

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS  
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 874 682**

(51) Int. Cl.:

<b>C07J 11/00</b>	(2006.01)	<b>A61P 35/00</b>	(2006.01)
<b>A61K 31/575</b>	(2006.01)	<b>A61P 43/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 1/16</b>	(2006.01)	<b>C07J 9/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 1/00</b>	(2006.01)	<b>C07J 31/00</b>	(2006.01)
<b>A61P 3/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 3/04</b>	(2006.01)		
<b>A61P 9/00</b>	(2006.01)		
<b>A61P 9/02</b>	(2006.01)		
<b>A61P 13/12</b>	(2006.01)		
<b>A61P 25/00</b>	(2006.01)		

(12)

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **07.03.2017 PCT/US2017/021194**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **14.09.2017 WO17156024**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.03.2017 E 17763922 (6)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.05.2021 EP 3426348**

---

(54) Título: **Derivados de 3-desoxi y composiciones farmacéuticas de los mismos**

(30) Prioridad:

**11.03.2016 US 201662306914 P**

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**05.11.2021**

(73) Titular/es:

**INTERCEPT PHARMACEUTICALS, INC. (100.0%)  
10 Hudson Yards, 37th Floor  
New York, NY 10001, US**

(72) Inventor/es:

**PELLICCIARI, ROBERTO y  
GIOIELLO, ANTIMO**

(74) Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**ES 2 874 682 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

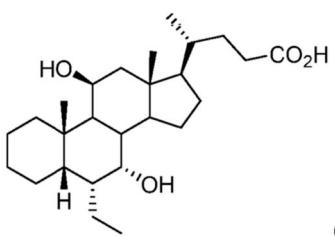
Derivados de 3-desoxi y composiciones farmacéuticas de los mismos

5 Antecedentes

- Los trastornos hepáticos se producen ampliamente en la población y son un factor de riesgo de mortalidad temprana. Por ejemplo, la enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA) es un trastorno que afecta a millones de adultos en los Estados Unidos y se refiere a condiciones en las que hay una acumulación de exceso de grasa en el hígado de las personas que beben poco o nada de alcohol. La forma más común de EHGNA es una afección no grave llamada esteatosis hepática (hígado graso), en la que la grasa se acumula en las células del hígado. La EHGNA se presenta con mayor frecuencia en personas con una constelación de factores de riesgo denominada síndrome metabólico, que se caracteriza por niveles elevados de glucosa plasmática en ayunas con o sin intolerancia a la glucosa posprandial, con sobrepeso u obesidad, niveles altos de lípidos en sangre como colesterol y triglicéridos, y niveles bajos de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad, y presión arterial alta; pero no todos los pacientes tienen todas las manifestaciones del síndrome metabólico. Se cree que la obesidad es la causa más común de EHGNA y algunos expertos estiman que alrededor de dos tercios de los adultos obesos y la mitad de los niños obesos pueden tener hígado graso.
- 10 Las personas con EHGNA pueden desarrollar una afección más grave denominada esteatohepatitis no alcohólica (EHNA). Aproximadamente entre el dos y el cinco por ciento de los estadounidenses adultos y hasta el 20% de los obesos pueden sufrir EHNA. En la EHNA, la acumulación de grasa en el hígado se asocia con inflamación y diferentes grados de cicatrización. La EHNA es una afección potencialmente grave que conlleva un riesgo sustancial de progresión a enfermedad hepática terminal, cirrosis y carcinoma hepatocelular. Algunos pacientes que desarrollan cirrosis corren riesgo de insuficiencia hepática y eventualmente pueden requerir un trasplante de hígado. La EHNA es una causa principal de enfermedad hepática en etapa terminal, mientras que la EHGