-alquilo C₁₋₄;
Z es isoxazol sustituido con R¹ o pirazol sustituido con R¹;

R¹ es alquilo C₁₋₄ o cicloalquilo C₃₋₆, en donde

dicho alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de fluoro, hidroxilo, alcoxi C₁₋₃ y fluoro-alcoxi C₁₋₃, y

dicho cicloalquilo C₃₋₆ está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de fluoro, hidroxilo, alquilo C₁₋₃, fluoro-alquilo C₁₋₃, alcoxi C₁₋₃ y fluoro-alcoxi C₁₋₃;

R² y R³ se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, metoxi, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -OCH₂F, -OCHF₂, -OCF₃ y metilo;

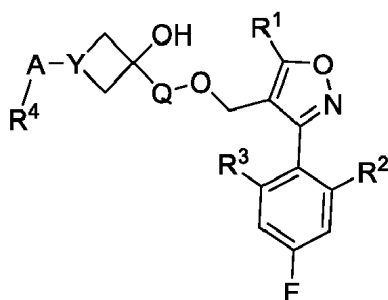
R^4 es $-\text{CO}_2R^5$ o $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^5R^6$;

R^5 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , o halo-alquilo C_{1-6} ; y

R^6 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} , en donde dicho alquilo C_{1-6} está opcionalmente sustituido con de 1 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, $-\text{SO}_3\text{H}$ y $-\text{CO}_2\text{H}$;

5 o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero de los mismos.

Una realización de la divulgación que no se reivindica proporciona compuestos de Fórmula (Ia):



(Ia)

en donde:

Q es fenileno o pirdileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, metilo, alcoxi C_{1-4} , halo-alcoxi C_{1-4} , $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{CHF}_2$, y $-\text{CF}_3$;

Y es N o CH;

A es pirdileno o fenileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de halógeno, alcoxi C_{1-4} , halo-alcoxi C_{1-4} , alquilo C_{1-4} y halo-alquilo C_{1-4} ;

R^1 es alquilo C_{1-4} o cicloalquilo C_{3-6} , en donde

dicho alquilo C_{1-4} está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de fluoro, hidroxilo, alcoxi C_{1-3} y fluoro-alcoxi C_{1-3} , y

dicho cicloalquilo C_{3-6} está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de fluoro, hidroxilo, alquilo C_{1-3} , fluoro-alquilo C_{1-3} , alcoxi C_{1-3} y fluoro alcoxi C_{1-3} ;

R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, metoxi, $-\text{CF}_3$, $-\text{CHF}_2$, $-\text{CH}_2\text{F}$, $-\text{OCH}_2\text{F}$, $-\text{OCHF}_2$, $-\text{OCF}_3$ y metilo;

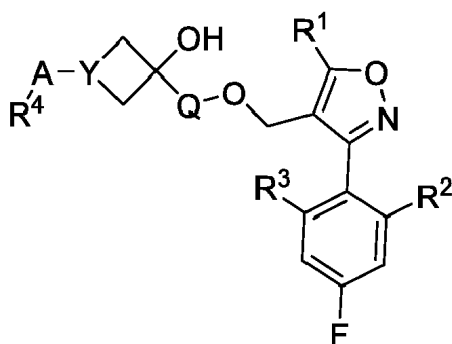
R^4 es $-\text{CO}_2R^5$ o $-\text{C}(\text{O})\text{NR}^5R^6$;

R^5 es hidrógeno, alquilo C_{1-6} , o halo-alquilo C_{1-6} ;

R^6 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} , en donde dicho alquilo C_{1-6} está opcionalmente sustituido con de 1 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, $-\text{SO}_3\text{H}$ y $-\text{CO}_2\text{H}$;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero de los mismos.

Una realización de la divulgación que no se reivindica proporciona compuestos de Fórmula (Ia):



(Ia)

en donde:

Q es fenileno opcionalmente sustituido con uno o dos halógenos;

Y es N o CH;

5 A es piridileno opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de halógeno y alcoxí C₁₋₄;

R¹ es alquilo C₁₋₄ o cicloalquilo C₃₋₆;

R² y R³ se seleccionan independientemente de hidrógeno y halógeno;

10 R⁴ es -CO₂R⁵ o -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ es hidrógeno; y

R⁶ es alquilo C₁₋₂ opcionalmente sustituido con -CO₂H o -SO₃H;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero de los mismos.

15 En una realización, Q es fenileno o piridileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, metilo, -CHF₂ y -CF₃. En algunas realizaciones, Q es fenileno opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, metilo y -CF₃. En algunas realizaciones, Q es piridileno opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, metilo y -CF₃.

25 En una realización, Q es fenileno opcionalmente sustituido con uno o dos halógenos. En algunas realizaciones, Q es piridileno opcionalmente sustituido con uno o dos halógenos. En algunas realizaciones, Q es fenileno opcionalmente sustituido con uno o dos cloro. En algunas realizaciones, Q es piridileno opcionalmente sustituido con uno o dos cloro.

En una realización, Q es fenileno sustituido con un cloro. En algunas realizaciones, Q es piridileno sustituido con un cloro.

30 En una realización, R¹ es alquilo C₁₋₄. En algunas realizaciones, R¹ es cicloalquilo C₃₋₆. En algunas realizaciones, R¹ es ciclopropilo o metilo. En algunas realizaciones, R¹ es ciclopropilo.

35 En una realización, R² y R³ no son ambos hidrógeno. En algunas realizaciones, R² y R³ se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, metoxi, -OCHF₂, -OCF₃ y metilo. En algunas realizaciones, R² y R³ se seleccionan independientemente de halógeno, metoxi, -OCHF₂, -OCF₃ y metilo.

En una realización, R² y R³ son halógeno. En algunas realizaciones, R² y R³ son cloro.

40 En una realización, uno de R² y R³ es un halógeno y el otro es hidrógeno. En una realización, uno de R² y R³ es cloro y el otro es hidrógeno. En algunas realizaciones, uno de R² y R³ es un fluoro y el otro es hidrógeno.

En una realización, Y es N. En algunas realizaciones, Y es CH.

45 En una realización, A es piridileno opcionalmente sustituido con uno o dos halógenos. En algunas realizaciones, A es piridileno opcionalmente sustituido con uno o dos alcoxí C₁₋₄.

En una realización, A es piridileno sustituido con un fluoro. En algunas realizaciones, A es piridileno sustituido con un metoxi. En una realización, A es piridileno no sustituido.

50 En una realización, A es fenileno opcionalmente sustituido con uno o dos halógenos. En una realización, A es fenileno opcionalmente sustituido con uno o dos alcoxí C₁₋₄.

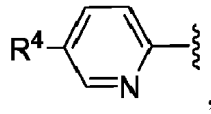
En una realización, A es fenileno sustituido con un fluoro. En una realización, A es fenileno sustituido con un metoxi. En una realización, A es fenileno no sustituido.

55 En una realización, R⁴ es -CO₂R⁵ y R⁵ es hidrógeno. En una realización, R⁴ es -CO₂R⁵ y R⁵ es alquilo C₁₋₆ o haloalquilo C₁₋₆.

60 En una realización, R⁴ es -C(O)NR⁵R⁶, R⁵ es alquilo C₁₋₆ o haloalquilo C₁₋₆, y R⁶ es alquilo C₁₋₂, en donde dicho alquilo C₁₋₂ está sustituido con -SO₃H o -CO₂H.

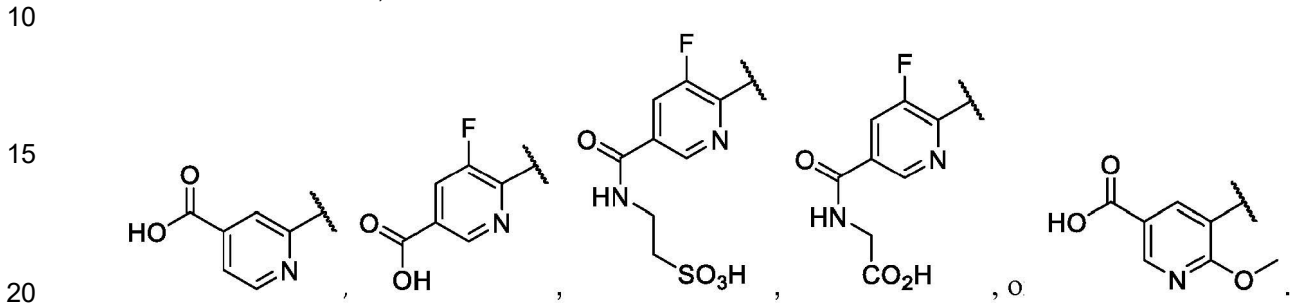
En una realización, R⁴ es -C(O)NR⁵R⁶, R⁵ es hidrógeno y R⁶ es alquilo C₁₋₂, en donde dicho alquilo C₁₋₂ está sustituido con -SO₃H o -CO₂H.

65 En una realización, R⁴-A es:

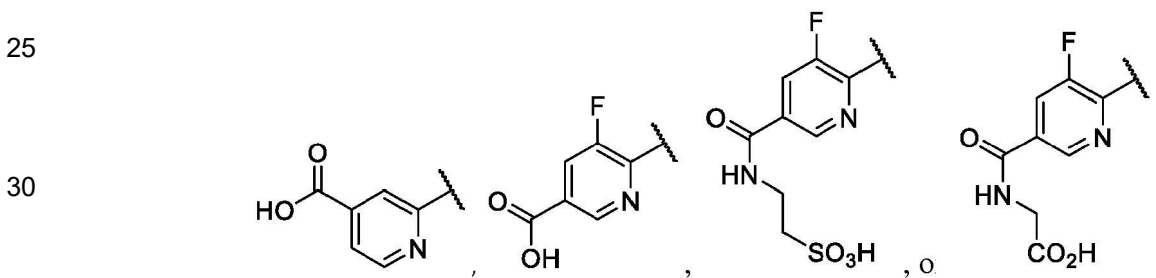


5 en donde el piridileno está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de halógeno, alcoxi C₁₋₄, halo-alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄ y halo-alquilo C₁₋₄.

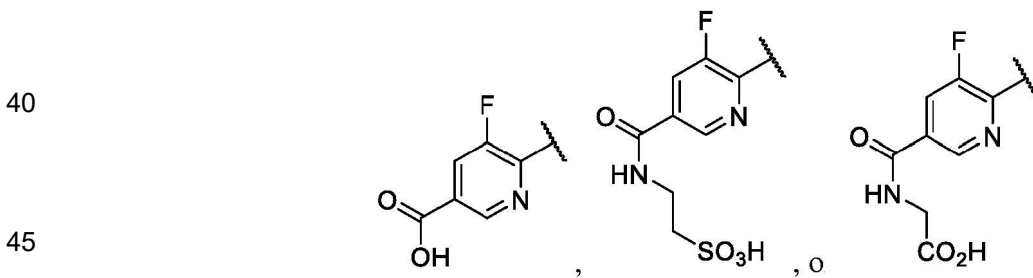
10 En una realización, R⁴-A es:



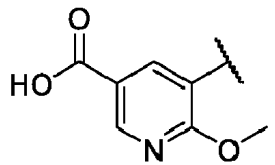
25 En una realización, R⁴-A es:



40 En una realización, R⁴-A es:



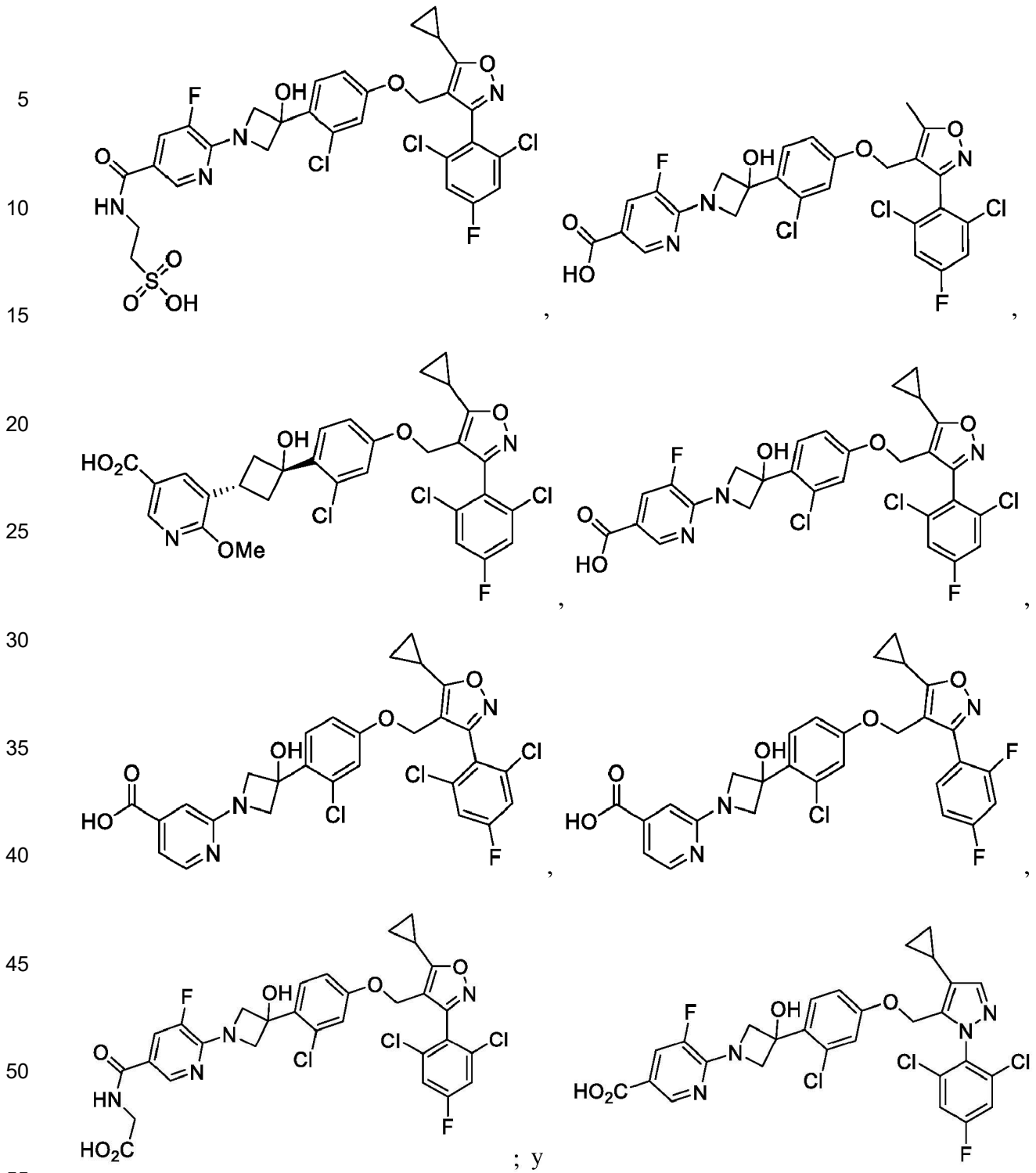
55 En una realización, R⁴-A es



65 En una realización, se proporciona un compuesto seleccionado del grupo que consiste de:

60

65

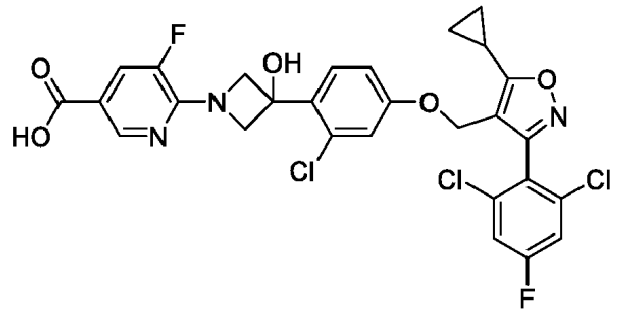


o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero de los mismos.

En una realización, en la presente se proporciona un compuesto que tiene la siguiente fórmula:

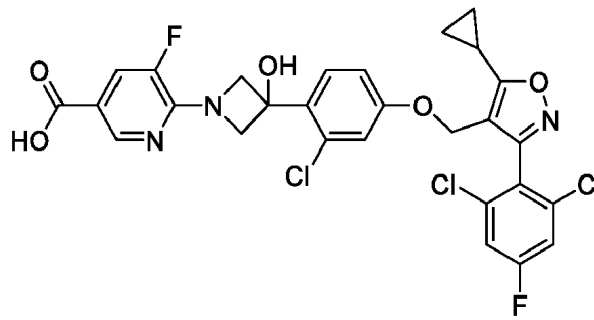
60

65



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, en la presente se proporciona un compuesto que tiene la siguiente fórmula:



El nombre químico de cada uno de estos compuestos se proporciona en la Tabla 1 a continuación.

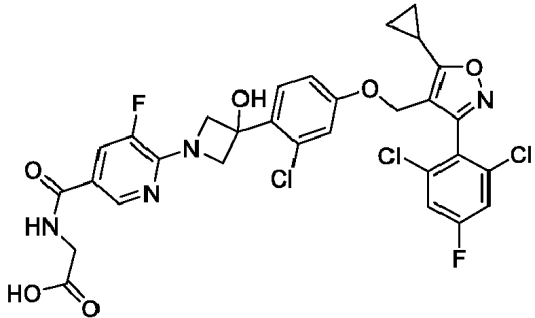
Tabla 1

Ejemplo	Estructura	Nombre IUPAC
1		<p>Ácido 2-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,4-difluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotínico</p>
2		<p>Ácido 2-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotínico</p>

(continuación)

Ejemplo	Estructura	Nombre IUPAC
3		Ácido 6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotínico
4		Ácido 6-(3-(2-cloro-4-((3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-5-metilisoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotínico
5		Ácido 6-(3-(2-cloro-4-((4-ciclopropil-1-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-1H-pirazol-5-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotínico
6		Ácido 5-((1S,3S)-3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiciclobutil)-6-metoxicinicotínico
7		Ácido 2-(6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinamido)etano-1-sulfónico

(continuación)

Ejemplo	Estructura	Nombre IUPAC
8		(6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinoil)glicina

Composiciones Farmacéuticas y Modos de Administración

La presente divulgación proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden por lo menos un compuesto de la presente divulgación, o un profármaco, una sal farmacéuticamente aceptable o un solvato del mismo como ingrediente activo junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

La composición farmacéutica de la presente divulgación puede comprender adicionalmente uno o más compuestos como ingredientes activos como un profármaco u otros moduladores de receptores nucleares.

Las composiciones son adecuadas para administración oral, rectal, tópica, parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular e intravenosa), ocular (oftálmica), pulmonar (inhalación nasal o bucal) o nasal, aunque la vía más adecuada en cada caso dependerá de la naturaleza y gravedad de las condiciones a tratar y de la naturaleza del ingrediente activo. Pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y prepararse mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en el campo de la farmacia.

En el uso práctico, los compuestos de la presente divulgación pueden combinarse como el ingrediente activo en una mezcla profunda con un portador farmacéutico de acuerdo con las técnicas convencionales de preparación de compuestos farmacéuticos. El portador puede tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para la administración, por ejemplo, oral o parenteral (incluyendo la intravenosa). En la preparación de las composiciones para la forma de dosificación oral, puede emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, como por ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes, colorantes y similares en el caso de las preparaciones líquidas orales como, por ejemplo, suspensiones, elixires y soluciones; o portadores como almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de preparaciones sólidas orales como, por ejemplo, polvos, cápsulas duras y blandas y comprimidos, prefiriéndose las preparaciones orales sólidas sobre las preparaciones líquidas.

Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y las cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean portadores farmacéuticos sólidos. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse mediante técnicas estándar acuosas o no acuosas. Tales composiciones y preparaciones deben contener por lo menos un 0,1 por ciento de compuesto activo. El porcentaje de compuesto activo en estas composiciones puede variar, por supuesto, y puede estar convenientemente entre aproximadamente el 2 por ciento y aproximadamente el 60 por ciento del peso de la unidad. La cantidad de compuesto activo en tales composiciones terapéuticamente útiles es tal que se obtendrá una dosificación eficaz. Los principios activos también pueden administrarse por vía intranasal, por ejemplo, como gotas líquidas o espray.

Los comprimidos, píldoras, cápsulas y similares también pueden contener un aglutinante como goma de tragacanto, acacia, almidón de maíz o gelatina; excipientes como fosfato dicálcico; un agente disgregante como almidón de maíz, almidón de patata, ácido alginico; un lubricante como estearato de magnesio; y un agente edulcorante como sacarosa, lactosa o sacarina. Cuando una forma de unidad de dosificación es una cápsula, puede contener, además de los materiales del tipo anterior, un portador líquido como un aceite graso.

Pueden estar presentes varios otros materiales como recubrimientos o para modificar la forma física de la unidad de dosificación. Por ejemplo, los comprimidos pueden recubrirse con goma laca, azúcar o ambos. Un jarabe o elixir puede contener, además del ingrediente activo, sacarosa como agente edulcorante, metil y propilparabenos como conservantes, un colorante y un aromatizante como aroma de cereza o naranja.

Como los compuestos de la presente divulgación representan principalmente ácidos carboxílicos o isómeros aniónicos similares de los mismos, y como las formas de sal de los compuestos iónicos pueden afectar

5 sustancialmente a la biodisponibilidad, los compuestos de la presente divulgación también pueden usarse como sales con varios contracciones para producir una formulación disponible por vía oral. Tales cationes farmacéuticamente aceptables pueden ser, entre otros, iones mono- o bivalentes como el amonio, los metales alcalinos sodio o potasio o los metales alcalinotérreos magnesio o calcio, ciertas aminos farmacéuticamente aceptables como tris(hidroximetil)aminometano, etilendiamina, dietilamina, piperazina u otros, o ciertos aminoácidos catiónicos como la lisina o la arginina.

10 Los compuestos de la presente divulgación también pueden administrarse por vía parenteral. Las soluciones o suspensiones de estos compuestos activos pueden prepararse en agua mezclada adecuadamente con un surfactante como hidroxipropilcelulosa. También pueden prepararse dispersiones en glicerol, polietilenglicoles líquidos y mezclas de los mismos en aceites. En condiciones ordinarias de almacenamiento y uso, estas preparaciones contienen un conservante para evitar el crecimiento de microorganismos.

15 Las formas farmacéuticas adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles y polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser fluida en la medida en que exista una fácil capacidad de inyección. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe ser preservada contra la acción contaminante de microorganismos como bacterias y hongos. El portador puede ser un solvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales.

20 Puede emplearse cualquier vía de administración adecuada para proporcionar a un mamífero, especialmente a un humano, una dosis eficaz de un compuesto de la presente divulgación. Por ejemplo, pueden emplearse las vías oral, rectal, tópica, parenteral, ocular, pulmonar, nasal y similares. Las formas de dosificación incluyen comprimidos, trociscos, dispersiones, suspensiones, soluciones, cápsulas, cremas, pomadas, aerosoles y similares. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente descripción se administran por vía oral.

25 Kits

30 En la presente también se proporcionan kits que incluyen un compuesto de la divulgación, o una sal farmacéuticamente aceptable, tautómero, estereoisómero, mezcla de estereoisómeros, profármaco o análogo deuterado del mismo, y un envase adecuado. En una realización, un kit incluye además instrucciones de uso. En un aspecto, un kit incluye un compuesto de la divulgación, o una sal farmacéuticamente aceptable, tautómero, estereoisómero, mezcla de estereoisómeros, profármaco o análogo deuterado del mismo, y una etiqueta y/o instrucciones para el uso de los compuestos en el tratamiento de las indicaciones, incluyendo las enfermedades o afecciones, descritas en la presente.

40 En la presente también se proporcionan artículos de fabricación que incluyen un compuesto descrito en la presente o una sal farmacéuticamente aceptable, tautómero, estereoisómero, mezcla de estereoisómeros, profármaco o análogo deuterado del mismo en un recipiente adecuado. El recipiente puede ser un vial, frasco, ampolla, jeringuilla precargada y bolsa intravenosa.

Métodos de tratamiento y usos

45 "Tratamiento" o "tratar" es un enfoque para obtener resultados beneficiosos o deseados incluyendo resultados clínicos. Los resultados clínicos beneficiosos o deseados pueden incluir uno o más de los siguientes: a) inhibir la enfermedad o afección (por ejemplo, disminuir uno o más síntomas resultantes de la enfermedad o afección y/o disminuir la extensión de la enfermedad o afección); b) ralentizar o detener el desarrollo de uno o más síntomas clínicos asociados con la enfermedad o afección (por ejemplo, estabilizar la enfermedad o afección, prevenir o retrasar el empeoramiento o la progresión de la enfermedad o afección y/o prevenir o retrasar la propagación (por ejemplo, metástasis) de la enfermedad o afección); y/o c) aliviar la enfermedad, es decir, por ejemplo, mejorar el estado de la enfermedad, proporcionar una remisión parcial o total de la enfermedad o afección, potenciar el efecto de otro medicamento, retrasar la progresión de la enfermedad, aumentar la calidad de vida y/o prolongar la supervivencia.

50 "Prevención" o "prevenir" significa cualquier tratamiento de una enfermedad o afección que hace que no se desarrollen los síntomas clínicos de la enfermedad o afección. Los compuestos pueden, en algunas realizaciones, administrarse a un sujeto (incluyendo un humano) que está en riesgo o tiene historial familiar de la enfermedad o afección.

60 "Sujeto" se refiere a un animal, como un mamífero (incluyendo un humano), que ha sido o será objeto de tratamiento, observación o experimento. Los métodos descritos en la presente pueden ser útiles en terapia humana y/o aplicaciones veterinarias. En algunas realizaciones, el sujeto es un mamífero. En una realización, el sujeto es un humano.

El término "cantidad terapéuticamente eficaz" o "cantidad eficaz" de un compuesto descrito en la presente o una sal farmacéuticamente aceptable, tautómero, estereoisómero, mezcla de estereoisómeros, profármaco o análogo deuterado significa una cantidad suficiente para efectuar el tratamiento cuando se administra a un sujeto, para proporcionar un beneficio terapéutico como la mejora de los síntomas o la ralentización de la progresión de la enfermedad. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz puede ser una cantidad suficiente para disminuir un síntoma de una enfermedad o afección que responda a la inhibición de la actividad de Cot. La cantidad terapéuticamente eficaz puede variar dependiendo del sujeto, la enfermedad o afección que se esté tratando, el peso y la edad del sujeto, la gravedad de la enfermedad o afección y la forma de administración, que pueden ser determinados fácilmente por un experto en la técnica.

La divulgación se refiere además al uso de dichos compuestos para el tratamiento y/o profilaxis de enfermedades y/o afecciones mediante la unión de dicho receptor nuclear por dichos compuestos.

En algunas realizaciones, se proporciona un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una afección mediada por FXR.

En algunas realizaciones, la afección mediada por FXR es:

una afección colestática intrahepática crónica o alguna forma extrahepática; fibrosis hepática; un trastorno inflamatorio obstructivo del hígado; trastorno inflamatorio crónico del hígado; cirrosis hepática; esteatosis hepática o un síndrome asociado; efectos colestáticos o fibróticos asociados con cirrosis inducida por alcohol o con formas de hepatitis transmitidas por virus; insuficiencia hepática o isquemia hepática después de una resección hepática mayor; esteatohepatitis asociada a quimioterapia (CASH); insuficiencia hepática aguda; o enfermedad inflamatoria intestinal.

En algunas realizaciones, la afección mediada por FXR es:

un trastorno de lípidos y lipoproteínas; diabetes tipo I; diabetes tipo II; complicaciones clínicas de la diabetes tipo I y tipo II seleccionadas del grupo que consiste de nefropatía diabética, neuropatía diabética, retinopatía diabética y otros efectos observados de la diabetes clínicamente manifiesta a largo plazo; enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD); esteatohepatitis no alcohólica (NASH); obesidad; un síndrome metabólico seleccionado del grupo que consiste de condiciones combinadas de dislipidemia, diabetes e índice de masa corporal anormalmente alto; infarto agudo de miocardio; ataque cerebral agudo; o trombosis que se produce como punto final de la aterosclerosis obstructiva crónica.

En algunas realizaciones, la afección mediada por FXR es:

un trastorno hiperproliferativo no maligno; y un trastorno hiperproliferativo maligno seleccionado del grupo que consiste de carcinoma hepatocelular, adenoma de colon y poliposis; adenocarcinoma de colon; cáncer de mama; adenocarcinoma de páncreas; esófago de Barrett; o otras formas de enfermedades neoplásicas del tracto gastrointestinal y el hígado.

En algunas realizaciones, la afección mediada por FXR es esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

En algunas realizaciones, la presente divulgación se refiere al uso de compuestos de acuerdo con la Fórmula (I) en la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento de afecciones colestáticas intrahepáticas crónicas o algunas formas extrahepáticas, de fibrosis hepática, de afecciones colestáticas

5 intrahepáticas agudas, de trastornos inflamatorios obstructivos o crónicos que surgen de una composición biliar inadecuada, de afecciones gastrointestinales con una absorción reducida de grasas dietéticas y vitaminas dietéticas liposolubles, enfermedades de inflamatorias del intestino, de trastornos de lípidos y lipoproteínas, de diabetes tipo II y complicaciones clínicas de la diabetes tipo I y tipo II, de afecciones y enfermedades que resultan de la degeneración grasa y fibrótica crónica de los órganos debido a la acumulación forzada de lípidos y específicamente de triglicéridos y la posterior activación de las vías profibróticas, de la obesidad y el síndrome metabólico (afecciones combinadas de dislipidemia, diabetes e índice de masa corporal anormalmente alto), de infarto agudo de miocardio, de ataque cerebral agudo, de trombosis que se produce como punto final de la aterosclerosis obstructiva crónica, de infecciones persistentes por bacterias intracelulares o protozoos parasitarios, de trastornos hiperproliferativos no malignos, de trastornos hiperproliferativos malignos, de adenocarcinoma de colon y carcinoma hepatocelular en particular, de esteatosis hepática y síndromes asociados, de insuficiencia hepática o mal funcionamiento del hígado como resultado de enfermedades hepáticas crónicas o de resección quirúrgica del hígado, de la infección por hepatitis B, de la infección por hepatitis C y/o de los efectos colestásicos y fibróticos que están asociados con la cirrosis inducida por el alcohol o con formas de hepatitis transmitidas por virus.

15 Los medicamentos a los que se hace referencia en la presente pueden prepararse mediante procesos convencionales, incluyendo la combinación de un compuesto de acuerdo con la presente divulgación y un portador farmacéuticamente aceptable.

20 Se propone que FXR sea un sensor nuclear de ácidos biliares. Como resultado, modula tanto la producción sintética de ácidos biliares en el hígado como su reciclaje en el intestino (regulando las proteínas de unión de ácidos biliares). Pero más allá de la fisiología de los ácidos biliares, FXR parece estar implicado en la regulación de muchos procesos fisiológicos diversos que son relevantes en la etiología y para el tratamiento de enfermedades tan diversas como cálculos biliares de colesterol, trastornos metabólicos como la diabetes tipo II, dislipidemias u obesidad, enfermedades inflamatorias crónicas como enfermedades inflamatorias del intestino o formas intrahepáticas crónicas de colestasis y muchas otras enfermedades.

30 FXR regula un patrón complejo de genes de respuesta en el hígado y en el tracto gastrointestinal. Los productos génicos tienen impacto sobre diversos procesos fisiológicos. En el curso del análisis funcional de FXR, la primera red reguladora que se analizó fue la regulación de la síntesis de ácidos biliares. Mientras que los LXR inducen la enzima clave de la conversión del colesterol en ácidos biliares, Cyp7A1, a través de la inducción del receptor nuclear regulador LRH-1, FXR reprime la inducción de Cyp7A1 a través de la regulación por incremento del ARNm que codifica SHP, otro receptor nuclear que es represivo dominante sobre LRH-1. Como FXR se une a los productos finales de esta vía, ácidos biliares primarios como el ácido cólico (CA) o CDCA, esto puede considerarse un ejemplo de inhibición por retroalimentación en el nivel de expresión génica. Paralelamente a la represión de la síntesis de ácidos biliares a través de SHP, FXR induce una serie de transportadores llamados ABC (por casete de unión a ATP) que son responsables de la exportación de ácidos biliares tóxicos desde el citosol del hepatocito hacia los canalículos, las pequeñas ramificaciones de los conductos biliares donde se origina la bilis. Esta función hepatoprotectora de FXR se hizo evidente por primera vez con el análisis de ratones knockout para FXR, donde se mostró la subexpresión o la sobreexpresión de varios transportadores de ABC en el hígado. Un análisis más detallado reveló que la principal bomba excretora de sales biliares BSEP o ABCB11 (así como la enzima clave que media la transferencia de lípidos de las lipoproteínas a los fosfolípidos, PLTP, y los dos transportadores clave de la membrana canalicular para fosfolípidos, MRP-2 (ABCC4) y MDR -3 (ABCB4), son objetivos directos para la activación transcripcional dirigida por ligando por FXR.

45 El hecho de que FXR parezca ser el principal sensor y regulador de metabolitos para la síntesis, exportación y recirculación de ácidos biliares sugirió el uso de ligandos de FXR para inducir el flujo de bilis y cambiar la composición de ácidos biliares hacia una composición más hidrófila. Con el desarrollo del primer ligando de FXR sintético GW4064 como compuesto de herramienta y del ligando de ácido biliar artificial semisintético 6-alfa-etil-CDCA, se pudieron analizar los efectos de la superestimulación de FXR por agonistas potentes. Se demostró que ambos ligandos inducen el flujo de bilis en animales ligados al conducto biliar. Además, además de los efectos coleréticos, también pudieron demostrarse efectos hepatoprotectores. Este efecto hepatoprotector se redujo aún más a un efecto antifibrótico que resulta de la represión de los inhibidores tisulares de las metaloproteinasas de la matriz, TIMP-1 y 2, la inducción de la metaloproteinasas 2 de la matriz que resuelve el depósito de colágeno en las células estrelladas hepáticas y la posterior reducción del ARNm del alfa-colágeno y el ARNm del factor de crecimiento transformante beta (TGF-beta), que son ambos factores profibróticos para los agonistas de FXR. Además, se demostró actividad anticolestásica en modelos animales ligados a conductos biliares, así como en modelos animales de colestasis inducida por estrógenos.

60 Los estudios genéticos demuestran que en formas hereditarias de colestasis (Colestasis Intrahepática Familiar Progresiva = PFIC, Tipo I-IV) la localización nuclear del propio FXR se reduce como consecuencia de una mutación en el gen FIC1 (en PFIC Tipo I, también llamada Enfermedad de Byler) (F. Chen et al., Gastroenterology 2004, 126, 756; L. Alvarez et al., Hum. Mol. Genet. 2004, 13, 2451) o se reducen los niveles del gen objetivo de FXR que codifica la bomba de exportación de fosfolípidos MDR-3 (en PFIC Tipo III). En conjunto, hay un creciente cuerpo de evidencias de que los compuestos de unión a FXR demostrarán una utilidad clínica sustancial en el régimen

terapéutico de afecciones colestásicas crónicas como la cirrosis biliar primaria (PBC) o la colangitis esclerosante primaria (PSC).

5 El profundo impacto que tiene la activación de FXR sobre el metabolismo y la excreción de ácidos biliares no solo es relevante para los síndromes colestásicos sino incluso más directamente para una terapia contra la formación de cálculos biliares. Los cálculos biliares de colesterol se forman debido a la baja solubilidad del colesterol que se bombea activamente fuera de la célula hepática hacia la luz de los canalículos. Es el porcentaje relativo del contenido de los tres componentes principales, ácidos biliares, fosfolípidos y colesterol libre lo que determina la formación de micelas mixtas y, por lo tanto, la solubilidad aparente del colesterol libre en la bilis. Los polimorfismos de FXR mapean como loci de rasgos cuantitativos como un factor que contribuye a la enfermedad de cálculos biliares. Usando el compuesto herramienta de FXR sintético GW4064 podría demostrarse que la activación de FXR lleva a una mejora del Índice de Saturación del Colesterol (CSI) y directamente a una supresión de la formación de cálculos biliares en ratones susceptibles a cálculos biliares C57L mientras que el tratamiento con fármacos en ratones knockout de FXR no muestra ningún efecto sobre la formación de cálculos biliares.

15 Estos resultados califican a FXR como un buen objetivo para el desarrollo de agonistas de moléculas pequeñas que pueden usarse para prevenir la formación de cálculos biliares de colesterol o para prevenir la reformación de cálculos biliares después de la extirpación quirúrgica o la litotricia por ondas de choque.

20 Por tanto, en una realización de la divulgación, el compuesto de Fórmula (I) y las composiciones farmacéuticas que comprenden dicho compuesto se usan para la profilaxis y/o tratamiento de trastornos inflamatorios obstructivos o crónicos que surgen de la composición inadecuada de la bilis, como la colelitiasis también conocida como cálculos biliares de colesterol.

25 Más allá de sus fuertes efectos hepatoprotectores y coleréticos, así como los efectos antifibróticos que muestra FXR tras la activación estimulada por moléculas pequeñas en el hígado, FXR parece tener un papel en la protección del intestino de la transformación neoplásica y del desarrollo de pólipos y su transición a adenocarcinoma en la tripa. Similar a la situación en el intestino, la ausencia de FXR lleva a un alto aumento en la formación de carcinoma hepatocelular (CHC), la forma más prominente de cáncer de hígado. Mientras que un FXR funcional previene la formación de adenocarcinoma de colon y carcinoma hepatocelular, la activación de FXR induce la regeneración del hígado después de la hepatectomía.

30 Los efectos hepatoprotectores, antineoplásicos y regenerativos hepáticos combinados asociados con la activación de FXR pueden explotarse terapéuticamente para el uso de agonistas de FXR en el tratamiento de enfermedades hepáticas graves. En una realización, los compuestos de acuerdo con la divulgación y las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos se usan en el tratamiento de enfermedades hepáticas como HCC, estimulación del recrecimiento del hígado y mejora de los efectos secundarios asociados con la resección hepática mayor, cirrosis hepática independientemente de la etiología y prevención o tratamiento de la isquemia hepática en el curso de un trasplante de hígado o una cirugía mayor de hígado.

35 Desde el descubrimiento del primer agonista sintético de FXR y su administración a roedores, se hizo evidente que FXR es un regulador clave de los triglicéridos en suero. Durante los últimos seis años se han publicado evidencias acumuladas de que la activación de FXR por agonistas sintéticos lleva a una reducción significativa de los triglicéridos en suero, principalmente en forma de VLDL reducido, pero también a una reducción del colesterol total en suero.

40 Pero la reducción de los triglicéridos en suero no es un efecto independiente. El tratamiento de ratones db/db u ob/ob con el agonista de FXR sintético GW4064 dio como resultado una reducción marcada y combinada de los triglicéridos en suero, el colesterol total, los ácidos grasos libres y los cuerpos cetónicos como el 3-OH butirato. Además, la activación de FXR se relaciona con la vía de señalización de la insulina intracelular en los hepatocitos, lo que da como resultado una producción reducida de glucosa de la gluconeogénesis hepática pero un aumento concomitante del glucógeno hepático. La sensibilidad a la insulina así como la tolerancia a la glucosa se vieron afectadas positivamente por el tratamiento con FXR. También se observó recientemente un efecto sobre la reducción del peso corporal en ratones sobrealimentados con una dieta rica en lípidos. Este efecto de pérdida de peso podría resultar de la inducción de FGF-19 por parte de FXR, un factor de crecimiento de fibroblastos que se sabe que lleva a la pérdida de peso y al fenotipo atlético. Se ha demostrado el efecto del agonista de FXR sobre la reducción del peso corporal.

45 En conjunto, estos efectos farmacológicos de los agonistas de FXR pueden explotarse de diferentes formas terapéuticas: se cree que los compuestos de unión a FXR son buenos candidatos para el tratamiento de la diabetes tipo II debido a sus efectos de sensibilización a la insulina, glucógenos y reductores de lípidos.

50 En una realización, los compuestos de acuerdo con la divulgación y las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos se usan en la profilaxis y/o el tratamiento de la diabetes tipo II que puede superarse mediante la regulación por incremento mediada por FXR de la sensibilidad sistémica a la insulina y la señalización

de insulina intracelular en el hígado, captación y metabolización periférica de glucosa aumentadas, almacenamiento de glucógeno aumentado en el hígado, salida disminuida de glucosa al suero de la gluconeogénesis transmitida por el hígado.

5 En una realización adicional, dichos compuestos y composiciones farmacéuticas se usan para la profilaxis y/o el tratamiento de enfermedades intrahepáticas crónicas, como PBC, PSC, colestasis familiar progresiva (PFIC), cirrosis inducida por alcohol y colestasis asociada, y algunas formas de afecciones colestáticas extrahepáticas o fibrosis hepática.

10 La divulgación también se refiere a un compuesto de Fórmula (I) o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto para su uso en la profilaxis y/o el tratamiento de afecciones gastrointestinales con una absorción reducida de grasas dietéticas y vitaminas dietéticas liposolubles que pueden superarse aumentando los niveles intestinales de ácidos biliares y fosfolípidos.

15 En una realización adicional, dicho compuesto o composición farmacéutica se usa para prevenir y/o tratar una enfermedad seleccionada del grupo que consiste de trastornos de lípidos y lipoproteínas como hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia y aterosclerosis como una afección clínicamente manifiesta que puede mejorarse mediante el efecto beneficioso de FXR sobre la reducción del colesterol en plasma total, la reducción de los triglicéridos en suero, el aumento de la conversión del colesterol hepático en ácidos biliares y el aumento de la depuración y la conversión metabólica de VLDL y otras lipoproteínas en el hígado.

20 En una realización adicional, dicho compuesto y composición farmacéutica se usan para la profilaxis y/o el tratamiento de enfermedades en las que los efectos de disminución de lípidos, anticoléstáticos y antifibróticos combinados de los medicamentos dirigidos a FXR pueden explotarse para el tratamiento de la esteatosis hepática y síndromes asociados como la esteatohepatitis no alcohólica (NASH), o para el tratamiento de los efectos colestáticos y fibróticos que están asociados con la cirrosis inducida por el alcohol, o con formas transmitidas por virus de hepatitis.

30 Junto con los efectos hipolipidémicos, también se demostró que la pérdida de FXR funcional lleva a un aumento de la aterosclerosis en ratones ApoE knockout. Por lo tanto, los agonistas de FXR podrían tener utilidad clínica como fármacos antiateroscleróticos y cardioprotectores. La regulación por disminución de la endotelina-1 en las células del músculo liso vascular también podría contribuir a tales efectos terapéuticos beneficiosos.

35 La divulgación también se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto para su uso en el tratamiento preventivo y postraumático de un trastorno cardiovascular, como infarto agudo de miocardio, ataque cerebral agudo o trombosis que se producen como punto final de la aterosclerosis obstructiva crónica.

40 Más allá de controlar la formación de pólipos intestinales y colónicos, FXR parece expresarse en el tejido y las líneas celulares de cáncer de mama, pero no en el tejido mamario sano, y parece interactuar con el receptor de estrógenos en las células de cáncer de mama positivas para ER.

45 Esto permitiría considerar a FXR también como un objetivo potencial para el tratamiento de enfermedades proliferativas, especialmente formas de cáncer metastásico que expresan una forma de FXR sensible a moléculas pequeñas.

50 En una realización adicional, dichos compuestos y composiciones farmacéuticas se usan para la profilaxis y/o el tratamiento de trastornos hiperproliferativos malignos como diferentes formas de cáncer, específicamente ciertas formas de cáncer de mama, hígado o colon donde la interferencia con un ligando de FXR tendrá un impacto beneficioso.

55 Finalmente, FXR también parece estar implicado en el control de la defensa antibacteriana en el intestino, aunque no se proporciona un mecanismo exacto. Sin embargo, a partir de estos datos publicados, puede concluirse que el tratamiento con agonistas de FXR podría tener un impacto beneficioso en la terapia de los trastornos inflamatorios intestinales (IBD), en particular aquellas formas en las que se ve afectada la parte superior (ileal) del intestino (por ejemplo, enfermedad de Crohn) porque este parece ser el sitio de acción del control de FXR sobre el crecimiento bacteriano. En la IBD, la desensibilización de la respuesta inmunitaria adaptativa está alterada de alguna manera en el sistema inmunitario intestinal. El sobrecrecimiento bacteriano podría entonces ser el desencadenante causal del establecimiento de una respuesta inflamatoria crónica. Por lo tanto, amortiguar el crecimiento bacterianos por mecanismos llevados por FXR podría ser un mecanismo clave para evitar episodios inflamatorios agudos.

60 Por tanto, la divulgación también se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto para su uso en la prevención y/o tratamiento de una enfermedad relacionada con una enfermedad inflamatoria intestinal, como la enfermedad de Crohn o la colitis ulcerosa. Se cree que la restauración de la función de barrera intestinal mediada por FXR y la reducción de la carga

65

bacteriana no comensal son útiles para reducir la exposición de los antígenos bacterianos al sistema inmunitario intestinal y, por lo tanto, pueden reducir las respuestas inflamatorias.

5 La divulgación se refiere además a un compuesto o composición farmacéutica para su uso en la profilaxis y/o el tratamiento de la obesidad y trastornos asociados como el síndrome metabólico (condiciones combinadas de dislipidemias, diabetes e índice de masa corporal anormalmente alto) que pueden superarse mediante la reducción mediada por FXR de triglicéridos en suero, glucosa en sangre y sensibilidad a la insulina aumentada y pérdida de peso mediada por FXR.

10 En una realización adicional, los compuestos o la composición farmacéutica de la presente divulgación son útiles para prevenir y/o tratar las complicaciones clínicas de la diabetes tipo I y tipo II. Los ejemplos de tales complicaciones incluyen nefropatía diabética, retinopatía diabética, neuropatías diabéticas o enfermedad oclusiva arterial periférica (PAOD). La presente divulgación también abarca otras complicaciones clínicas de la diabetes.

15 Además, las condiciones y enfermedades que resultan de la degeneración grasa y fibrótica crónica de órganos debido a la acumulación forzada de lípidos y específicamente triglicéridos y la posterior activación de vías profibróticas también pueden prevenirse y/o tratarse administrando los compuestos o la composición farmacéutica de la presente divulgación. Tales afecciones y enfermedades abarcan NASH y afecciones colestásicas crónicas en el hígado, glomerulosclerosis y nefropatía diabética en el riñón, degeneración de la mácula y retinopatía diabética en el ojo y enfermedades neurodegenerativas, como la enfermedad de Alzheimer en el cerebro o neuropatías diabéticas en el sistema nervioso periférico.

Dosificación

25 La dosificación eficaz del ingrediente activo empleado puede variar dependiendo del compuesto particular empleado, el modo de administración, la afección que se está tratando y la gravedad de la afección que se está tratando. Tal dosificación puede determinarse fácilmente por una persona experta en la técnica.

30 Cuando se tratan o previenen afecciones mediadas por FXR para las que están indicados los compuestos de la presente divulgación, se obtienen resultados generalmente satisfactorios cuando los compuestos de la presente divulgación se administran en una dosificación diaria de aproximadamente 0,1 miligramos a aproximadamente 100 miligramos por kilogramo de peso corporal del animal. En algunas realizaciones, los compuestos de la presente divulgación se administran en una única dosis diaria o en dosis divididas de dos a seis veces al día, o en forma de liberación sostenida. Para la mayoría de los grandes mamíferos, la dosificación diaria total es de aproximadamente 1 miligramo a aproximadamente 1000 miligramos, o de aproximadamente 1 miligramo a aproximadamente 50 miligramos. En el caso de un humano adulto de 70 kg, la dosis diaria total será generalmente de aproximadamente 7 miligramos a aproximadamente 350 miligramos. Este régimen de dosificación puede ajustarse para proporcionar la respuesta terapéutica óptima. En algunas realizaciones, la dosificación diaria total es de aproximadamente 1 miligramo a aproximadamente 900 miligramos, de aproximadamente 10 miligramos a aproximadamente 800 miligramos, de aproximadamente 20 miligramos a aproximadamente 700 miligramos, de aproximadamente 30 miligramos a aproximadamente 600 miligramos, de aproximadamente 40 miligramos a aproximadamente 550 miligramos, o de aproximadamente 50 miligramos a aproximadamente 400 miligramos.

45 Los compuestos de la presente solicitud o las composiciones de los mismos pueden administrarse una, dos, tres o cuatro veces al día, usando cualquier modo adecuado descrito anteriormente. Además, la administración o el tratamiento con los compuestos puede continuarse durante varios días; por ejemplo, comúnmente el tratamiento continuaría durante por lo menos 7 días, 14 días o 28 días, para un ciclo de tratamiento. Los ciclos de tratamiento son bien conocidos en la quimioterapia del cáncer y se alternan frecuentemente con períodos de descanso de aproximadamente 1 a 28 días, comúnmente de aproximadamente 7 días o de aproximadamente 14 días, entre ciclos. Los ciclos de tratamiento, en otras realizaciones, también pueden ser continuos.

50 En una realización particular, los métodos proporcionados en la presente comprenden administrar al sujeto una dosis diaria inicial de aproximadamente 1 a 800 mg de un compuesto descrito en la presente y aumentar la dosis en incrementos hasta que se logre la eficacia clínica. Pueden usarse incrementos de aproximadamente 5, 10, 25, 50 o 100 mg para aumentar la dosis. La dosificación puede aumentarse diariamente, cada dos días, dos veces por semana o una vez por semana.

Terapias de combinación

60 En algunas realizaciones, un compuesto divulgado en la presente se administra en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales para tratar o prevenir una enfermedad o afección divulgada en la presente. En algunas realizaciones, el uno o más agentes terapéuticos adicionales son un inhibidor de ACE, inhibidor de acetil CoA carboxilasa, agonista del receptor de adenosina A3, agonista del receptor de adiponectina, inhibidor de la proteína quinasa AKT, proteína quinasa activadas por AMP (AMPK), agonista del receptor de amilina, antagonista del receptor AT-1 de la angiotensina II, inhibidores de la autotaxina, lípido bioactivo, agonista de la calcitonina,

65

inhibidor de la caspasa, estimulador de la caspasa-3, inhibidor de la catepsina, inhibidor de la caveolina 1, antagonista de la quimiocina CCR2, antagonista de la quimiocina CCR3, antagonista de la quimiocina CCR5, estimulador del canal de cloruro, inhibidor de CNR1, inhibidor de ciclina D1, inhibidor de citocromo P450 7A1, inhibidor de DGAT1/2, inhibidor de la dipeptidil peptidasa IV, modulador de la endosialina, inhibidor del ligando de la eotaxina, modulador de la proteína de la matriz extracelular, agonista del receptor farnesoide X, inhibidores de la sintasa de ácidos grasos, agonista del receptor de FGF1, ligandos del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-15, FGF-19, FGF-21), inhibidor de galectina-3, agonista del receptor de glucagón, agonista del péptido 1 similar al glucagón, agonista del receptor 1 de ácidos biliares acoplado a proteína G, modulador Hedgehog (Hh), inhibidor de la proteasa NS3 del virus de la hepatitis C, modulador alfa del factor nuclear de hepatocitos 4 (HNF4A), modulador del factor de crecimiento de hepatocitos, inhibidor de la reductasa HMG CoA, agonista de IL-10, antagonista de IL-17, inhibidor del cotransportador de ácidos biliares de sodio ileal, sensibilizador de insulina, modulador de integrina, inhibidor de la quinasa 4 asociada al receptor de intereucina-1 (IRAK4), inhibidor de la tirosina quinasa Jak2, estimulador Klotho beta, inhibidor de la 5-lipoxigenasa, inhibidor de la lipoproteína lipasa, receptor X del hígado, estimulador del gen LPL, antagonista del receptor de lisofosfatidato-1, inhibidor del homólogo 2 de la lisiloxidasa, inhibidor de las metaloproteinasas de la matriz (MMP), inhibidor de la proteína quinasa MEKK-5, inhibidor de la amina oxidasa de cobre de membrana (VAP-1), inhibidor de la metionina aminopeptidasa-2, modulador de la proteína 2 de unión a metil CpG, inhibidor de MicroARN-21 (miR-21), desacoplador mitocondrial, estimulador de proteínas básicas de mielina, inhibidor de la proteína 3 del dominio NACHT LRR PYD (NLRP3), estimulador de sirtuina desacetilasa dependiente de NAD, inhibidor de la NADPH oxidasa (NOX), agonista del receptor 1 del ácido nicotínico, estimulador del purinoceptor P2Y13, inhibidor de PDE 3, inhibidor de PDE 4, inhibidor de la PDE 5, modulador beta del receptor de PDGF, inhibidor de la fosfolipasa C, agonista de PPAR alfa, agonista de PPAR delta, agonista de PPAR gamma, modulador de PPAR gamma, antagonista del receptor 2 activado por proteasa, modulador de la proteína quinasa, inhibidor de la proteína quinasa asociada a Rho, inhibidor del transportador 2 de glucosa sódica, inhibidor del factor de transcripción SREBP, inhibidor de STAT-1, inhibidor de estearoil CoA desaturasa-1, supresor del estimulador de señalización de citoquinas-1, supresor del estimulador de señalización de citoquinas-3, factor de crecimiento transformante β (TGF- β), quinasa 1 del factor de crecimiento transformante β activado (TAK1), agonista beta del receptor de la hormona tiroidea, antagonista de TLR-4, inhibidor de la transglutaminasa, modulador del receptor de tirosina quinasa, modulador de GPCR, modulador del receptor de hormona nuclear, moduladores WNT, o modulador YAP/TAZ.

Los ejemplos no limitativos de uno o más agentes terapéuticos adicionales incluyen:

inhibidores de ACE, como enalapril;
 inhibidores de acetil CoA carboxilasa (ACC), como DRM-01, gemcabene, PF-05175157 y QLT-091382;
 35 agonistas del receptor de adenosina, como CF-102, CF-101, CF-502 y CGS21680;
 agonistas del receptor de adiponectina, como ADP-355;
 agonistas de los receptores de amilina/calcitonina, como KBP-042;
 estimuladores de proteína quinasa activados por AMP, como O-304;
 40 antagonistas de los receptores AT-1 de la angiotensina II, como irbesartán;
 inhibidores de autotaxina, como PAT-505, PAT-048, GLPG-1690, X-165, PF-8380 y AM-063;
 lípidos bioactivos, como DS-102;
 inhibidores del receptor cannabinoide tipo 1 (CNR1), como namicizumab y GWP-42004;
 inhibidores de caspasa, como emricasan;
 inhibidores de pan catepsina B, como VBY-376;
 45 inhibidores de pan catepsina, como VBY-825;
 antagonistas de quimioquinas CCR2/CCR5, como cenicriviroc;
 antagonistas de quimioquinas CCR2, como propagermanio;
 antagonistas de quimiocinas CCR3, como bertilimumab;
 estimuladores de los canales de cloruro, como cobiprostona;
 50 inhibidores de la diglicérido aciltransferasa 2 (DGAT2), como IONIS-DGAT2Rx;
 inhibidores de la dipeptidil peptidasa IV, como linagliptina;
 inhibidores del ligando de eotaxina, como bertilimumab;
 moduladores de proteínas de la matriz extracelular, como CNX-024;
 agonistas del receptor farnesoide X (FXR), como AGN-242266, AKN-083, EDP-305, GNF-5120, LJM-452, LMB-
 55 763, ácido obetílico, Px-102, Px-103, M790, M780, M450, M480, PX20606, EYP-001 e INT-2228;
 agonistas del receptor farnesoide X (FXR)/receptor 1 de ácidos biliares acoplado a proteína G (TGR5), como INT-767;
 inhibidores de la sintasa de ácidos grasos, como TVB-2640;
 inhibidores del factor de crecimiento de fibroblastos 19 (rhFGF19)/citocromo P450 (CYP)7A1, como NGM-282;
 60 ligando del factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF-21), como BMS-986171, BMS-986036;
 agonistas del factor de crecimiento de fibroblastos 21 (FGF-21)/péptido similar al glucagón 1 (GLP-1), como YH-
 25723;
 inhibidores de galectina-3, como GR-MD-02;
 agonistas del péptido 1 similar al glucagón (GLP1R), como AC-3174, liraglutida, semaglutida;
 65 agonistas del receptor 1 de ácidos biliares acoplado a proteína G (TGR5), como RDX-009, INT-777;

- inhibidores de la proteína de choque térmico 47 (HSP47), como ND-L02-s0201;
 inhibidores de la HMG CoA reductasa, como atorvastatina, fluvastatina, pitavastatina, pravastatina, rosuvastatina y simvastatina;
- 5 agonistas de IL-10, como peg-ilodecaquina;
 inhibidores del cotransportador de ácido biliar y sodio ileal, como A-4250, hidrato de etanolato de potasio volixibat (SHP-262) y GSK2330672;
- 10 sensibilizadores de insulina, como KBP-042, MSDC-0602K, Px-102, RG-125 (AZD4076) y VVP-100X;
 agonista de beta Klotho (KLB)-FGF1c, como NGM-313;
 inhibidores de la 5-lipoxigenasa, como tipelukast (MN-001);
- 15 inhibidores de la lipoproteína lipasa, como CAT-2003;
 estimuladores del gen LPL, como alipogen tiparvovec;
 moduladores del receptor X del hígado (LXR), como PX-L603, PX-L493, BMS-852927, T-0901317, GW-3965 y SR-9238;
- 20 antagonistas del receptor de lisofosfatidato-1, como BMT-053011, UD-009, AR-479, ITMN-10534, BMS-986020 y KI-16198;
 inhibidores del homólogo 2 de la lisil oxidasa, como simtuzumab;
 inhibidores de la proteína de adhesión vascular/amina oxidasa sensible a la semicarbazida (SSAO/VAP-1), como PXS-4728A;
- 25 inhibidores de metionina aminopeptidasa-2, como ZGN-839;
 moduladores de la proteína 2 de unión a metil CpG, como mercaptamina;
 desacopladores mitocondriales, como el 2,4-dinitrofenol;
 estimuladores de proteínas básicas de mielina, como olesoxima;
 inhibidores de NADPH oxidasa 1/4, como GKT-831;
- 30 agonistas del receptor 1 del ácido nicotínico, como ARI-3037MO;
 inhibidores de la proteína 3 del dominio NACHT LRR PYD (NLRP3), como KDDF-201406-03 y NBC-6;
 moduladores de receptores nucleares, como DUR-928;
 estimuladores de purinoceptores P2Y13, como CER-209;
- 35 inhibidores de PDE 3/4, como tipelukast (MN-001);
 inhibidores de la PDE 5, como sildenafilo;
- 40 moduladores beta del receptor de PDGF, como BOT-191, BOT-509;
 agonistas de PPAR, como elafibranor (GFT-505), MBX-8025, enantiómero R de pioglitazona deuterada, pioglitazona, DRX-065, saroglitazar e IVA-337;
 antagonistas del receptor 2 activado por proteasa, como PZ-235;
 moduladores de proteína quinasa, como CNX-014;
- 45 inhibidores de la proteína quinasa asociada a Rho (ROCK), como KD-025;
 Inhibidores del transportador de glucosa de sodio-2 (SGLT2), como ipragliflozina, etabonato de remogliflozina, ertugliflozina, dapagliflozina y sotagliflozina;
 inhibidores del factor de transcripción SREBP, como CAT-2003 y MDV-4463;
- 50 inhibidores de esteroil CoA desaturasa-1, como aramchol;
 agonistas beta del receptor de la hormona tiroidea, como MGL-3196, MGL-3745, VK-2809;
 antagonistas de TLR-4, como JKB-121;
 moduladores del receptor de tirosina quinasa, como CNX-025;
 moduladores GPCR, como CNX-023; y
 moduladores de los receptores hormonales nucleares, como Px-102.

En ciertas realizaciones específicas, el uno o más agentes terapéuticos adicionales se seleccionan de A-4250, AC-3174, ácido acetilsalicílico, AK-20, alipogen tiparvovec, aramchol, ARI-3037MO, ASP-8232, bertilimumab, betaína anhidra, BI-1467335, BMS-986036, BMS-986171, BMT-053011, BOT-191, BTT-1023, CAT-2003, cenicriviroc, CER-209, CF-102, CGS21680, CNX-014, CNX-023, CNX-024, CNX-025, cobiprostona, colessevelam, dapagliflozina, enantiómero R de pioglitazona deuterada, 2,4-dinitrofenol, DRX-065, DS-102, DUR-928, EDP-305, elafibranor (GFT-505), emricasan, enalapril, ertugliflozina, evogliptina, F-351, GKT-831, GNF-5120, GR-MD-02, hidroclorotiazida, éster etílico de icosapento, IMM-124-E, INT-767, IONIS-DGAT2Rx, ipragliflozina, Irbesarta, propagermanio, IVA-337, JKB-121, KB-GE-001, KBP-042, KD-025, M790, M780, M450, metformina, sildenafilo, LC-280126, linagliptina, liraglutida, LJM-452, LMB-763, MBX-8025, MDV-4463, mercaptamina, MGL-3196, MGL-3745, MSDC-0602K, namacizumab, NC-101, ND-L02-s0201, NGM-282, NGM-313, NGM-386, NGM-395, ácido norursodesoxicólico, O-304, ácido obeticólico, 25HC3S, olesoxima, PAT-505, PAT-048, peg-ilodecaquina, pioglitazona, pirfenidona, PRI-724, PX20606, Px-102, PX-L603, PX-L493, PXS-4728A, PZ-235, RDX-009, etabonato de remogliflozina, RG-125 (AZD4076), saroglitazar, semaglutida, simtuzumab, solitromicina, sotagliflozina, estatinas (atorvastatina, fluvastatina, pitavastatina, pravastatina, rosuvastatina, simvastatina), TCM-606F, TEV-45478, tipelukast (MN-001), TLY-012, TRX-318, TVB-2640, UD-009, ácido ursodesoxicólico, VBY-376, VBY-825, VK-2809, vismodegib, hidrato de etanolato de potasio de volixibat (SHP-626), VVP-100X, WAV-301, WNT-974 y ZGN-839.

EJEMPLOS

65 Los siguientes ejemplos se incluyen para demostrar realizaciones específicas de la divulgación. Los

5 expertos en la técnica deberían apreciar que las técnicas divulgadas en los ejemplos que siguen representan técnicas para funcionar bien en la puesta en práctica de la divulgación y, por lo tanto, puede considerarse que constituyen modos específicos para su puesta en práctica. Sin embargo, los expertos en la técnica deberían, a la luz de la presente divulgación, apreciar que pueden realizarse muchos cambios en las realizaciones específicas que se divulgan y seguir obteniendo un resultado similar o parecido.

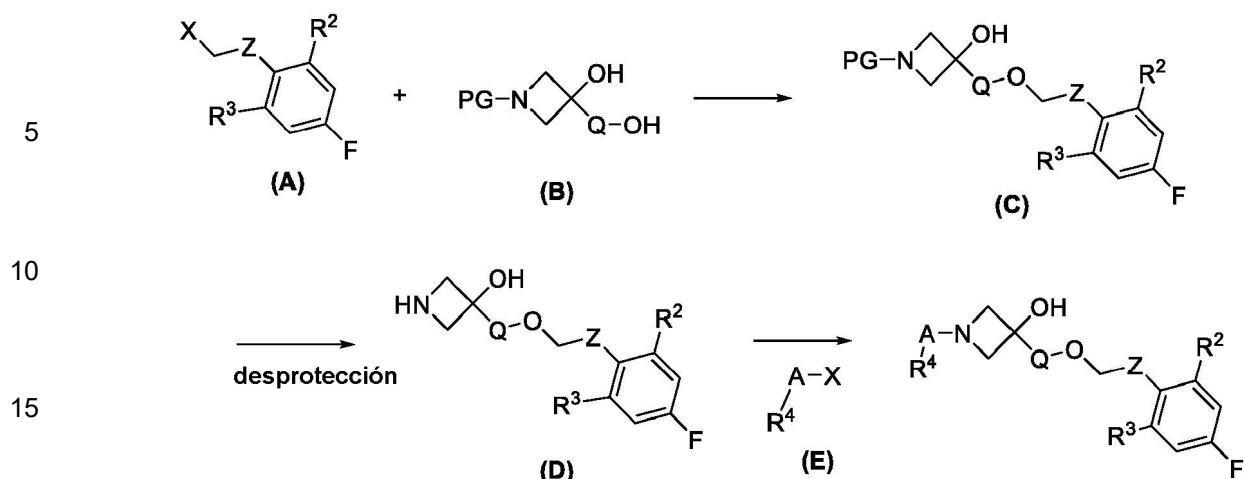
10 Los compuestos de la presente divulgación pueden prepararse de acuerdo con los procedimientos de los siguientes Esquemas y Ejemplos, usando materiales apropiados y se ejemplifican adicionalmente mediante los siguientes ejemplos específicos. Además, mediante la utilización de los procedimientos descritos en la presente, junto con los expertos habituales en la técnica, pueden prepararse fácilmente compuestos adicionales de la presente divulgación reivindicados en la presente. Sin embargo, no debe interpretarse que los compuestos ilustrados en los ejemplos forman el único género que se considera como la divulgación. Los ejemplos ilustran adicionalmente los detalles para la preparación de los compuestos de la presente divulgación. Los expertos en la técnica entenderán fácilmente que pueden usarse variaciones conocidas de las condiciones y procesos de los siguientes procedimientos preparativos para preparar estos compuestos. Para sintetizar compuestos que son realizaciones descritas en la presente divulgación, la inspección de la estructura del compuesto a sintetizar proporcionará la identidad de cada grupo sustituyente. La identidad del producto final generalmente hará evidente la identidad de los materiales de partida necesarios mediante un simple proceso de inspección, dados los ejemplos de la presente. Los presentes compuestos se aíslan generalmente en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables, como las descritas anteriormente. En general, los compuestos descritos en la presente son típicamente estables y aislables a temperatura y presión ambiente.

25 Las bases libres de amina correspondientes a las sales aisladas pueden generarse por neutralización con una base adecuada, como hidrogenocarbonato de sodio acuoso, carbonato de sodio, hidróxido de sodio e hidróxido de potasio, y extracción de la base libre de amina liberada en un solvente orgánico, seguido de evaporación. La base sin amina, aislada de esta manera, puede convertirse adicionalmente en otra sal farmacéuticamente aceptable mediante disolución en un solvente orgánico, seguido de la adición del ácido apropiado y las posteriores evaporación, precipitación o cristalización. Los ácidos libres carboxílicos correspondientes a las sales aisladas pueden generarse mediante neutralización con un ácido adecuado, como ácido clorhídrico acuoso, hidrogenosulfato de sodio, dihidrogenofosfato de sodio, y extracción del ácido libre carboxílico liberado en un solvente orgánico, seguido de evaporación. El ácido carboxílico, aislado de esta manera, puede convertirse adicionalmente en otra sal farmacéuticamente aceptable mediante disolución en un solvente orgánico, seguido de la adición de la base apropiada y las posteriores evaporación, precipitación o cristalización.

35 A continuación se muestra una ilustración de la preparación de los compuestos de la presente divulgación. A menos que se indique lo contrario en los esquemas, las variables tienen el mismo significado que el descrito anteriormente. Se pretende que los ejemplos que se presentan a continuación ilustren realizaciones particulares de la divulgación. Los materiales de partida, los bloques de construcción y los reactivos adecuados empleados en la síntesis como se describe a continuación están disponibles comercialmente en Sigma-Aldrich o Acros Organics, por ejemplo, o pueden prepararse de manera rutinaria mediante los procedimientos descritos en la bibliografía, por ejemplo, en "March's Advanced Organic Chemistry: Reactions, Mechanisms, yStructure", 5ª Edición; John Wiley & Sons o T. Eicher, S. Hauptmann "The Chemistry of Heterocycles; Structures, Reactions, Synthesis and Application", 2ª edición, Wiley-VCH 2003; Fieser et al. "Fieser's Reagents for organic Synthesis" John Wiley & Sons 2000.

45 **Esquema Sintético General**

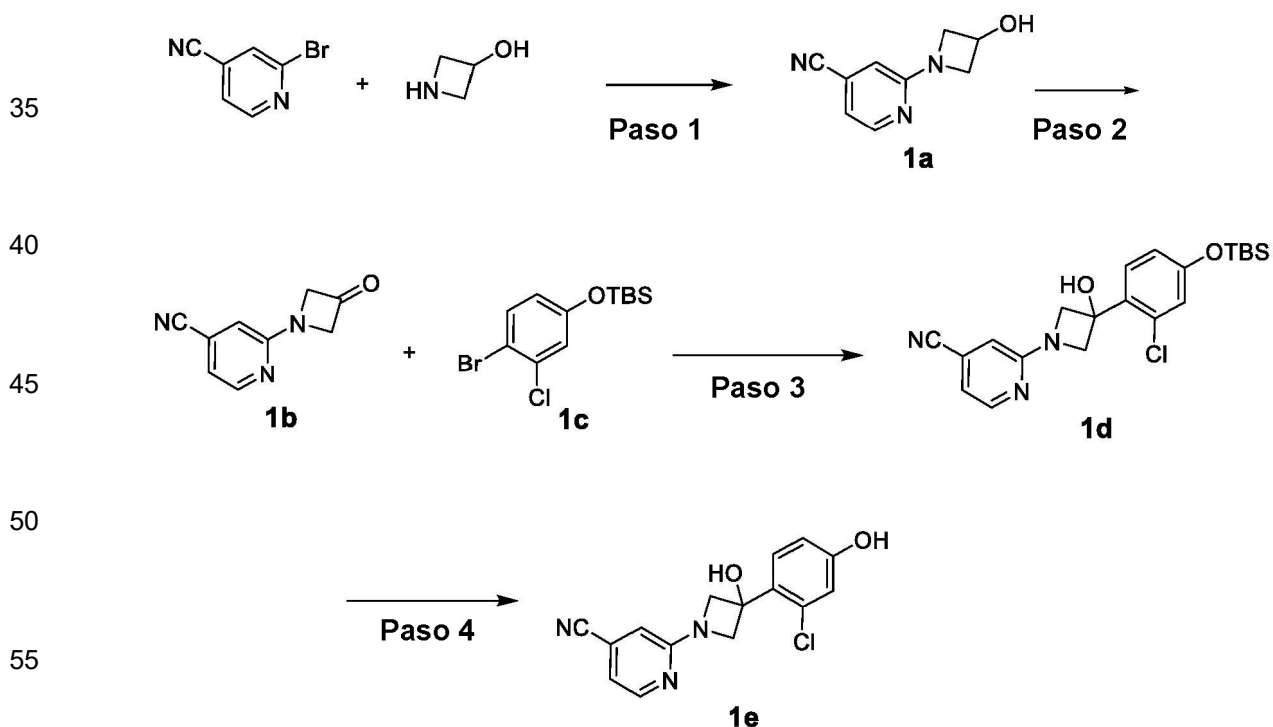
Los compuestos de Fórmula (I) en los que Y es N pueden sintetizarse de acuerdo con el siguiente esquema sintético general.



20 En el esquema sintético general anterior, X es un grupo saliente, PG es un grupo protector y las variables restantes son las que se proporcionan en la presente. Puede prepararse un compuesto de fórmula (C) haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (A) con un compuesto de fórmula (B) en presencia de una base para formar un compuesto de fórmula (C). Un compuesto de fórmula (D) se forma a partir de un compuesto de fórmula (C) en condiciones de desprotección apropiadas. Un compuesto de fórmula (D) puede combinarse con un compuesto de fórmula (E) en presencia de una base para dar un compuesto de Fórmula (I).

25 Los compuestos apropiados de estructura (A) y (B) pueden prepararse de acuerdo con los métodos específicos descritos en los siguientes Ejemplos o mediante métodos conocidos en la técnica. En algunas realizaciones, X es halo. En algunas realizaciones, PG es BOC.

30 Síntesis General 1



60 Paso 1: 2-(3-hidroxiazetidín-1-il)isonicotinonitrilo (1a)

65 Se añadió carbonato de potasio (4,6 g, 33 mmol) a 2-cloro-4-piridincarbonitrilo (2,0 g, 14,4 mmol) y clorhidrato de 3-hidroxiazetidina (1,7 g, 16 mmol) en NMP (12 ml) a temperatura ambiente, y el la mezcla se calentó a 80° C durante 2 horas en un tubo sellado. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se trató con H₂O y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas se lavaron con salmuera, se secaron con Na₂SO₄ y se concentraron. La purificación por cromatografía (columna de sílice ISCO de 24 g) usando un gradiente 1:1 de hexanos/EtOAc - 100%

de EtOAc dio 2-(3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotinonitrilo (**1a**).

Paso 2: 2-(3-oxoacetidin-1-il)isonicotinonitrilo (**1b**)

5 Se añadieron N-metilmorfolina (1,9 g, 16 mmol) y perrutenato de tetrapropilamonio (190 mg, 0,5 mmol) a 2-(3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotinonitrilo (1,9 g, 10,7 mmol) en CH₂Cl₂ (200 ml) con tamices moleculares (1 g, polvo activado, 4 Å) a temperatura ambiente. Después de 20 minutos con agitación vigorosa, la mezcla se filtró a través de una almohadilla de Celite y se concentró. La purificación por cromatografía (columna de sílice ISCO de 24 g) usando un gradiente del 100% de hexanos-1:3 de hexanos/EtOAc dio 2-(3-oxoacetidin-1-il)isonicotinonitrilo (**1b**).

10

Síntesis de **1c**: (4-bromo-3-clorofenoxi)(terc-butil)dimetilsilano (**1c**)

15 A la solución de 4-bromo-3-clorofenol (250 g, 1,21 mol) y TBSCl (272 g, 1,81 mol) en DMF (2,0 l) se le añadió imidazol (164 g, 2,41 mol). Luego, la reacción se agitó a 30° C durante 12 h. La mezcla de reacción se vertió en H₂O (3 l) y se extrajo con EtOAc (2 l) dos veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con H₂O (1 L) y salmuera (1 l), se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y se concentraron al vacío. La purificación mediante cromatografía sobre gel de sílice eluida con éter de petróleo dio (4-bromo-3-clorofenoxi)(terc-butil)dimetilsilano (**1c**).

20

Paso 3: 2-(3-(4-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2-clorofenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotinonitrilo (**1d**)

25 Se añadió gota a gota complejo de cloruro de litio de cloruro de isopropilmagnesio (1,3 ml, 1,7 mmol, 1,5 M en THF) a (4-bromo-3-clorofenoxi)(terc-butil)dimetilsilano (**1c**, 370 mg, 1,15 mmol) en THF (0,9 ml) a temperatura ambiente. Después de 3 h, la reacción se enfrió a 0° C y se trató con 2-(3-oxoacetidin-1-il)isonicotinonitrilo (199 mg, 1,15 mmol) en una porción como un sólido. Después de 1 h, la reacción se inactivó con H₂O y EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó con Na₂SO₄ y se concentró. La purificación por cromatografía (columna de sílice ISCO de 4 g) usando un gradiente del 100% de hexanos - 1:3 hexanos/EtOAc dio 2-(3-(4-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2-clorofenil)-3-hidroxiacetidin-1-yl)isonicotinonitrilo (**1d**).

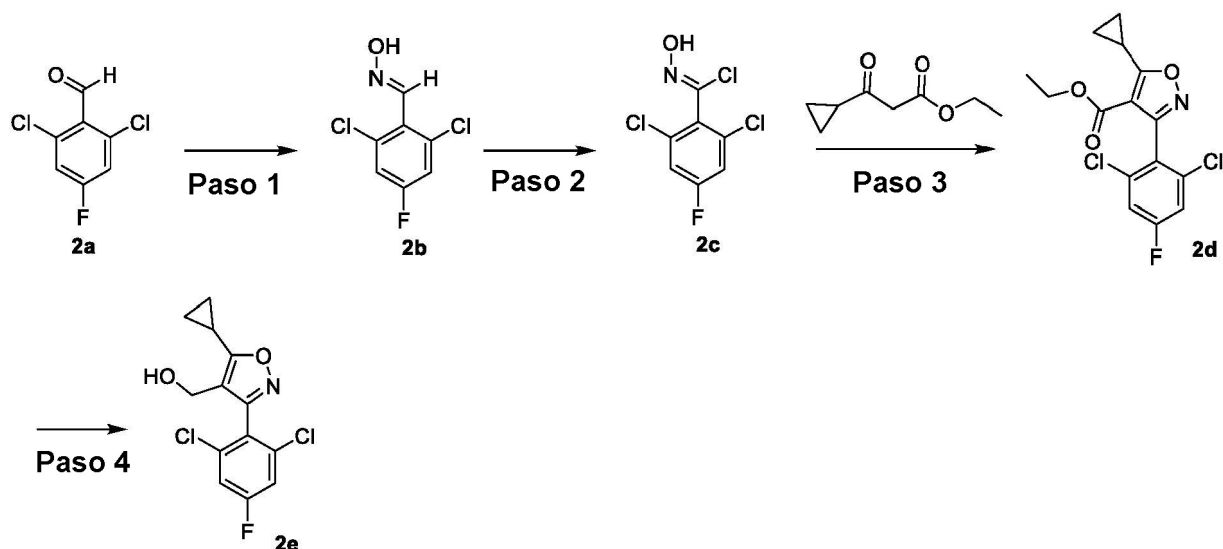
30

Paso 4: 2-(3-(2-cloro-4-hidroxifenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotinonitrilo (**1e**)

35 A una solución de 2-(3-(4-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2-clorofenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotinonitrilo (**1d**) (180 mg, 0,43 mmol) en 2-MeTHF (4 ml) se le añadió solución de TBAF 1 M en THF (0,6 ml, 0,59 mmol) a temperatura ambiente. Después de 30 minutos, la mezcla se inactivó con agua y se extrajo con EtOAc. La fase orgánica se lavó con salmuera (10 ml), se secó con Na₂SO₄ y se concentró para dar 2-(3-(2-cloro-4-hidroxifenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotinonitrilo (**1e**), que se usó sin más purificación.

Síntesis general 2

40



Paso 1: oxima de 2,6-dicloro-4-fluorobenzaldehído (**2b**)

60 Se agitó una suspensión de 2,6-dicloro-4-fluorobenzaldehído (6,0 g, 31,2 mmol), NH₂OH·HCl (4,3 g, 62,4 mmol), Na₂CO₃ (8,3 g, 78,7 mmol) en etanol-agua (50 ml, 5:1) a temperatura ambiente durante 3 h. La reacción se condensó al vacío y el residuo se trató con agua seguido de extracción con acetato de etilo. La capa de acetato de etilo se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄ y se concentró para proporcionar oxima de 2,6-dicloro-4-

65

fluorobenzaldehído (**2b**).

Paso 2: Cloruro de 2,6-dicloro-4-fluoro-N-hidroxibencimidoilo (2c)

5 A una solución de oxima de 2,6-dicloro-4-fluorobenzaldehído (**2b**, 5,5 g, 26,7 mmol) en DMF (10 ml) se le añadió N-clorosuccinimida (4,3 g, 32,0 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se inactivó con H₂O y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ anhidro, se filtraron y se concentraron para dar el cloruro de 2,6-dicloro-4-fluoro-N-hidroxibencimidoilo (**2c**) que se usó sin purificación adicional en el paso siguiente.

10

Paso 3: 5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-carboxilato de etilo (2d)

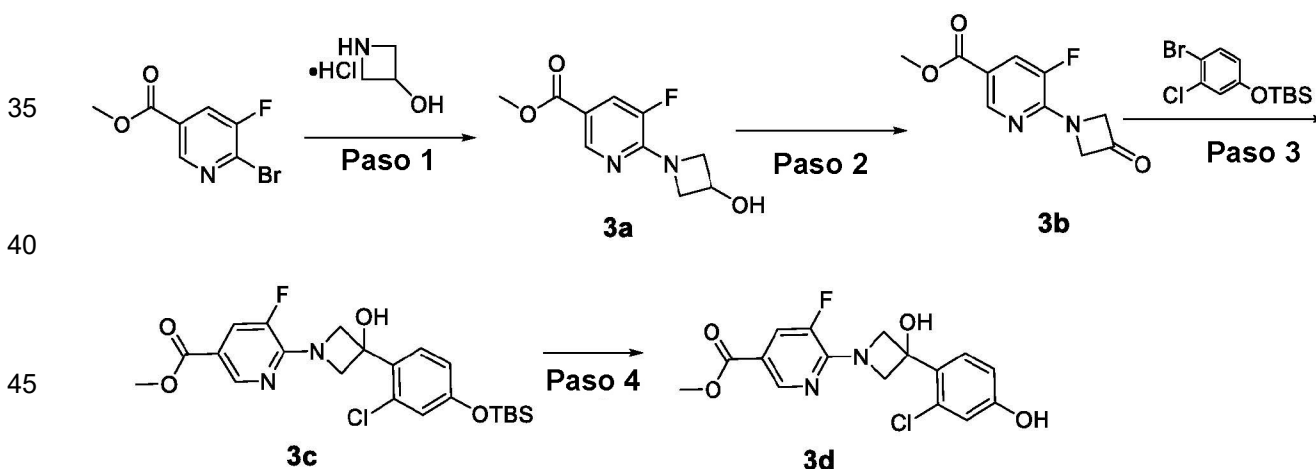
15 A una solución de éster etílico del ácido 3-ciclopropil-3-oxo-propiónico (5,0 g, 32,0 mmol) en 30 ml de THF se le añadió Et₃N (10,8 g, 107,2 mmol), la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. luego se añadió gota a gota la mezcla de la reacción del paso anterior (cloruro de 2,6-dicloro-4-fluoro-N-hidroxibencimidoilo (**2c**)). La mezcla resultante se agitó durante 2 h a TA. El solvente se eliminó y el residuo se repartió con 100 ml de agua y 50 ml de EtOAc. La capa orgánica se lavó con salmuera, se secó, se filtró, se concentró y se purificó en una columna de gel de sílice (PE/EA=10/1) para dar 5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-carboxilato de etilo (**2d**).

20

Paso 4: (5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metanol (2e)

25 A la solución de 5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-carboxilato de etilo (**2d**, 3,4 g, 9,3 mmol) en THF (30 ml) se le añadió LiAlH₄ (11,1 ml, 11,1 mmol, 1 M en hexano) gota a gota a 0° C. La reacción se agitó durante 30 min. Se añadió 1,0 ml de agua, luego se añadieron 2,0 g de NaOH al 10%, 3,0 ml de agua. La mezcla se filtró y se concentró. El bruto se purificó por columna de gel de sílice (PE/EA=2/1) para dar (5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metanol (**2e**). LCMS (ESI): m/z 302.0 (M+1)⁺. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.22-7.20(d, J=8.5Hz, 2H), 4.42-4.41(d, J=6.0Hz, 2H), 2.19-2.16(m, 1H), 1.41-1.39(m, 1H), 1.29-1.26(m, 2H), 1.16-1.13(m, 2H).

30 **Síntesis General 3**



Paso 1: 5-fluoro-6-(3-hidroxiazetidín-1-il)nicotinato de metilo (3a)

55 Se calentó una mezcla de clorhidrato de azetidín-3-ol (2,8 g, 26 mmol), 6-bromo-5-fluoronicotinato de metilo (5,0 g, 21 mmol) y carbonato de potasio (7,4 g, 53 mmol) en DMF (100 ml) a 65° C durante 19 horas. La mezcla se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) para proporcionar el producto deseado. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₁₀H₁₂FN₂O₃: 227.1; encontrado: 227.0.

Paso 2: 5-fluoro-6-(3-oxoazetidín-1-il)nicotinato de metilo (3b)

60 Se trató una solución de 5-fluoro-6-(3-hidroxiazetidín-1-il)nicotinato de metilo (4,7 g, 21 mmol) en diclorometano (270 ml) con peryodinano de Dess-Martin (9,7 g, 23 mmol). Después de 6 horas de agitación a temperatura ambiente, se añadió una porción adicional de peryodinano de Dess-Martin (1,5 g) y la mezcla se dejó en agitación durante la noche a temperatura ambiente. Después de agitar durante la noche, la mezcla se trató con solución acuosa de tiosulfato de sodio y solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio. La fase acuosa se extrajo tres veces con diclorometano. Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se concentraron hasta la sequedad a presión reducida. El residuo se purificó dos veces mediante

65

5 cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) para proporcionar el material deseado. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H₂O+H]⁺ calculado para C₁₀H₁₂FN₂O₄: 243.1; encontrado: 243.0.

5 **Paso 3: 6-(3-(4-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2-clorofenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinato de metilo (3c)**

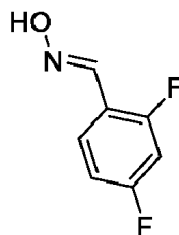
10 Se trató una solución de (4-bromo-3-clorofenoxi)(terc-butil)dimetilsilano (4,5 g, 14 mmol) en 2-metiltetrahidrofurano (14 ml) con una solución de cloruro de isopropilmagnesio/cloruro de litio (Aldrich, 1,3 M, 11 ml, 15 mmol) gota a gota mediante jeringuilla. La mezcla resultante se agitó durante aproximadamente una hora y luego se enfrió en un baño de agua con hielo. Se añadió en porciones 5-fluoro-6-(3-oxoacetidin-1-il)nicotinato de metilo (2,0 g, 8,9 mmol) durante 2 horas. La mezcla se dejó reposar durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se inactivó con una solución acuosa de ácido cítrico al 10%. La fase acuosa se extrajo tres veces con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron una vez con solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para proporcionar el producto bruto deseado que se llevó adelante sin purificación adicional. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₂₂H₂₉ClFN₂O₄Si: 467.2; encontrado: 467.1.

15 **Paso 4: 6-(3-(2-cloro-4-hidroxifenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinato de metilo (3d)**

20 Se recogió 6-(3-(4-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2-clorofenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinato de metilo bruto (aproximadamente 10 mmol) en tetrahidrofurano (70 ml) y se trató con solución de fluoruro de tetra-n-butilamonio (Aldrich, 1,0 M en THF, 18 ml, 18 mmol). La mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente hasta que se consideró completa por LC/MS y luego se purificó por cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) para proporcionar el producto intermedio **3d**. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₁₆H₁₅ClFN₂O₄: 353.1; encontrado: 353.0.

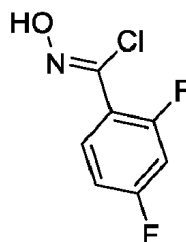
25 **Ejemplo 1: 5-((4-bromo-3-clorofenoxi)metil)-4-ciclopropil-1-(2,6-diclorofenil)-1H-pirazol**

30 **Paso 1: oxima de 2,4-difluorobenzaldehído**



40 Este compuesto se sintetizó de acuerdo con el procedimiento descrito en la Síntesis General 2, Paso 1 comenzando con 2,4-difluorobenzaldehído (10 g, 70 mmol).

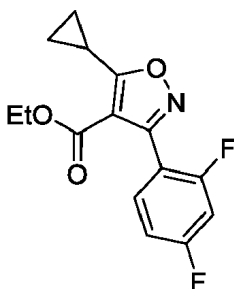
45 **Paso 2: Cloruro de 2,4-difluoro-N-hidroxi-bencimididoilo**



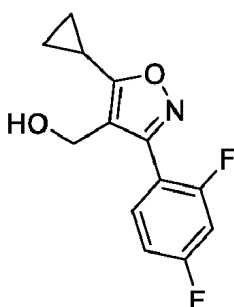
55 Este compuesto se sintetizó de acuerdo con el procedimiento descrito en la Síntesis General 2, Paso 2, comenzando con oxima de 2,4-difluorobenzaldehído (9 g, 57 mmol).

60

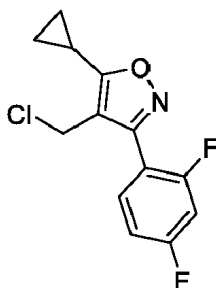
65

Paso 3: 5-ciclopropil-3-(2,4-difluorofenil)isoxazol-4-carboxilato de etilo

Este compuesto se sintetizó de acuerdo con el procedimiento descrito en la Síntesis General 2, Paso 3, comenzando con cloruro de 2,4-difluoro-N-hidroxibencimidóilo (11 g, 57 mmol).

Paso 4: (5-ciclopropil-3-(2,4-difluorofenil)isoxazol-4-il)metanol

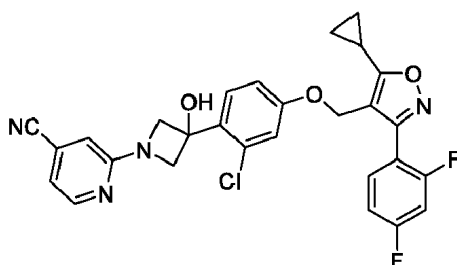
Este compuesto se sintetizó de acuerdo con el procedimiento descrito en la Síntesis General 2, Paso 4, comenzando con 5-ciclopropil-3-(2,4-difluorofenil)isoxazol-4-carboxilato de etilo (2,2 g, 8 mmol).

Paso 5: 4-(clorometil)-5-ciclopropil-3-(2,4-difluorofenil)isoxazol

45

50

A una solución de (5-ciclopropil-3-(2,4-difluorofenil)isoxazol-4-il)metanol (113 mg, 0,45 mmol) en CH₂Cl₂ (2,3 ml) se le añadió cloruro de tionilo (164 µl, 2,3 milimoles) a 0° C. La mezcla se calentó a reflujo durante 15 min y se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla se concentró al vacío. Se añadió CH₂Cl₂ adicional (5 ml) y la mezcla se concentró de nuevo. Este proceso se repitió una tercera vez para eliminar el exceso de cloruro de tionilo. El residuo bruto se usó en el paso siguiente sin purificación adicional.

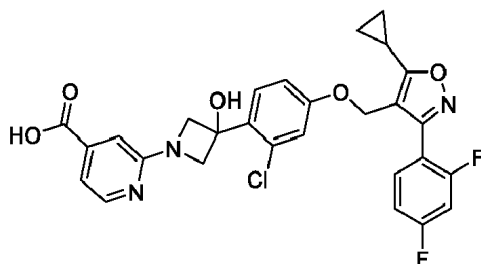
Paso 6: 2-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,4-difluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotinonitrilo

65

Se combinaron 4-(clorometil)-5-ciclopropil-3-(2,4-difluorofenil)isoxazol (113 mg, 0,45 mmol), 2-(3-(2-cloro-4-

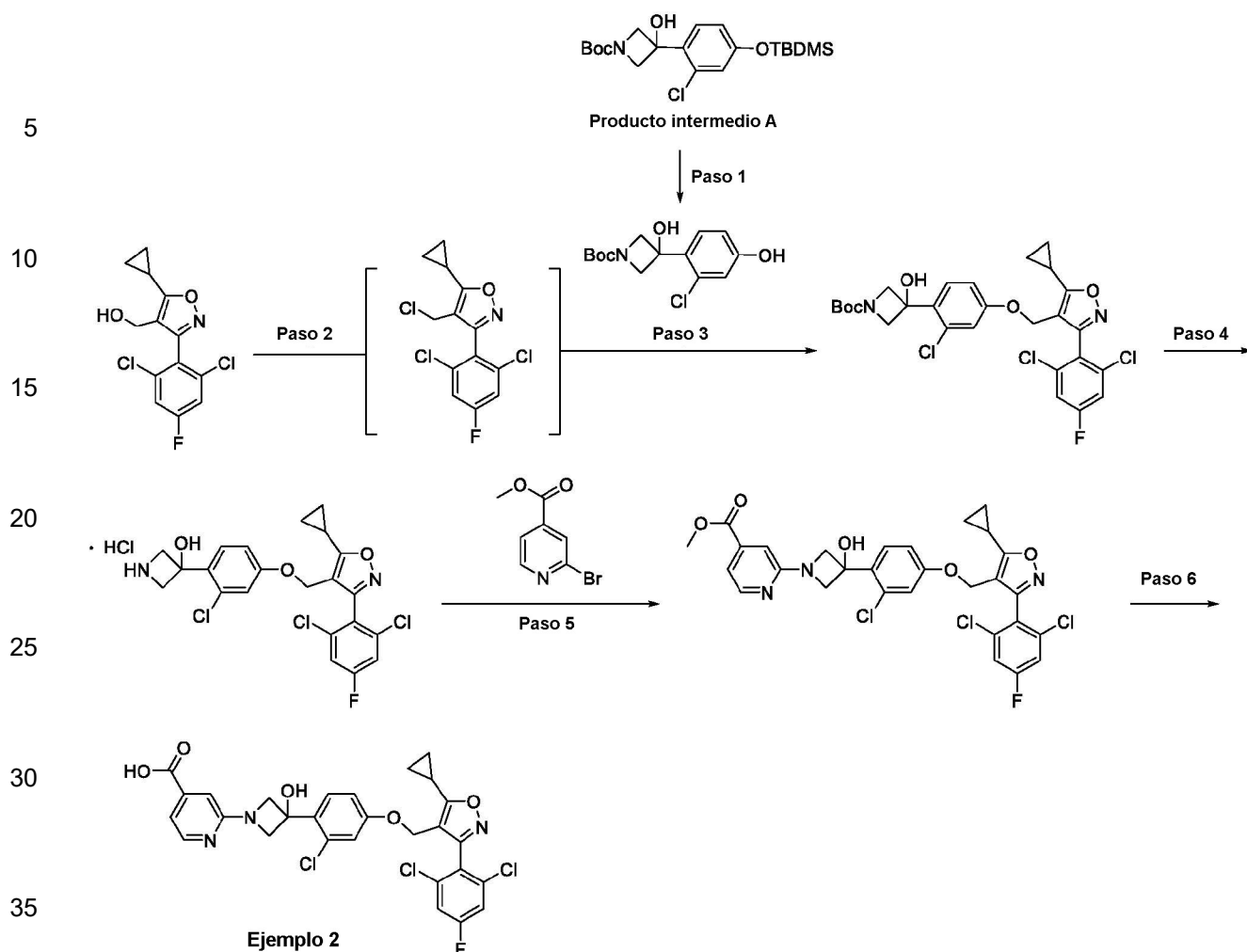
5 hidroxifenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotinonitrilo (producto intermedio 1e) (149 mg, 0,5 mmol) y K_2CO_3 (124 mg, 0,9 mmol) en DMF anhidro (2,33 ml) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 65° C bajo nitrógeno. Después de 2 h, la solución se enfrió a temperatura ambiente, se inactivó con H_2O y se extrajo con EtOAc. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 anhidro, se filtraron y se concentraron. Purificación por cromatografía: ISCO (columna de sílice de 12 g) usando un gradiente del 100% de CH_2Cl_2 - 3:1 de CH_2Cl_2 /premezclado de 60:35:5 de CH_2Cl_2 : Et_2O :MeOH dio el compuesto del título.

10 **Paso 7: Ácido 2-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,4-difluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotínico (Ejemplo 1)**



20 Se añadió hidróxido de sodio acuoso 10 M (0,67 ml) a 2-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,4-difluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotinonitrilo (210 mg, 0,39 mmol) en etanol (2 ml) y H_2O (2 ml) a temperatura ambiente y la mezcla se calentó a 60° C durante 90 minutos en un tubo sellado. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se ajustó el pH a aproximadamente 5 con HCl 1 M, lo que hizo que cayera un precipitado de la solución. La solución se filtró y el sólido se enjuagó con Et_2O y se secó al vacío para dar ácido 2-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,4-difluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotínico (**Ejemplo 1**).
25 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 13.41 (s, 1H), 8.19 (dd, J = 5.2, 0.8 Hz, 1H), 7.59 (td, J = 8.5, 6.5 Hz, 1H), 7.49 - 7.34 (m, 2H), 7.28 - 7.15 (m, 1H), 7.05 - 6.96 (m, 2H), 6.88 - 6.74 (m, 2H), 6.20 (s, 1H), 5.00 (s, 2H), 4.47 (d, J = 9.3 Hz, 2H), 4.18 (d, J = 9.2 Hz, 2H), 2.40 (tt, J = 8.3, 5.3 Hz, 1H), 1.20 - 1.00 (m, 4H).
30 MS (ESI $^+$) (m/z) 554.0 (M + H).

Ejemplo 2: Ácido 2-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotínico



Síntesis del producto intermedio A:

40

45

45

45

A una solución de (4-bromo-3-clorofenoxi)(terc-butil)dimetilsilano (**1c**, 60 g, 187 mmol) en THF (500 ml) se le añadió gota a gota n-BuLi (2,5 M, 75 ml) a -78°C bajo N_2 . La reacción se agitó a -78°C durante 1 h. Luego, se añadió gota a gota a la mezcla una solución de 3-oxoacetidina-1-carboxilato de terc-butilo (27 g, 155 mmol) en THF (500 ml) a -78°C . Luego, la reacción se agitó a 20°C durante 3 h. La mezcla de reacción se vertió en H_2O (1 l) y se extrajo con EtOAc (2 l) tres veces. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (1 l), se secaron sobre Na_2SO_4 , se filtraron y se concentraron al vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice eluida con éter de petróleo:EtOAc 10:1 para dar 3-(4-((terc butildimetilsilil)oxi)-2-clorofenil)azetidina-3-ol (**Producto intermedio A**).

Paso 1: 3-(2-cloro-4-hidroxifenil)-3-hidroxiacetidina-1-carboxilato de terc-butilo

50

55

A una solución de 3-(4-((terc-butildimetilsilil)oxi)-2-clorofenil)-3-hidroxiacetidina-1-carboxilato de terc-butilo (producto **intermedio A**, 1,27 g, 3,07 mmol) en THF (50,0 ml) a -10°C se le añadió gota a gota TBAF 1M en THF (3,68 ml, 3,68 mmol). La reacción se agitó durante 2 horas y se concentró para proporcionar 3-(2-cloro-4-hidroxifenil)-3-hidroxiacetidina-1-carboxilato de terc-butilo, que se usó sin purificación adicional.

Paso 2: 4-(clorometil)-5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol

60

65

Se enfrió una solución de (5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metanol (**2e**); 845 mg, 2,80 mmol) en DCM (28,0 ml) a 0°C . Se añadió cloruro de tionilo (1,02 ml, 14,0 mmol) y la solución se calentó a 45°C durante 1 hora. La reacción se concentró hasta la sequedad y se usó sin purificación en el paso siguiente.

Paso 3: 3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo

Se añadió una solución de 3-(2-cloro-4-hidroxifenil)-3-hidroxiacetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (922 mg, 3,07 mmol) en DMF (28,0 ml) a 4-(clorometil)-5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol bruto, seguido de la adición de carbonato de potasio (773 mg, 5,60 mmol). La mezcla se calentó a 60° C durante 8 horas. La reacción se concentró, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. El producto bruto se purificó por cromatografía en gel de sílice (DCM/Et₂O/MeOH) para proporcionar 3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [(M+H)-BOC]⁺ calculado 483.04; encontrado 483.04.

Paso 4: 3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)acetidin-3-ol

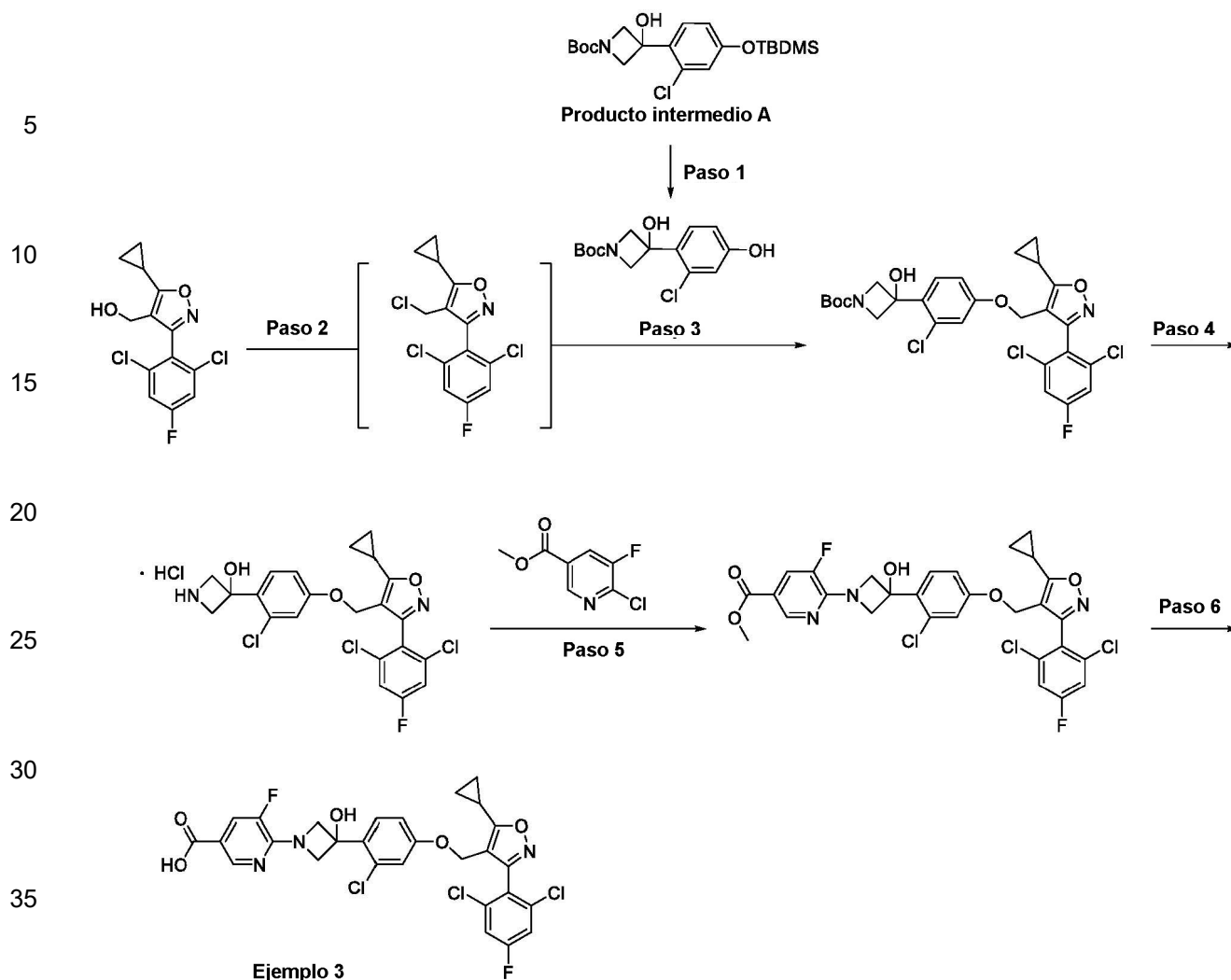
A una solución de 3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidina-1-carboxilato de *tert*-butilo (1,52 g, 2,60 mmol) en DCM (130 ml) se le añadió HCl 4 N en 1,4-dioxano (26,0 ml, 104 mmol). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas y se concentró hasta la sequedad para proporcionar 3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)acetidin-3-ol como la sal de clorhidrato, que se usó sin purificación adicional. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calculado 483.04; encontrado 483.03.

Paso 5: 2-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotinato de metilo

Se calentó una mezcla de 2-bromopiridina-4-carboxilato de metilo (0,466 g, 2,16 mmol), 3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)acetidin-3-ol como sal de clorhidrato (1,02 g, 1,96 mmol), carbonato de cesio (2,56 g, 7,85 mmol), (±)-BINAP (0,244 g, 0,392 mmol), trímero de acetato de paladio (88,0 mg, 0,131 mmol) y 1,4-dioxano (40,0 ml) a 85° C durante 18 horas. La reacción se enfrió a temperatura ambiente, se filtró sobre celite y se purificó por cromatografía en gel de sílice (acetona/hexanos) para proporcionar 2-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotinato de metilo. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calculado 618.08; encontrado 618.20.

Paso 6: Ácido 2-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotínico (Ejemplo 2).

A una solución de 2-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotinato (617 mg, 0,997 mmol) en THF/agua (1:1, 10 ml) se le añadió hidróxido de litio monohidratado (83,6 mg, 1,99 mmol). La solución se agitó durante 90 minutos, se concentró para eliminar el THF y se diluyó con agua. Se añadió ácido acético (0,23 ml, 3,99 mmol) mientras se agitaba, lo que dio como resultado la precipitación de sólidos. Los sólidos se filtraron, se lavaron con agua, IPA y éter y se secaron al vacío para proporcionar ácido 2-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)isonicotínico (**Ejemplo 2**). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calculado 604.06; encontrado 604.15. ¹H NMR (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ 13.47 (br s, 1H), 8.18 (dd, *J* = 5.3, 0.8 Hz, 1H), 7.69 (d, *J* = 8.5 Hz, 2H), 7.37 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 7.02 (dd, *J* = 5.3, 1.4 Hz, 1H), 6.93 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 6.86 (br s, 1H), 6.75 (dd, *J* = 8.6, 2.6 Hz, 1H), 6.20 (s, 1H), 4.91 (s, 2H), 4.49 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 4.19 (d, *J* = 9.3 Hz, 2H), 2.46 - 2.37 (m, 1H), 1.23 - 1.04 (m, 4H).

Ejemplo 3: Ácido 6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotínico

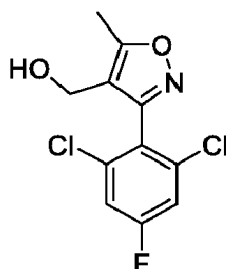
40 Los pasos 1-4 fueron como se describe para la síntesis del **Ejemplo 2**.

Paso 5: 6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinato de metilo

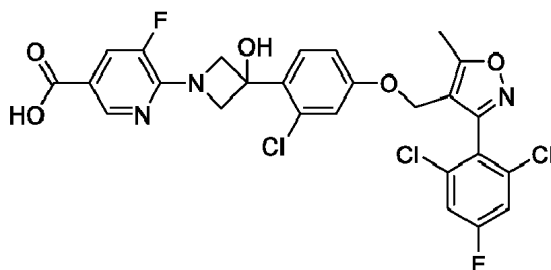
45 Se calentó una mezcla de 6-cloro-5-fluoropiridina de metilo (235 mg, 1,24 mmol), 3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)acetidin-3-ol como sal clorhidrato (495 mg, 0,952 mmol) y carbonato de potasio (1,05 g, 7,61 mmol) en DMF (30,0 ml) a 60° C durante 1 hora. La reacción se concentró, se diluyó con agua y se extrajo con EtOAc (3x). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron. La mezcla bruta se purificó por cromatografía en gel de sílice (DCM/Et₂O/MeOH) para proporcionar 6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinato de metilo. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calculado 636.07; encontrado 635.96.

Paso 6: Ácido 6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotínico (Ejemplo 3)

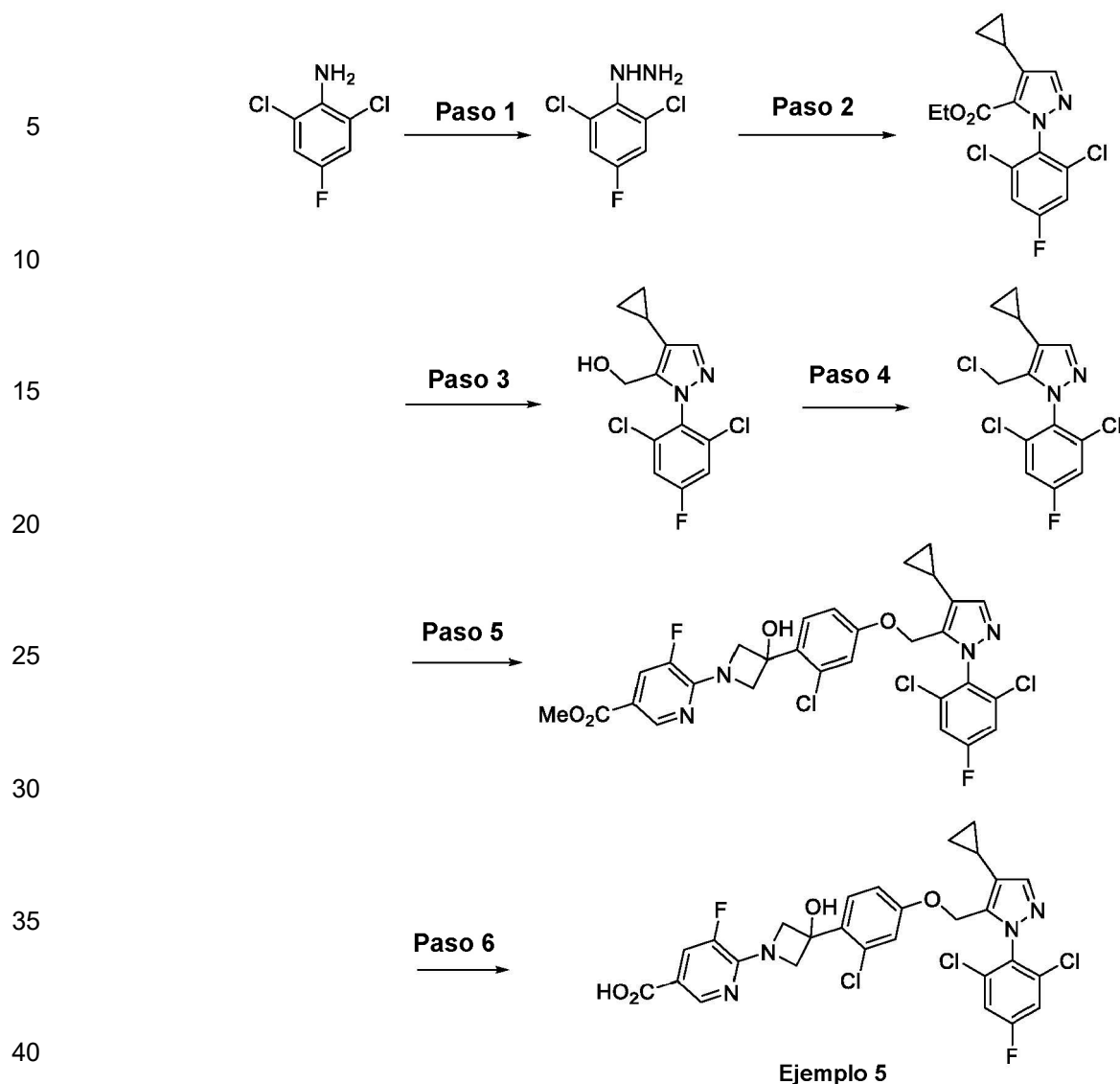
55 A una solución de 6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinato de metilo (364 mg, 0,571 mmol) en THF/agua (1:1, 20,0 ml) se le añadió monohidrato de hidróxido de litio (41,3 mg, 0,984 mmol). La solución se agitó durante 18 horas, se concentró para eliminar el THF y se diluyó con agua (10,0 ml). El pH se ajustó a 3 usando HCl 1N. Los sólidos se filtraron, se lavaron con agua, se disolvieron en ACN/agua y se liofilizaron para proporcionar ácido 6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotínico (**Ejemplo 3**). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calculado 622.05; encontrado 622.12. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.84 (bs, 1H), 8.44 (t, J = 1.7 Hz, 1H), 7.79 - 7.63 (m, 3H), 7.39 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.77 (dd, J = 8.6, 2.6 Hz, 1H), 6.28 (s, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.70 (d, J = 9.8 Hz, 2H), 4.34 (d, J = 9.5 Hz, 2H), 2.50-2.43 (m, 1H), 1.22 - 1.08 (m, 4H).

Producto intermedio 4: (3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-5-metilisoxazol-4-il)metanol

15 Siguiendo la **Síntesis General 2**, comenzando con 2,6-dicloro-4-fluorobenzaldehído en el **Paso 1** y usando acetoacetato de etilo en el **Paso 3**, se sintetizó (3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-5-metilisoxazol-4-il) metanol (Producto intermedio 4). LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calculado 276.00; encontrado 276.05.

Ejemplo 4: Preparación de ácido 6-(3-(2-cloro-4-((3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-5-metilisoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiazetidín-1-il)-5-fluoronicotínico

35 Siguiendo el procedimiento general descrito para el **Ejemplo 3**, usando el producto intermedio **4**, se sintetizó ácido 6-(3-(2-cloro-4-((3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-5-metilisoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiazetidín-1-il)-5-fluoronicotínico. LCMS-ESI⁺ (*m/z*): [M+H]⁺ calculado 596.04; encontrado 596.12. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 12.82 (bs, 1H), 8.44 (t, *J* = 1.6 Hz, 1H), 7.74 - 7.66 (m, 3H), 7.39 (d, *J* = 8.7 Hz, 1H), 6.90 (d, *J* = 2.6 Hz, 1H), 6.75 (dd, *J* = 8.7, 2.6 Hz, 1H), 6.26 (s, 1H), 4.87 (s, 2H), 4.69 (d, *J* = 9.8 Hz, 2H), 4.34 (d, *J* = 9.8 Hz, 2H), 2.57 (s, 3H).

Ejemplo 5: Ácido 6-(3-(2-cloro-4-((4-ciclopropil-1-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-1H-pirazol-5-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotínico**Paso 1: clorhidrato de (2,6-dicloro-4-fluorofenil)hidrazina**

45 A una solución a -5°C (temperatura interna, hielo húmedo/baño de acetona) de 2,6-dicloro-4-fluoroanilina (3,0 g, 17 mmol) en ácido clorhídrico al 37% (30 ml) y ácido trifluoroacético (20 ml) se le añadió gota a gota una solución acuosa de nitrito de sodio (1,4 g, 20 mmol, 6 ml de agua). La reacción se agitó durante 90 minutos, luego se añadió una solución de cloruro estannoso dihidrato (5,6 g, 25 mmol) en ácido clorhídrico al 37% (16 ml) durante 15 minutos, manteniendo la temperatura interna $\leq 2^{\circ}\text{C}$. La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se filtró y el sólido recogido se lavó con alcohol isopropílico y se secó al vacío para proporcionar el compuesto del título. LCMS-ESI+ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ calculado para $\text{C}_6\text{H}_6\text{Cl}_2\text{FN}_2$: 195.0; encontrado: 194.9.

50

Paso 2: 4-ciclopropil-1-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo

55 Se añadió N,N-dimetilformamida dimetilacetal (2,7 ml, 20 mmol) a 3-ciclopropil-2-oxopropanoato de etilo (Synnovator, 1,6 g, 10 mmol) y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Luego, la mezcla se concentró hasta la sequedad bajo presión reducida. Al residuo se le añadió sucesivamente etanol (40 ml), clorhidrato de (2,6-dicloro-4-fluorofenil)hidrazina (2,6 g, 11 mmol) y ácido clorhídrico al 37% (150 μl). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante cuatro horas, seguido de 2 días de calentamiento a reflujo. La mezcla enfriada se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) para proporcionar el compuesto del título. LCMS-ESI+ (m/z): $[\text{M}+\text{H}]^{+}$ calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{Cl}_2\text{FN}_2\text{O}_2$: 343.0; encontrado: 343.1.

60

Paso 3: (4-ciclopropil-1-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-1H-pirazol-5-il)metanol

65 Se enfrió una solución de 4-ciclopropil-1-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-1H-pirazol-5-carboxilato de etilo (1,5 g,

4,4 mmol) en tetrahidrofurano (50 ml) entre -12°C y -10° C. Se añadió gota a gota una solución de hidruro de litio y aluminio (Aldrich, 2 M en tetrahidrofurano, 2,6 ml, 5,2 mmol). La mezcla se dejó en agitación durante 35 minutos. La mezcla se inactivó (procedimiento de Fieser) y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) para proporcionar el compuesto del título. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₁₃H₁₂Cl₂FN₂O: 301.0; encontrado: 301.1.

Paso 4: 5-(clorometil)-4-ciclopropil-1-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-1H-pirazol

Se añadió cloruro de tionilo (110 µl, 1,5 mmol) a una solución de (4-ciclopropil-1-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-1H-pirazol-5-il)metanol (0,15 g, 0,51 mmol) en diclorometano (2,5 ml). La mezcla se calentó a 60° C durante 40 minutos y luego se concentró a presión reducida para proporcionar el producto bruto deseado, que se llevó adelante sin purificación adicional. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₁₃H₁₁Cl₃FN₂: 319.0; encontrado: 319.1.

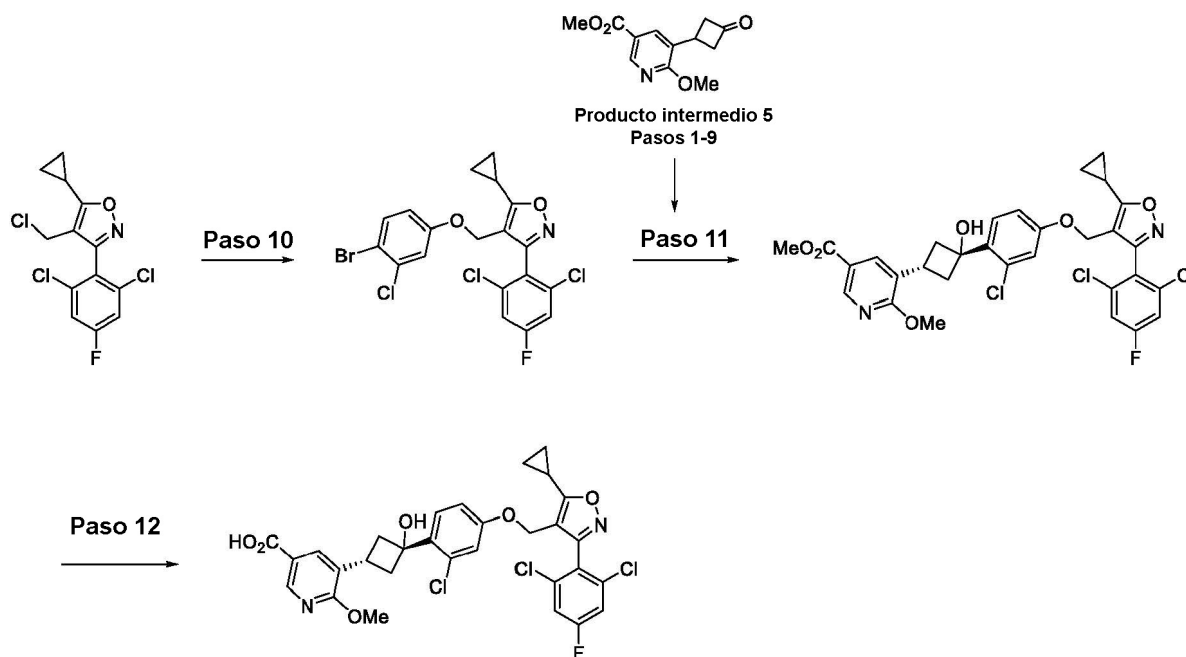
Paso 5: 6-(3-(2-cloro-4-((4-ciclopropil-1-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-1H-pirazol-5-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinato de metilo

Se trató una solución de 4-(clorometil)-5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol (0,16 g, 0,51 mmol) en DMF (3 ml) con 6-(3-(2-cloro-4-hidroxifenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinato de metilo (0,20 g, 0,56 mmol), yoduro de sodio (0,13 g, 0,86 mmol) y carbonato de potasio (0,14 g, 1,0 mmol). La mezcla se calentó a 65° C durante la noche y luego se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) para proporcionar el material deseado. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₂₉H₂₄Cl₃F₂N₄O₄: 635.1; encontrado: 635.2.

Paso 6: ácido 6-(3-(2-cloro-4-((4-ciclopropil-1-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-1H-pirazol-5-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotínico (Ejemplo 5)

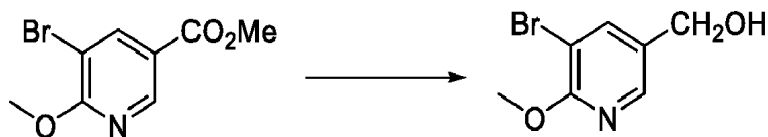
Se recogió una mezcla de 6-(3-(2-cloro-4-((4-ciclopropil-1-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-1H-pirazol-5-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinato de metilo (0,35 g, 0,39 mmol) e hidróxido de litio monohidrato (49 mg, 1,2 mmol) en tetrahidrofurano acuoso 1:1 (6 ml), y la mezcla se agitó a temperatura ambiente. Una vez completada, la mezcla se acidificó con ácido acético glacial y se concentró. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) para proporcionar ácido 6-(3-(2-cloro-4-((4-ciclopropil-1-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)-1H-pirazol-5-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotínico (**Ejemplo 5**). LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₂₈H₂₂Cl₃F₂N₄O₄: 621.1; encontrado: 621.2. 1H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.85 (s, 1H), 8.44 (t, J = 1.6 Hz, 1H), 7.76 (d, J = 8.3 Hz, 2H), 7.70 (dd, J = 12.7, 1.7 Hz, 1H), 7.49 (s, 1H), 7.40 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.00 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 6.80 (dd, J = 8.7, 2.6 Hz, 1H), 6.28 (s, 1H), 5.01 (s, 2H), 4.69 (d, J = 9.8 Hz, 2H), 4.34 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 1.89 (tt, J = 8.4, 5.1 Hz, 1H), 0.93 (m, 2H), 0.65 (m, 2H).

Ejemplo 6: Ácido 5-((1S,3S)-3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiciclobutil)-6-metoxicnicotínico



Síntesis del Producto Intermedio 5**Paso 1: (5-bromo-6-metoxipiridin-3-il)metanol**

5



10 A una solución de 5-bromo-6-metoxicnicotinato de metilo (52,8 g, 215,0 mmol) en THF (500 ml) se le añadió DIBAL-H (1,0 M, en tolueno) (344 ml, 344 mmol) a -20°C . Luego, la mezcla se agitó a TA durante 2 h. La mezcla se inactivó con NH_4Cl sat. y se diluyó con acetato de etilo. La porción orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (PE/EtOAc = 4/1) para dar el compuesto del título.

15

Paso 2: 3-bromo-5-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-2-metoxipiridina

20

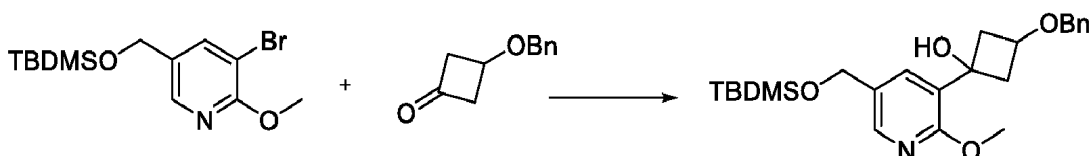


25 A una solución de (5-bromo-6-metoxipiridin-3-il)metanol (42,2 g, 194 mmol) y cloruro de terc-butildimetilsililo (35,0 g, 232 mmol) en CH_2Cl_2 (500 ml) se le añadió imidazol (19,8 g, 291 mmol). La mezcla se agitó a TA durante 8 h. La mezcla se inactivó con agua y se diluyó con acetato de etilo. La porción orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró, se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (PE/EtOAc = 10/1) para dar el compuesto del título.

30

Paso 3: 3-(benciloxi)-1-(5-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-2-metoxipiridin-3-il)ciclobutan-1-ol

35

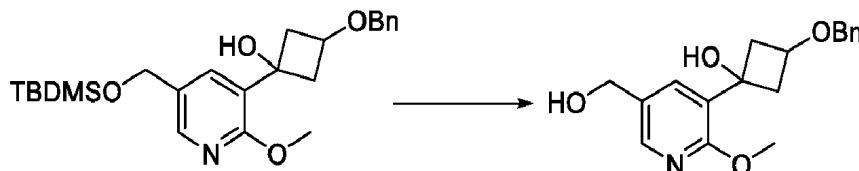


40 Se disolvió 3-bromo-5-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-2-metoxipiridina (61,2 g, 184 mmol) en THF absoluto (500 ml) bajo argón, se añadió gota a gota una solución 1,6 M de n-butilitio (138 ml, 221 mmol) en THF a -78°C . La mezcla se agitó durante 30 min a la misma temperatura. Luego, se añadió una solución de 3-(benciloxi)ciclobutan-1-ona (35,7 g, 202 mmol) en THF (100 ml) a -78°C y, posteriormente, la mezcla se agitó a esta temperatura durante 30 min. Posteriormente se añadió cloruro de amonio acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua y solución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio y se filtró. Después de eliminar el solvente en un evaporador rotatorio, el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (PE/EtOAc = 2/1) para dar el compuesto del título.

45

Paso 4: 3-(benciloxi)-1-(5-(hidroximetil)-2-metoxipiridin-3-il)ciclobutan-1-ol

50



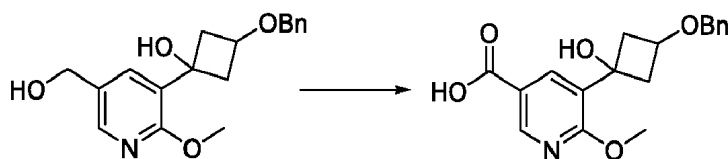
55

60 A una solución de 3-(benciloxi)-1-(5-(((terc-butildimetilsilil)oxi)metil)-2-metoxipiridin-3-il)ciclobutan-1-ol (31,6 g, 73,6 mmol) en THF (300 ml) se le añadió TBAF (88 ml, 1 mol/l). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas, luego se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua y solución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio y se filtró. La fase orgánica se concentró para dar el compuesto del título.

65

Paso 5: ácido 5-(3-(benciloxi)-1-hidroxiciclobutil)-6-metoxicnicotínico

5



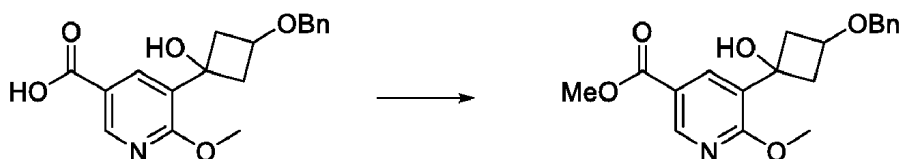
10

A una solución de 3-(benciloxi)-1-(5-(hidroximetil)-2-metoxipiridin-3-il)ciclobutan-1-ol (23,2 g, 73,6 mmol) en MeCN (300 ml) y H₂O (100 ml) se le añadió diacetato de yodobenceno (64,4 g, 200 mmol) y TEMPO (7,86 g, 50 mmol) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se inactivó con solución sat. de bicarbonato de sodio y se diluyó con acetato de etilo. La porción orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro y se filtró; la fase orgánica se concentró para dar el compuesto del título.

15

Paso 6: 5-(3-(benciloxi)-1-hidroxiciclobutil)-6-metoxicnicotinato de metilo

20



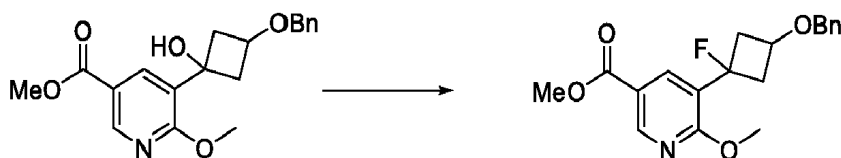
25

A una solución de ácido 5-(3-(benciloxi)-1-hidroxiciclobutil)-6-metoxicnicotínico (17,5 g, bruto) en THF/MeOH (200/50 ml) se le añadió TMSN₂CH₃ (50 ml, 20 mol/l) a 0° C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas, luego se vertió en agua y se extrajo con acetato de etilo. La fase orgánica se lavó con agua y solución saturada de cloruro de sodio, se secó sobre sulfato de magnesio y se filtró. El filtrado se concentró a presión reducida y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (PE/EA = 10,1) para dar el compuesto del título.

30

Paso 7: 5-(3-(benciloxi)-1-fluorociclobutil)-6-metoxicnicotinato de metilo

35



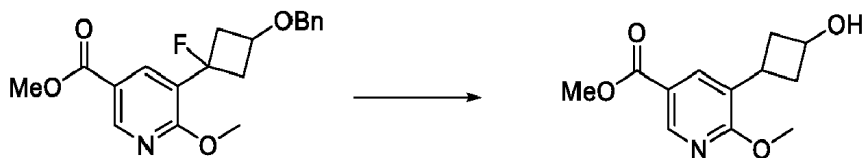
40

A una solución enfriada de 5-(3-(benciloxi)-1-hidroxiciclobutil)-6-metoxicnicotinato de metilo (15,2 g, 44,3 mmol) en DCM (200 ml) se le añadió DAST (8,0 ml) a -78° C gota a gota con una jeringuilla. Después de agitar durante 5 minutos a -78° C, la reacción se dejó calentar a -20° C y se agitó durante 75 minutos, luego se inactivó con H₂O (100 ml), se diluyó con EtOAc y se separaron las fases. La fase orgánica se lavó con NaHCO₃ sat. ac. y salmuera, luego se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró. El producto bruto se purificó por cromatografía (PE:EtOAc=4:1) para dar el compuesto del título.

45

Paso 8: 5-(3-hidroxiciclobutil)-6-metoxicnicotinato de metilo

50

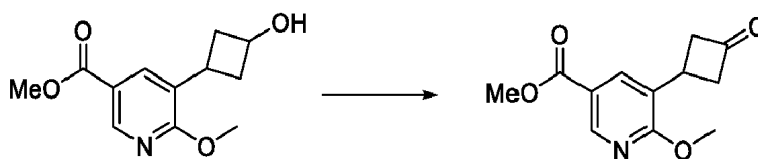


55

A una solución de 5-(3-(benciloxi)-1-fluorociclobutil)-6-metoxicnicotinato de metilo (12,7 g, 3,68 mmol) en MeOH (200 ml) y ácido fórmico (10 ml) se le añadió negro de Pd (3,0 g). La reacción se agitó vigorosamente bajo N₂. Después de aproximadamente 1,5 h, se añadió más negro de Pd (1,5 g) y la reacción se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se filtró y se concentró. El residuo se disolvió en EtOAc y se lavó con Na₂CO₃ sat. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró y se concentró hasta obtener un residuo oleoso. El residuo se purificó por cromatografía (MeOH: CH₂Cl₂ = 1:20) para dar el compuesto del título.

60

65

Paso 9: 6-metoxi-5-(3-oxociclobutil)nicotinato de metilo (Producto intermedio 5)

A una solución de 5-(3-hidroxiciclobutil)-6-metoxicnicotinato de metilo (4,0 g, 16,9 mmol) en MeCN (100 ml) y H₂O (30 ml) se le añadió diacetato de yodobenceno (16,1 g, 50 mmol) y TEMPO (2,92 g, 18,6 mmol) y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se inactivó con Na₂CO₃ sat. y luego se diluyó con acetato de etilo. La porción orgánica se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de sodio anhidro, se filtró y la fase orgánica se concentró y purificó por cromatografía (PE: EA= 5:1) para dar el **Producto Intermedio 5**.

Paso 10: 4-((4-bromo-3-clorofenoxi)metil)-5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol

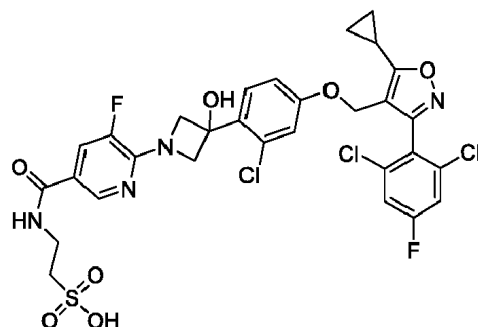
Se trató una solución de 4-(clorometil)-5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol bruto (preparado como se describe en el Ejemplo 2, paso 2; 0,42 g, 1,3 mmol) en N,N-dimetilformamida (DMF, 6 ml) con 4-bromo-3-clorofenol (0,27 g, 1,3 mmol), yoduro de sodio (0,34 g, 2,2 mmol) y carbonato de potasio (0,37 g, 2,6 mmol). La mezcla se calentó a 60° C durante 35 minutos antes de enfriarse y purificarse mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) para proporcionar el material deseado. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₁₉H₁₃BrCl₃FNO₂: 491.9; encontrado: 492.0.

Paso 11: 5-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiciclobutil)-6-metoxicnicotinato de metilo

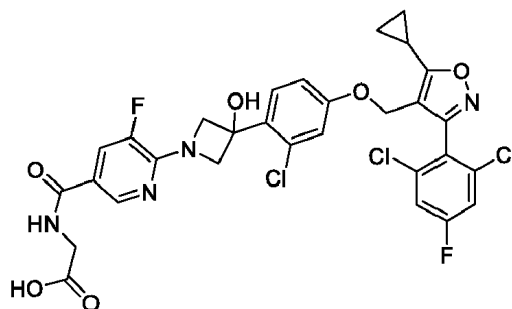
Bajo una atmósfera de argón, se trató una solución de 4-((4-bromo-3-clorofenoxi)metil)-5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol (0,83 g, 1,7 mmol) en 2-metiltetrahydrofurano (2 ml) con solución de cloruro de isopropilmagnesio/cloruro de litio (Aldrich, 1,3 M en tetrahydrofurano, 1,3 ml, 1,7 mmol) gota a gota con una jeringuilla. Después del paso de cuatro horas, se añadió un volumen adicional de solución de cloruro de isopropilmagnesio/cloruro de litio (1,3 ml). En un recipiente separado, bajo una atmósfera de argón, se trató una solución de 6-metoxi-5-(3-oxociclobutil)nicotinato (Producto intermedio 5), 0,21 g, 0,90 mmol) en tetrahydrofurano (5 ml) con solución de cloruro de lantano (III)/cloruro de litio 2 (Aldrich, 0,6 M en tetrahydrofurano, 1,5 ml, 0,9 mmol). Esta mezcla se agitó durante una hora a temperatura ambiente antes de enfriarla en un baño de acetona/hielo húmedo a -8° C. La solución de Grignard anterior se añadió gota a gota a la solución de cetona mediante una jeringuilla. La mezcla de reacción se agitó durante la noche en una atmósfera de argón. La mezcla se inactivó con una solución acuosa saturada de cloruro de amonio. La fase acuosa se extrajo tres veces con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron una vez con solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) para proporcionar el compuesto del título. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₃₁H₂₇Cl₃FN₂O₆: 647.1; encontrado: 647.1.

Paso 12: Ácido 5-((1S,3S)-3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiciclobutil)-6-metoxicnicotínico (Ejemplo 6)

Se recogió una mezcla de 5-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiciclobutil)-6-metoxicnicotinato de metilo (0,26 g, 0,40 mmol) e hidróxido de litio monohidrato (33 mg, 0,79 mmol) en tetrahydrofurano acuoso 1:1 (10 ml) y se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Los volátiles se eliminaron en su mayoría a presión reducida. La mezcla acuosa se diluyó con agua y se trató gota a gota con ácido clorhídrico acuoso al 10%. La mezcla resultante se extrajo tres veces con acetato de etilo. Los orgánicos combinados se lavaron con una solución acuosa saturada de cloruro de sodio (con una pequeña cantidad de ácido clorhídrico añadido). Los orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó primero mediante cromatografía ultrarrápida (gel de sílice) y luego mediante HPLC preparativa (acetonitrilo/agua, TFA). Las fracciones combinadas recogidas por HPLC se neutralizaron con solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio, se saturaron con cloruro de sodio y se extrajeron tres veces con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se concentraron. El residuo se recogió en acetato de etilo, se trató con sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró. De nuevo, el residuo se recogió en acetato de etilo y se filtró a través de una almohadilla de tierra de diatomeas Celite. El filtrado se concentró para proporcionar ácido 5-((1S,3S)-3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiciclobutil)-6-metoxicnicotínico (**Ejemplo 6**). LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₃₀H₂₅Cl₃FN₂O₆: 633.1; encontrado: 633.1. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 13.00 (bs, 1H), 8.58 (d, J = 2.2 Hz, 1H), 8.13 (dd, J = 2.3, 0.8 Hz, 1H), 7.72 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.51 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.94 (d, J = 2.6 Hz, 1H), 6.79 (dd, J = 8.7, 2.6 Hz, 1H), 4.94 (s, 2H), 3.90 (s, 3H), 3.15 - 3.03 (m, 2H), 2.91 (p, J = 8.8 Hz, 1H), 2.49 - 2.41 (m, 1H), 2.41 - 2.30 (m, 2H), 1.21 - 1.09 (m, 4H).

Ejemplo 7: Ácido 2-(6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinamido)etano-1-sulfónico

5
10
15 Se trató una solución de ácido 6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotínico (Ejemplo 3, 0,11 g, 0,18 mmol) en DMF (4 ml) con HATU hexafluorofosfato de 3-óxido de (1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio, 0,10 g, 0,27 mmol) seguido de taurina (34 mg, 0,27 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (90 µl, 0,54 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se purificó por HPLC preparativa (agua/acetonitrilo/TFA). Las fracciones combinadas se trataron con solución de hidróxido de amonio y se concentraron para dar ácido 2-(6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinamido)etano-1-sulfónico (**Ejemplo 7**) como la sal de amonio. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₃₀H₂₆Cl₃F₂N₄O₇S: 729,1; encontrado: 729,2. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 8.34 (m, 2H), 7.73 - 7.61 (m, 3H), 7.37 (d, J = 8.6 Hz, 1H), 7.29 - 6.95 (m, 4H), 6.92 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.75 (dd, J = 8.6, 2.5 Hz, 1H), 6.22 (s, 1H), 4.90 (s, 2H), 4.63 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 4.29 (d, J = 9.6 Hz, 2H), 3.46 (q, J = 6.5 Hz, 2H), 2.63 (t, J = 7.3 Hz, 2H), 2.45 - 2.38 (m, 1H), 1.16 (dt, J = 8.5, 3.1 Hz, 2H), 1.10 (dt, J = 5.4, 2.9 Hz, 2H).

Ejemplo 8: (6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinoil)glicina**Paso 1: (6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidina-1-il)-5-fluoronicotinoil)glicinato de metilo**

35
40
45
50 Se trató una solución de ácido 6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotínico (Ejemplo 3, 0,12 g, 0,19 mmol) en DMF (4 ml) con HATU hexafluorofosfato de 3-óxido de (1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio (0,11 g, 0,29 mmol) seguido de clorhidrato de éster metílico de glicina (36 mg, 0,29 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (100 µl, 0,58 mmol). La mezcla se agitó durante la noche a temperatura ambiente y luego se inactivó con solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio. La fase acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo. Los extractos combinados se lavaron una vez con solución acuosa saturada de cloruro de sodio/solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato de sodio 1:1, se secaron sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtraron, y se concentraron a presión reducida para dar el producto deseado, que se llevó adelante sin purificación adicional. LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₃₁H₂₆Cl₃F₂N₄O₆: 693,1; encontrado: 693,2.

Paso 2: (6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinoil)glicina (Ejemplo 8)

60
65 Se agitó una mezcla de (6-(3-(2-cloro-4-((5-ciclopropil-3-(2,6-dicloro-4-fluorofenil)isoxazol-4-il)metoxi)fenil)-3-hidroxiacetidin-1-il)-5-fluoronicotinoil)glicinato de metilo bruto (aproximadamente 0,19 mmol) e hidróxido de litio monohidrato (38 mg, 0,91 mmol) en tetrahidrofurano acuoso (2:1, 3 ml) a temperatura ambiente durante 3,5 horas. El solvente volátil se eliminó a presión reducida. El residuo se diluyó con agua y se acidificó a pH 1 con ácido clorhídrico acuoso al 10%. La mezcla acuosa ácida se extrajo tres veces con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se lavaron una vez con solución acuosa saturada de cloruro de sodio, se secaron sobre

sulfato de magnesio anhidro, se filtraron y se concentraron hasta la sequedad a presión reducida. **(Ejemplo 8).** LCMS-ESI⁺ (m/z): [M+H]⁺ calculado para C₃₀H₂₄Cl₃F₂N₄O₆: 679.1; encontrado: 679.3. ¹H NMR (400 MHz, DMSO-d₆) δ 12.68 (s, 1H), 8.68 (t, J = 5.8 Hz, 1H), 8.44 (t, J = 1.7 Hz, 1H), 7.80 (dd, J = 13.2, 1.8 Hz, 1H), 7.71 (d, J = 8.5 Hz, 2H), 7.39 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 6.95 (d, J = 2.5 Hz, 1H), 6.77 (dd, J = 8.6, 2.6 Hz, 1H), 6.26 (s, 1H), 4.93 (s, 2H), 4.66 (d, J = 9.5 Hz, 2H), 4.32 (d, J = 9.3 Hz, 2H), 3.87 (d, J = 5.8 Hz, 2H), 2.48 - 2.42 (partially obscured by DMSO, m, 1H), 1.16 (m, 4H).

Ejemplo 9: ensayo de actividad FRET

La determinación de una interacción peptídica de cofactores mediada por ligandos para cuantificar la unión del ligando al receptor nuclear FXR se realizó de la siguiente manera.

Preparación del dominio de unión al ligando FXR alfa humano: El LBD FXR alfa humano se expresó en la cepa BL21 (DE3) de *E. coli* como una proteína de fusión etiquetada con GST N-terminalmente. El ADN que codifica el dominio de unión al ligando FXR se clonó en el vector pDEST15 (Invitrogen). La expresión estaba bajo el control de un promotor T7 inducible por IPTG. Los límites de aminoácidos del dominio de unión al ligando eran los aminoácidos 187-472 de la entrada de la base de datos NM_005123 (RefSeq). Expresión y purificación de FXR-LBD: se diluyó un precultivo durante la noche de una cepa de *E. coli* transformada a 1:20 en medio LB-ampicilina y se cultivó a 30° C hasta una densidad óptica de OD₆₀₀=0.4-0.6. Luego, se indujo la expresión génica mediante la adición de IPTG 0,5 mM. Las células se incubaron durante 6 h adicionales a 30° C, 180 rpm. Las células se recogieron por centrifugación (7000 x g, 7 min, ta). Por litro de cultivo celular original, las células se volvieron a suspender en 10 ml de tampón de lisis (glucosa 50 mM, Tris 50 mM pH 7,9, EDTA 1 mM y lisozima 4 mg/ml) y se dejaron en hielo durante 30 min. Luego, las células se sometieron a sonicación y los restos celulares se eliminaron mediante centrifugación (22000 x g, 30 min, 4° C). Por cada 10 ml de sobrenadante, se añadieron 0,5 ml de lechada de glutatión 4B sefarosa prelavada (Qiagen) y la suspensión se mantuvo en rotación lenta durante 1 hora a 4° C. Las perlas de glutatión 4B sefarosa se sedimentaron mediante centrifugación (2000 x g, 15 s, 4° C) y se lavaron dos veces en tampón de lavado (Tris 25 mM, KCl 50 mM, MgCl₂ 4 mM y NaCl 1 M). El sedimento se volvió a suspender en 3 ml de tampón de elución por litro de cultivo original (tampón de elución: Tris 20 mM, KCl 60 mM, MgCl₂ 5 mM y glutatión 80 mM añadidos inmediatamente antes de su uso como polvo). La suspensión se dejó rotar durante 15 min a 4° C, las perlas se sedimentaron y se eluyeron de nuevo con la mitad del volumen de tampón de elución que la primera vez. Los eluatos se agruparon y dializaron durante la noche en tampón Hepes 20 mM (pH 7,5) que contenía KCl 60 mM, MgCl₂ 5 mM así como ditiotreitol 1 mM y glicerol al 10% (v/v). La proteína fue analizada por SDS-Page.

El método mide la capacidad de los ligandos putativos para modular la interacción entre el dominio de unión al ligando (LBD) de FXR expresado en bacterias purificadas y un péptido biotinilado sintético basado en los residuos 676-700 de SRC-1 (LCD2, 676-700). La secuencia del péptido usado era B-CPSSHSLTERHKILHRLLQEGSPS-COOH (SEQ ID NO: 1) donde el extremo N-terminal estaba biotinilado (B). El dominio de unión al ligando (LBD) de FXR se expresó como proteína de fusión con GST en células BL-21 usando el vector pDEST15. Las células se lisaron mediante sonicación y las proteínas de fusión se purificaron sobre glutatión sefarosa (Pharmacia) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Para la selección de compuestos por su influencia en la interacción FXR-péptido, se aplicó la tecnología LANCE de Perkin Elmer. Este método se basa en la transferencia de energía dependiente de la unión de un fluoróforo donante a un aceptor unido a la pareja de unión de interés. Para facilitar el manejo y la reducción del fondo de la fluorescencia compuesta, la tecnología LANCE hace uso de marcadores fluoróforos genéricos y detección resuelta en el tiempo. Los ensayos se realizaron a un volumen final de 25 µl en una placa de 384 pocillos, en un tampón a base de Tris (Tris-HCl 20 mM pH 7,5, KCl 60 mM, MgCl₂ 5 mM; 35 ng/µl de BSA), que contenía 20-60 ng/pocillo de FXR-LBD expresado recombinantemente fusionado con GST, 200-600 nM de péptido biotinilado en el extremo N-terminal, que representa los aminoácidos 676-700 de SRC1, 200 ng/pocillo de conjugado de estreptavidina-xIAPC (Prozyme) y 6-10 ng/pocillo de Eu W1024-antiGST (Perkin Elmer). El contenido de DMSO de las muestras se mantuvo al 1%. Después de la generación de la mezcla de ensayo y diluir los ligandos potencialmente moduladores de FXR, el ensayo se equilibró durante 1 h en la oscuridad a ta en placas FIA negras de 384 pocillos (Greiner). La señal LANCE fue detectada por un contador de múltiples marcadores VICTOR2VTM de Perkin Elmer. Los resultados se visualizaron trazando la relación entre la luz emitida a 665 y 615 nm. Se observa un nivel basal de formación de péptido FXR en ausencia de ligando añadido. Los ligandos que promueven la formación del complejo inducen un aumento dependiente de la concentración en la señal fluorescente resuelta en el tiempo. Se esperaría que los compuestos que se unen igualmente bien tanto al FXR monomérico como al complejo FXR-péptido no produzcan cambios en la señal, mientras que se esperaría que los ligandos que se unen preferiblemente al receptor monomérico induzcan una disminución dependiente de la concentración en la señal observada.

Para evaluar el potencial agonista de los compuestos, se determinaron los valores de EC₅₀ para los compuestos de ejemplo y se enumeran a continuación en la Tabla 2 (FRET EC₅₀).

Ejemplo 10: Ensayo de un híbrido de mamífero (M1H)

La determinación de una transactivación impulsada por el promotor Gal4 mediada por ligando para

cuantificar la activación de FXR mediada por la unión a ligando se realizó de la siguiente manera.

La parte del ADNc que codifica el dominio de unión al ligando FXR se clonó en el vector pCMV-BD (Stratagene) como una fusión con el dominio de unión al ADN de GAL4 de levadura bajo el control del promotor CMV. Los límites de aminoácidos del dominio de unión al ligando eran los aminoácidos 187-472 de la entrada de la base de datos NM_005123 (RefSeq). Se usó el plásmido pFR-Luc (Stratagene) como plásmido informador, que contiene un promotor sintético con cinco repeticiones en tándem de los sitios de unión de GAL4 de levadura, impulsando la expresión del gen de luciferasa *Photinus pyralis* (luciérnaga americana) como gen informador. Para mejorar la precisión experimental, se cotransfectó el plásmido pRL-CMV (Promega). pRL-CMV contiene el promotor CMV constitutivo, que controla la expresión de la luciferasa de *Renilla reniformis*. Todos los ensayos del gen informador Gal4 se realizaron en células HEK293 (obtenidas de DSMZ, Braunschweig, Alemania) cultivadas en MEM con L-glutamina y BSS de Earle suplementado con suero bovino fetal al 10%, aminoácidos no esenciales 0,1 mM, piruvato sódico 1 mM, 100 unidades de penicilina/estreptavidina por ml a 37° C en 5% de CO₂. El medio y los suplementos se obtuvieron de Invitrogen. Para el ensayo, se sembraron 5 x 10⁵ células por pocillo en placas de 96 pocillos en 100 µl por pocillo de MEM sin rojo de fenol y L-glutamina y con BSS de Earle suplementado con FBS tratado con carbón/dextrano al 10% (HyClone, South Logan, Utah), aminoácidos no esenciales 0,1 mM, glutamina 2 mM, piruvato de sodio 1 mM y 100 unidades de penicilina/estreptavidina por ml, incubado a 37° C en CO₂ al 5%. Al día siguiente, las células tenían una confluencia de >90%. Se eliminó el medio y las células se transfectaron transitoriamente usando 20 µl por pocillo de un OptiMEM-reactivo de transfección basado en polietilimina (OptiMEM, Invitrogen; Polietilimina, Aldrich N° de Cat. 40,827-7) que incluye los tres plásmidos descritos anteriormente. Se añadió MEM con la misma composición que se usó para sembrar células 2-4 h después de la adición de la mezcla de transfección. Luego se añadieron soluciones madre de compuesto, prediluidas en MEM (concentración de vehículo final que no excedía el 0,1%). Las células se incubaron durante 16 h adicionales antes de medir secuencialmente las actividades de luciferasa de luciérnaga y renilla en el mismo extracto celular usando un sistema Dual-Light-Luciferase-Assay (Dyer et al., Anal. Biochem. 2000, 282, 158-161). Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

Para evaluar la potencia agonista de FXR de los compuestos de ejemplo, la potencia se determinó en el ensayo M1H y se enumera a continuación en la Tabla 2 (M1H EC₅₀).

Tabla 2

Ejemplo	FRET EC ₅₀ (nM)	M1H EC ₅₀ (nM)
1	263	3000
2	25	831
3	7.4	3.8
4	35	176
5	18	8.6
6	49	353
7	6.9	1696
8	8.1	1264

Ejemplo 11: Ensayo de ID de metabolitos en microsomas hepáticos humanos

La estabilidad metabólica del **Ejemplo 3** y el **Ejemplo Comparativo 1** en microsomas hepáticos humanos se llevó a cabo de acuerdo con el siguiente procedimiento. Se combinaron microsomas de hígado humano (35 µl de concentración de proteína de 20 mg/ml), 350 µl de tampón de fosfato de potasio 100 mM (pH 7,4), 245 µl de agua desionizada y 0,7 µl de solución madre del compuesto (5 mM) en un tubo de microcentrifuga de 1,5 ml. El tubo se selló y se agitó en vórtex suavemente durante 10 segundos, luego se colocó en un Eppendorf ThermoMixer C y se precalentó a 37° C con agitación a 1100 rpm durante 5 minutos.

Se añadió solución de NADPH (70 µl; 10 mM en agua) mientras se agitaba, la mezcla se aspiró varias veces con una pipeta y se extrajeron 200 µl a un tubo de microcentrifuga de 1,5 ml nuevo en hielo que contenía 200 µl de acetonitrilo frío. Esta alícuota se agitó a alta velocidad durante 10 segundos y luego se colocó en hielo. Después de 30 y 60 minutos, se extrajeron alícuotas adicionales de 200 µl y se transfirieron a un tubo de microcentrifuga de 1,5 ml nuevo sobre hielo que contenía 200 µl de acetonitrilo frío. Estos se agitaron en vórtex a alta velocidad durante 10 segundos y luego se colocaron en hielo.

Las alícuotas enfriadas se centrifugaron a 14.300 rpm en una microcentrifuga durante 10 minutos a 10° C, luego el sobrenadante se transfirió a una placa de 96 pocillos de pozo profundo (1 ml) y se selló con una estera de silicona. La muestra se transfirió al Cool Stack del autoinyector (temperatura establecida a 10° C) y se inyectaron 20 µl en el espectrómetro de masas Thermo Elite Orbitrap. Se analizaron muestras de 20 µl mediante UPLC-MS para identificar y cuantificar los metabolitos (UPLC con bomba binaria Agilent 1290 G4220 con horno de columna Agilent G1316 TCC; Waters Acquity UPLC BEH C18 (tamaño de poro de 130 Å, tamaño de partícula de 1,7 µm, tamaño de

partícula de 2,1 x 50 mm) mantenida a 40° C; matriz de diodos Agilent 1290 G4212 DAD con intervalo de longitud de onda de 190 a 400 nm; espectrómetro de masas Thermo Electron Orbitrap Elite en modo positivo FTMS).

5 Concentración final de proteína microsomal: 1 mg/ml

Concentración final de NADPH: 1 mM

Concentración final de sustrato: 5 µM

10

Puntos temporales: 0, 30, 60 minutos

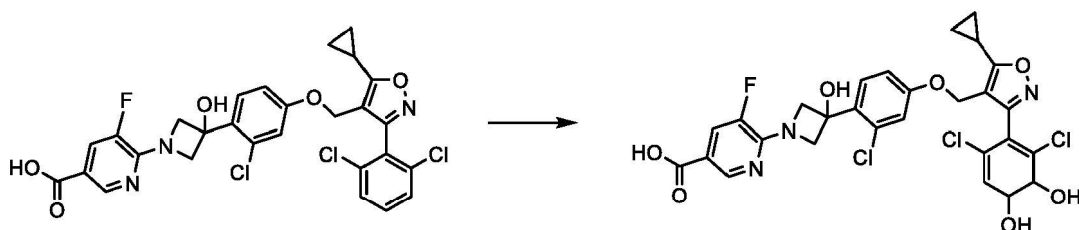
Volumen de incubación por punto temporal: 200 µl

15 Se descubrió que el **Ejemplo Comparativo 1**, un comparador directo del **Ejemplo 3** que carece de un sustituyente 4-fluorofenilo presente en los compuestos divulgados en la presente, se metaboliza a un compuesto diol (**M1**) en las condiciones descritas anteriormente (**Esquema 1**). La incorporación del sustituyente 4-fluoro inhibió la formación del metabolito M1 en las mismas condiciones.

20

Esquema 1

25

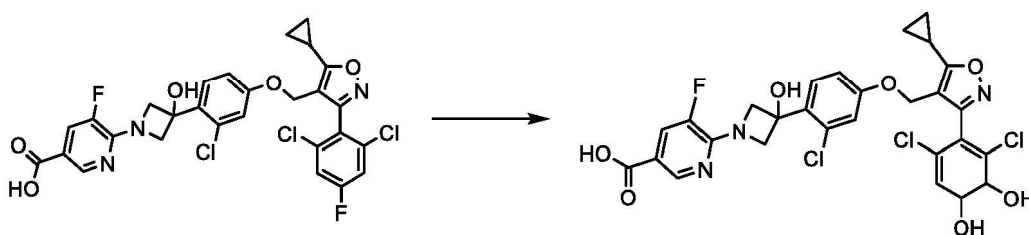


Ejemplo Comparativo 1
m/z 604.0610

M1
m/z 638.0664
Abundancia por UV 23%

35

40



Ejemplo 3
m/z 622.0512

M1
M/Z 638.0664
Abundancia por UV <1%

45

50

Ejemplo 12: Evaluación de la farmacodinámica in vivo en mono Cynomolgus

Se determinaron la farmacodinámica in vivo de un compuesto representativo de Fórmula (I) y un compuesto de ejemplo comparativo de la siguiente manera.

55

Artículo de prueba y formulación

Se formularon dosis de suspensión oral de un compuesto representativo de Fórmula (I) (**Ejemplo 3**) y **Ejemplo Comparativo 2** (Ejemplo 13/9 de la Patente de Estados Unidos N° 9.139.539) a concentraciones de 2, 6, 20 y 60 mg/ml en suspensiones acuosas de carboximetilcelulosa sódica (Na CMC) al 0,5%, etanol al 1% y tampón Tris 50 mM al 98,5%, a pH 8.

60

Animales

65

Cada grupo de dosificación consistía de tres monos Cynomolgus macho. En el momento de la dosificación,

los animales pesaban entre 2,5 y 4,4 kg.

Dosificación

5 Los artículos de prueba se administraron a los monos mediante alimentación forzada oral a 5 ml/kg. Antes de la extracción, el tubo de la administración forzada se enjuagó con aproximadamente 10 ml de agua.

Recogida de muestras

10 Se tomaron muestras de sangre venosa en puntos temporales especificados después de la dosificación de cada animal. Las muestras de sangre se recogieron y se transfirieron a tubos que contenían anticoagulante EDTA de potasio (K₂).

Determinación de concentraciones de FGF19 en plasma

15 Se usó el kit de ensayo ELISA FGF19 de BioVendor (número de producto RD191107200R) para determinar las concentraciones de FGF19 en las muestras de sangre recogidas.

Determinación de la concentración de fármaco en plasma

20 Se trataron una alícuota de 50 µl de cada muestra de plasma de los grupos de dosificación de 10 y 30 mg/kg y las muestras t = 0 de los grupos de 100 y 300 mg/kg con 200 µl de acetonitrilo (ACN) que contenía el estándar interno. Una alícuota de 25 µl de las muestras restantes del grupo de 100 mg/kg se combinó con 25 µl de plasma sin muestras para efectuar una dilución 1:2 y se trató con 200 µl de acetonitrilo (ACN) que contenía el estándar interno. Una alícuota de 10 µl de las muestras restantes del grupo de 300 mg/kg se combinó con 40 µl de plasma sin muestras para efectuar una dilución de 1:5 y se trató con 200 µl de acetonitrilo (ACN) que contenía el estándar interno. Las soluciones anteriores se centrifugaron a 5000 RPM durante 10 minutos y se transfirieron 50 µl de sobrenadante a una placa limpia de 96 pocillos, seguido de la adición de 200 µl de agua. Se inyectó una alícuota de 10 µl al sistema API 5000 LC/MS/MS. Las muestras que excedían el intervalo de calibración del instrumento se diluyeron y volvieron a analizar.

Condiciones de HPLC

35 Se usó una columna de HPLC Zorbax Extend C18 (50 x 2,1 mm, 3,5 µ) de Agilent Technologies (Nº de pieza 735700-902). La fase móvil A contenía una solución acuosa de acetonitrilo al 1% en formiato de amonio 10 mM ajustado a pH 3,0 con ácido fórmico. La fase móvil B contenía un 10% de formiato de amonio 10 mM en acetonitrilo ajustado a pH 5,2 con ácido fórmico. Se usó un multiplexor Thermo Aria con dos bombas binarias Agilent serie 1200 idénticas (P/N G1312A Bin Pump) para la elución y separación. El programa de elución usado se expone en la siguiente Tabla 3.

40

Tabla 3.

<i>Tiempo (seg)</i>	<i>Comentarios del Paso</i>	<i>Caudal (ml/min)</i>	<i>Fase Móvil A (%)</i>	<i>Fase Móvil B (%)</i>
30	Carga de muestras	0.50	85	15
180	Rampa	0.50	50	50
90	Rampa	0.50	99	1
60	elución	0.50	99	1
120	Reequilibrio	0.50	85	15

45

50 Se usó un espectrómetro de masas de triple cuadrupolo API 5000 de AB Sciex, Foster City, CA en modo de monitorización de reacciones múltiples para cuantificar los compuestos. Los parámetros de espectrometría de masas usados se exponen en la siguiente Tabla 4.

55

Tabla 4.

Fuente de iones	Voltaje de pulverización (V)	Gas 1 (Arb)	Gas 2 (Arb)	Gas de colisión (Arb)	Temperatura del secador (° C)
Pulverización de turbo iones	5500	70	50	6	550

Resultados

60 Los niveles de FGF19 se compararon tras la administración oral de dosis crecientes del **Ejemplo 3** o el **Ejemplo Comparativo 2** (3 a 300 mg/kg). Se observaron aumentos dependientes de la dosis en la exposición en plasma para ambos compuestos y la AUC máxima alcanzada con cada compuesto a 300 mg/kg era comparable (Figura 1). el **Ejemplo 3** aumentó de manera dependiente de la dosis FGF19 en plasma, alcanzando una C_{max} de

65

16000 pg/ml en la dosis más alta (Figura 2). La administración del **Ejemplo Comparativo 2** también provocó aumentos en el FGF19 en plasma, pero el nivel máximo de FGF19 fue significativamente menor (C_{max} 3000 ng/ml) que para el **Ejemplo 3**. Además, la inducción máxima de FGF19 por el **Ejemplo Comparativo 2** se logró a 5 mg/kg.; las dosis más altas no proporcionaron un aumento adicional a pesar de una mayor exposición al fármaco en plasma (Figura 2). Este ejemplo demuestra que la administración IV u oral del **Ejemplo 3** puede inducir mayores niveles de FGF19 que el **Ejemplo Comparativo 2**.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente tienen el mismo significado que el entendido comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece esta divulgación.

Por tanto, debe entenderse que aunque la presente divulgación ha sido específicamente divulgada mediante realizaciones preferidas y características opcionales, los expertos en la técnica pueden recurrir a la modificación, mejora y variación de las divulgaciones incorporadas en la presente, y que se considera que tales modificaciones, mejoras y variaciones están dentro del alcance de esta divulgación. Los materiales, métodos y ejemplos proporcionados en la presente son representativos de realizaciones preferidas, son ejemplares y no se pretende que limiten el alcance de la divulgación.

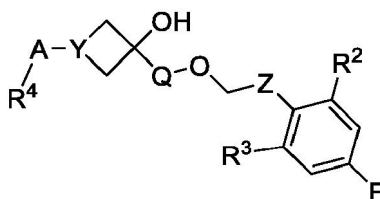
La divulgación se ha descrito en la presente de manera amplia y genérica. Cada una de las especies más estrechas y las agrupaciones subgenéricas que caen dentro de la divulgación genérica también forman parte de la divulgación. Esto incluye la descripción genérica de la divulgación con una condición o limitación negativa que elimine cualquier tema del género, independientemente de si el material eliminado se enumera específicamente en la presente o no.

Además, cuando las características o aspectos de la divulgación se describen en términos de grupos Markush, los expertos en la técnica reconocerán que la divulgación también se describe en términos de cualquier miembro individual o subgrupo de miembros del grupo Markush.

Debe entenderse que, aunque la divulgación se ha descrito junto con las realizaciones anteriores, se pretende que la descripción y los ejemplos anteriores ilustren y no limiten el alcance de la divulgación. Otros aspectos, ventajas y modificaciones dentro del alcance de la divulgación serán evidentes para los expertos en la técnica a la que pertenece la divulgación.

La presente invención se describirá ahora con referencia a las siguientes cláusulas:

1. Un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I):



(I)

en donde:

Q es fenileno o piridileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, metilo, alcoxi C_{1-4} , halo-alcoxi C_{1-4} , $-CH_2F$, $-CHF_2$, y $-CF_3$; Y es N o CH;

A es piridileno o fenileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de halógeno, alcoxi C_{1-4} , halo-alcoxi C_{1-4} , alquilo C_{1-4} y halo-alquilo C_{1-4} ;

Z es isoxazol sustituido con R^1 o pirazol sustituido con R^1 ;

R^1 es alquilo C_{1-4} o cicloalquilo C_{3-6} , en donde

dicho alquilo C_{1-4} está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de fluoro, hidroxilo, alcoxi C_{1-3} y fluoro-alcoxi C_{1-3} , y

dicho cicloalquilo C_{3-6} está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de fluoro, hidroxilo, alquilo C_{1-3} , fluoro-alquilo C_{1-3} , alcoxi C_{1-3} y fluoro-alcoxi C_{1-3} ;

R^2 y R^3 se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, metoxi, $-CF_3$, $-CHF_2$, $-CH_2F$, $-OCH_2F$, $-OCHF_2$, $-OCF_3$ y metilo;

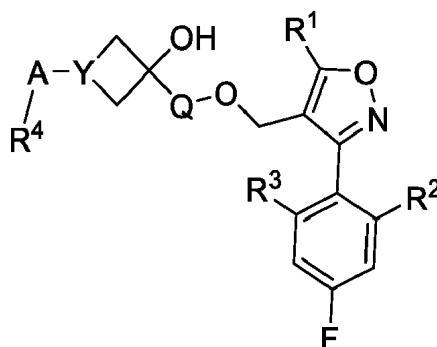
R^4 es $-CO_2R^5$ o $-C(O)NR^5R^6$;

R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, o halo-alquilo C₁₋₆; y

R⁶ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆, en donde dicho alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con de 1 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, -SO₃H y -CO₂H;

5 o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

10 2. Un compuesto de acuerdo con la Fórmula (Ia):



(Ia)

en donde:

30 Q es fenileno o piridileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, metilo, alcoxi C₁₋₄, halo-alcoxi C₁₋₄, -CH₂F, -CHF₂, y -CF₃;

Y es N o CH;

35 A es piridileno o fenileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de halógeno, alcoxi C₁₋₄, halo-alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄ y halo-alquilo C₁₋₄;

R¹ es alquilo C₁₋₄ o cicloalquilo C₃₋₆, en donde

dicho alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de fluoro, hidroxilo, alcoxi C₁₋₃ y fluoro-alcoxi C₁₋₃, y

40 dicho cicloalquilo C₃₋₆ está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de fluoro, hidroxilo, alquilo C₁₋₃, fluoro-alquilo C₁₋₃, alcoxi C₁₋₃ y fluoro alcoxi C₁₋₃;

R² y R³ se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, metoxi, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -OCHF₂, -OCF₃ y metilo;

45 R⁴ es -CO₂R⁵ o -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, o halo-alquilo C₁₋₆;

R⁶ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆, en donde dicho alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con de 1 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, -SO₃H y -CO₂H;

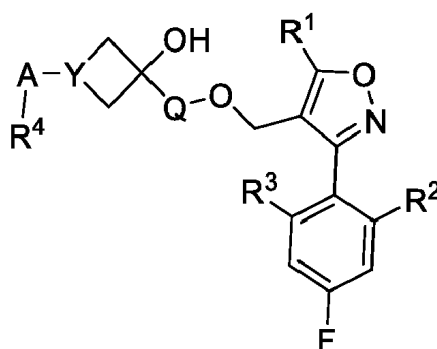
50 o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

3. Un compuesto de la cláusula 2 que tiene la estructura de Fórmula (Ia):

55

60

65



(Ia)

en donde:

Q es fenileno opcionalmente sustituido con uno o dos halógenos;

Y es N o CH;

A es piridileno opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de halógeno y alcoxi C₁₋₄;

R¹ es alquilo C₁₋₄ o cicloalquilo C₃₋₆;

R² y R³ se seleccionan independientemente de hidrógeno y halógeno;

R⁴ es -CO₂R⁵ o -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ es hidrógeno; y

R⁶ es alquilo C₁₋₂ opcionalmente sustituido con -CO₂H o -SO₃H;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

4. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 1-3, en donde Q es fenileno sustituido con un cloro; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

5. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 1-4, en donde R¹ es ciclopropilo o metilo; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

6. El compuesto de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde R² y R³ son cloro; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

7. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 1-5, en donde uno de R² y R³ es fluoro y el otro es hidrógeno; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

8. El compuesto de cualquiera de las cláusulas anteriores, en donde Y es N; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

9. El compuesto de la cláusula 8, en donde A es piridileno sustituido con un fluoro; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

10. El compuesto de la cláusula 8, en donde A es piridileno no sustituido; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

11. El compuesto de la cláusula 8 o 9, en donde R⁴ es -CO₂R⁵, y R⁵ es hidrógeno; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

12. El compuesto de la cláusula 8 o 9, en donde:

R⁴ es -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ es hidrógeno; y

R⁶ es alquilo C₁₋₂, en donde dicho alquilo C₁₋₂ está sustituido con -SO₃H o -CO₂H;

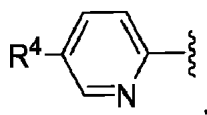
o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

13. El compuesto de cualquiera de las cláusulas 1-7, en donde Y es CH; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

5 14. El compuesto de la cláusula 13 en donde A es piridileno sustituido con un metoxi; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

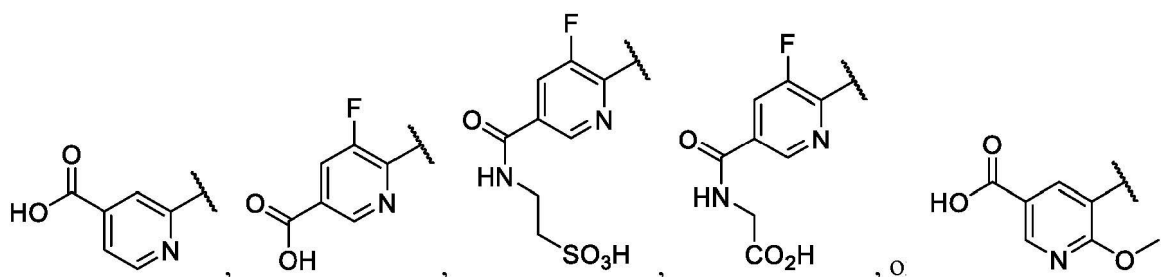
15. El compuesto de la cláusula 13 en donde R⁴ es -CO₂R⁵ y R⁵ es hidrógeno; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

10 16. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1-8, en donde R⁴-A es:



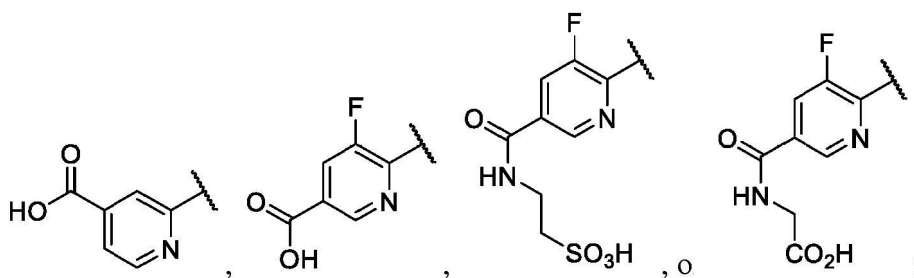
20 en donde el piridileno está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de halógeno, alcoxi C₁₋₄, halo-alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄ y halo-alquilo C₁₋₄; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

25 17. El compuesto de acuerdo con cualquiera de las cláusulas 1-7, en donde R⁴-A es:



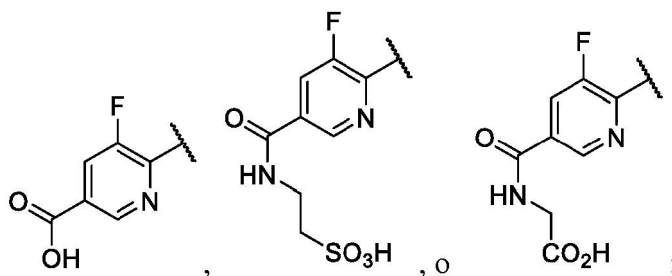
35 una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

40 18. El compuesto de la cláusula 8, en donde R⁴-A es:



50 una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

55 19. El compuesto de la cláusula 7 u 8 en donde R⁴-A es:

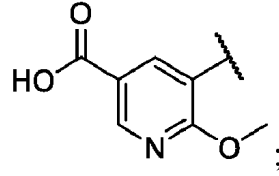


o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

5

20. El compuesto de la cláusula 13 en donde R⁴-A es

10



15

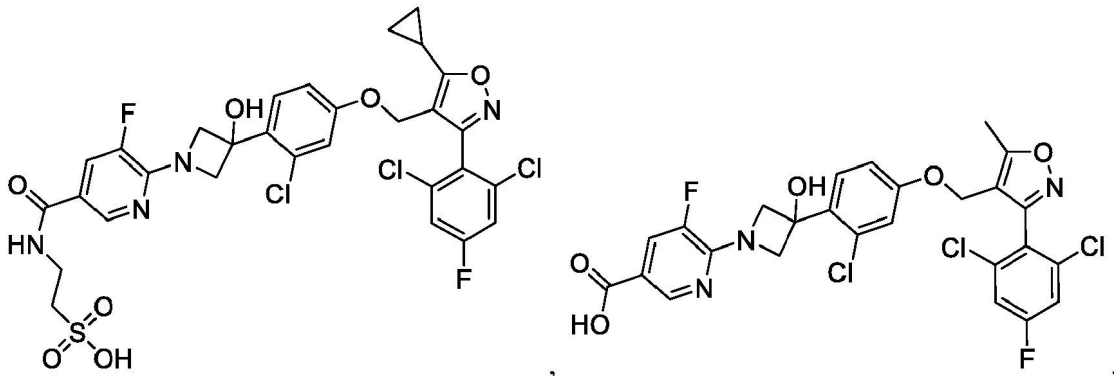
o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

21. Un compuesto seleccionado del grupo que consiste de:

20

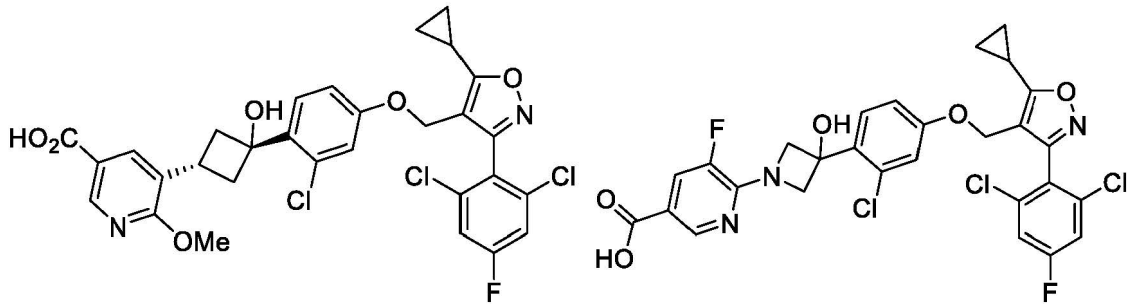
25

30



35

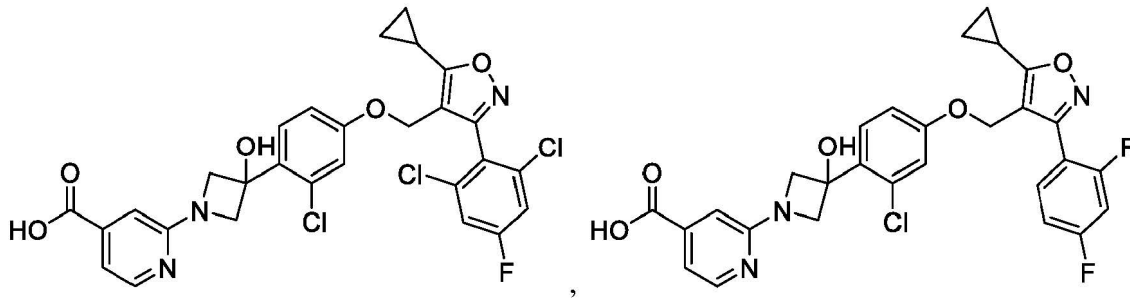
40



45

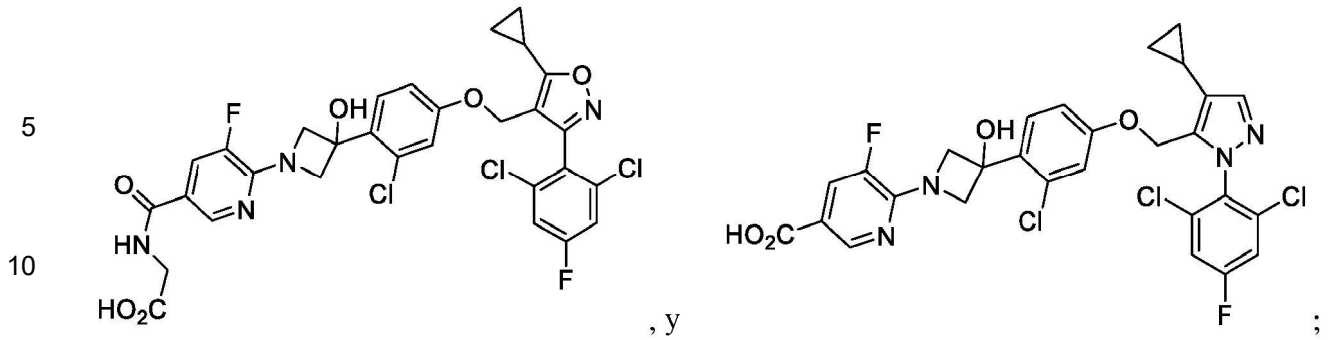
50

55



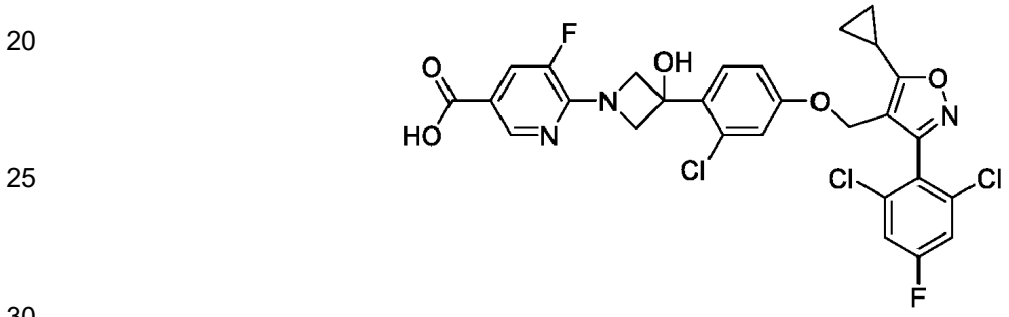
60

65



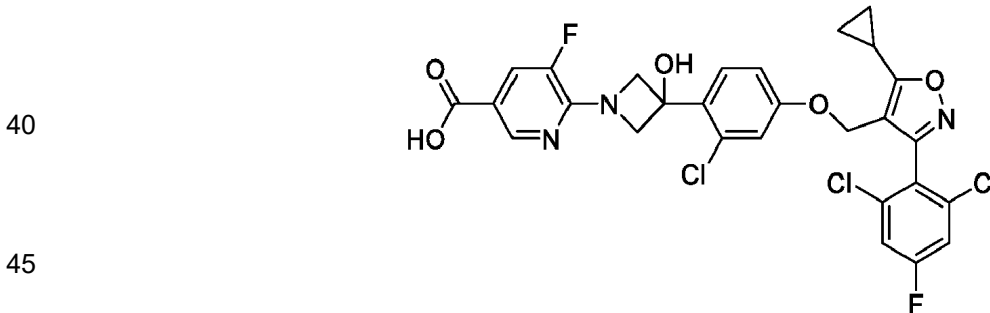
15 o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

22. Un compuesto que tiene la siguiente fórmula:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

23. Un compuesto que tiene la siguiente fórmula:



24. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de las cláusulas 1-23 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

25. Un método para tratar a un paciente que tiene una afección mediada por FXR que comprende administrar un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de cualquiera de las cláusulas 1-23 o una composición farmacéutica de la cláusula 24 a un paciente con necesidad de ello.

26. El método de la cláusula 25, en donde la afección mediada por FXR se selecciona del grupo que consiste de:

- una afección colestática intrahepática crónica o alguna forma extrahepática;
- fibrosis hepática;
- un trastorno inflamatorio obstructivo del hígado;
- trastorno inflamatorio crónico del hígado;
- cirrosis hepática;
- esteatosis hepática o un síndrome asociado;
- efectos colestáticos o fibróticos asociados con cirrosis inducida por alcohol o con formas de hepatitis transmitidas por virus;
- insuficiencia hepática o isquemia hepática después de una resección hepática mayor;

esteatohepatitis asociada a quimioterapia (CASH);
 insuficiencia hepática aguda; y
 enfermedad inflamatoria intestinal.

5 27. El método de la cláusula 25, en donde la afección mediada por FXR se selecciona del grupo que consiste de:

un trastorno de lípidos y lipoproteínas;
 diabetes tipo I;
 diabetes tipo II;
 10 complicaciones clínicas de diabetes tipo I y tipo II seleccionadas del grupo que consiste de nefropatía diabética, neuropatía diabética, retinopatía diabética y otros efectos observados de diabetes clínicamente manifiesta a largo plazo;
 enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD);
 15 esteatohepatitis no alcohólica (NASH);
 obesidad;
 un síndrome metabólico seleccionado del grupo que consiste de afecciones combinadas de dislipidemia, diabetes e índice de masa corporal anormalmente alto;
 infarto agudo de miocardio;
 20 ataque cerebral agudo; y
 trombosis que se produce como punto final de la aterosclerosis obstructiva crónica.

28. El método de la cláusula 25, en donde la afección mediada por FXR se selecciona del grupo que consiste de:

un trastorno hiperproliferativo no maligno; y
 25 un trastorno hiperproliferativo maligno seleccionado del grupo que consiste de carcinoma hepatocelular, adenoma de colon y poliposis;
 adenocarcinoma de colon;
 cáncer de mama;
 adenocarcinoma de páncreas;
 30 esófago de Barrett; y
 otras formas de enfermedades neoplásicas del tracto gastrointestinal y el hígado.

29. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de cualquiera de las cláusulas 1-23 para su uso en el tratamiento de una afección mediada por FXR.

30. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de la cláusula 29, en donde la afección mediada por FXR es esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

31. El uso de un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable del mismo de cualquiera de las cláusulas 1-23 para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección mediada por FXR.

32. El uso de la cláusula 31, en donde la afección mediada por FXR es esteatohepatitis no alcohólica (NASH).

LISTADO DE SECUENCIAS

45 <110> Gilead Sciences, Inc.
 <120> COMPUESTOS DE MODULACIÓN DE FXR (NR1H4)
 50 <130> 1165.PC
 <150> 62/349,490
 <151> 2016-06-13
 55 <160> 1
 <170> PatentIn versión 3.5
 <210> 1
 60 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Secuencia Artificial
 <220>
 65 <223> Sintético

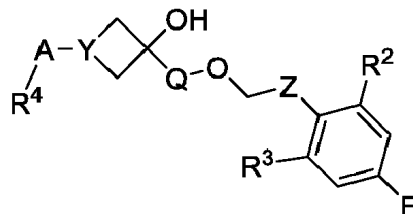
ES 2 916 469 T3

<400> 1

5	Cys	Pro	Ser	Ser	His	Ser	Ser	Leu	Thr	Glu	Arg	His	Lys	Ile	Leu	His
	1			5						10					15	
10	Arg	Leu	Leu	Gln	Glu	Gly	Ser	Pro	Ser							
			20						25							

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I):



(I)

en donde:

Q es fenileno o piridileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, metilo, alcoxi C₁₋₄, halo-alcoxi C₁₋₄, -CH₂F, -CHF₂, y -CF₃;
Y es N o CH;

A es piridileno o fenileno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos grupos seleccionados independientemente de halógeno, alcoxi C₁₋₄, halo-alcoxi C₁₋₄, alquilo C₁₋₄ y halo-alquilo C₁₋₄;

Z es isoxazol sustituido con R¹ o pirazol sustituido con R¹;

R¹ es alquilo C₁₋₄ o cicloalquilo C₃₋₆, en donde

dicho alquilo C₁₋₄ está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de fluoro, hidroxilo, alcoxi C₁₋₃ y fluoro-alcoxi C₁₋₃, y

dicho cicloalquilo C₃₋₆ está opcionalmente sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de fluoro, hidroxilo, alquilo C₁₋₃, fluoro-alquilo C₁₋₃, alcoxi C₁₋₃ y fluoro-alcoxi C₁₋₃;

R² y R³ se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, metoxi, -CF₃, -CHF₂, -CH₂F, -OCH₂F, -OCHF₂, -OCF₃ y metilo;

R⁴ es -CO₂R⁵ o -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, o halo-alquilo C₁₋₆; y

R⁶ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆, en donde dicho alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con de 1 a 6 sustituyentes seleccionados independientemente de halógeno, -SO₃H y -CO₂H;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde uno de R² y R³ es fluoro y el otro es hidrógeno; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, en donde Y es N; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, en donde A es piridileno sustituido con un fluoro; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3, en donde A es piridileno no sustituido; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

6. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, en donde R⁴ es -CO₂R⁵, y R⁵ es hidrógeno; o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3 o 4, en donde:

R⁴ es -C(O)NR⁵R⁶;

R⁵ es hidrógeno; y

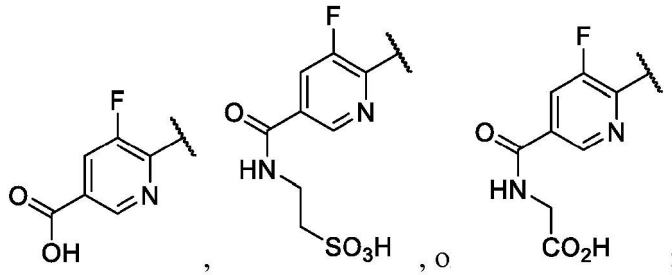
R⁶ es alquilo C₁₋₂, en donde dicho alquilo C₁₋₂ está sustituido con -SO₃H o -CO₂H;

o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

8. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 o la reivindicación 3, en donde R⁴-A es:

5

10



15

o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

9. Un compuesto seleccionado del grupo que consiste de:

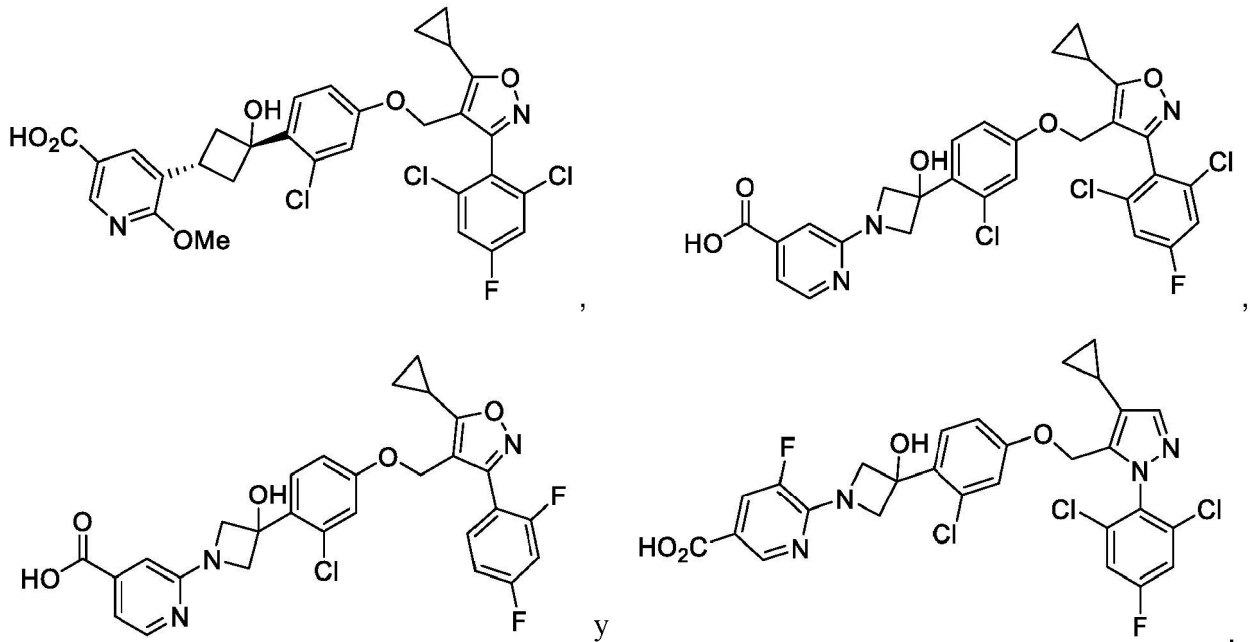
20

25

30

35

40



45

o una sal farmacéuticamente aceptable, un estereoisómero, una mezcla de estereoisómeros o un tautómero del mismo.

10. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

50

11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

55

12. Un compuesto o sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-10 o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 11 para su uso en el tratamiento de una afección mediada por FXR.

13. Un compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable o una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la afección mediada por FXR se selecciona del grupo que consiste de:

60

- una afección colestática intrahepática crónica o alguna forma extrahepática;
- fibrosis hepática;
- un trastorno inflamatorio obstructivo del hígado;
- trastorno inflamatorio crónico del hígado;
- cirrosis hepática;
- esteatosis hepática o un síndrome asociado;

65

- 5 efectos colestásicos o fibróticos asociados con cirrosis inducida por alcohol o con formas de hepatitis transmitidas por virus;
 insuficiencia hepática o isquemia hepática después de una resección hepática mayor;
 esteatohepatitis asociada a quimioterapia (CASH);
 insuficiencia hepática aguda; y
 enfermedad inflamatoria intestinal.
- 10 14. Un compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable o una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la afección mediada por FXR se selecciona del grupo que consiste de:
- 15 un trastorno de lípidos y lipoproteínas;
 diabetes tipo I;
 diabetes tipo II;
 complicaciones clínicas de diabetes tipo I y tipo II seleccionadas del grupo que consiste de nefropatía diabética,
 neuropatía diabética, retinopatía diabética y otros efectos observados de diabetes clínicamente manifiesta a largo
 plazo;
 enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD);
 esteatohepatitis no alcohólica (NASH);
 obesidad;
- 20 un síndrome metabólico seleccionado del grupo que consiste de afecciones combinadas de dislipidemia, diabetes e índice de masa corporal anormalmente alto;
 infarto agudo de miocardio;
 ataque cerebral agudo; y
 trombosis que se produce como punto final de la aterosclerosis obstructiva crónica.
- 25 15. Un compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable o una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la afección mediada por FXR se selecciona del grupo que consiste de:
- 30 un trastorno hiperproliferativo no maligno; y
 un trastorno hiperproliferativo maligno seleccionado del grupo que consiste de carcinoma hepatocelular, adenoma de colon y poliposis;
 adenocarcinoma de colon;
 cáncer de mama;
 adenocarcinoma de páncreas;
- 35 esófago de Barrett; y otras formas de enfermedades neoplásicas del tracto gastrointestinal y el hígado.
- 40 16. Un compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable o una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la afección mediada por FXR es esteatohepatitis no alcohólica (NASH).
17. Un compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable o una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la afección mediada por FXR es cirrosis biliar primaria (PBC).
- 45 18. Un compuesto, una sal farmacéuticamente aceptable o una composición farmacéutica para su uso de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la afección mediada por FXR es colangitis esclerosante primaria (PSC).

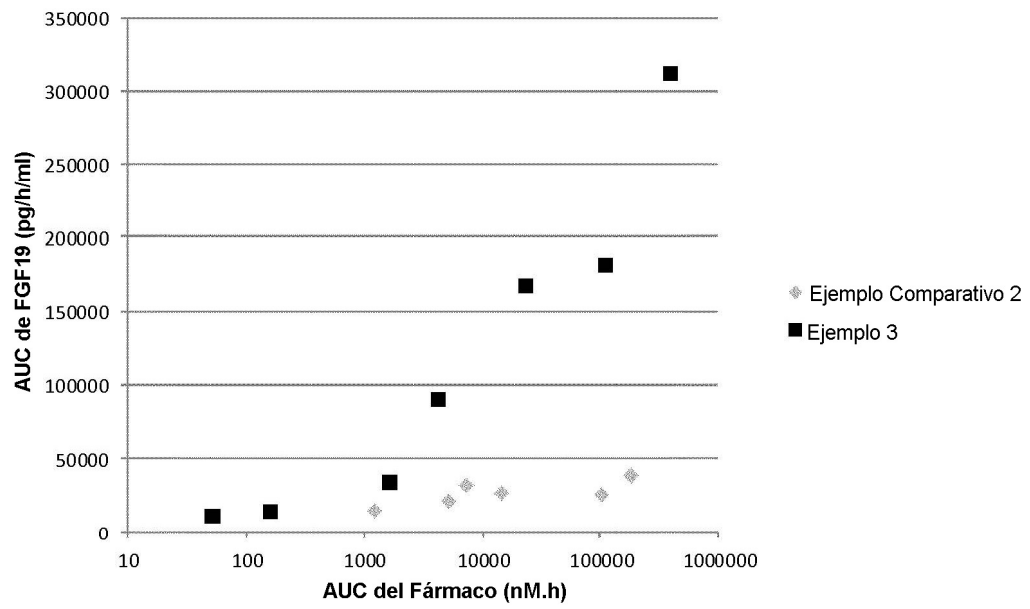
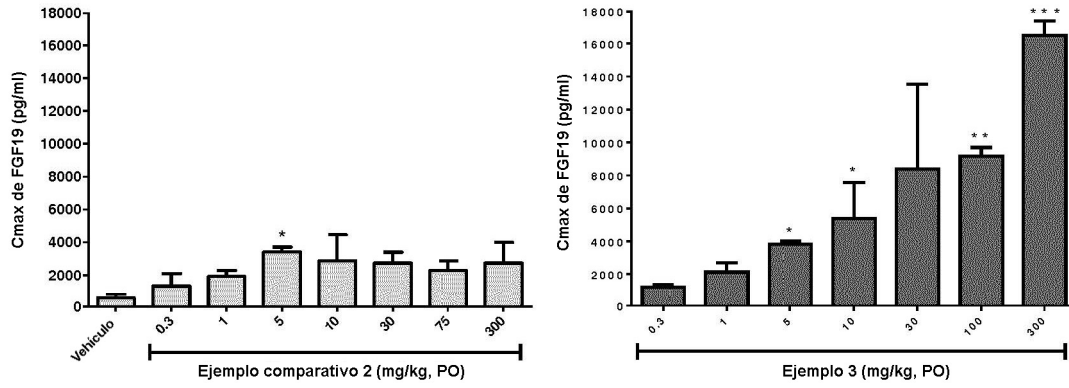


FIG. 1



*p < 0.05 vs. 1 mg/kg; ** p < 0.05 vs 5 mg/kg; *** p < 0.05 vs. 100 mg/kg; un caso aparte del grupo de 10 mg/kg del Ejemplo 3 debido a >3 SD de la media.

FIG. 2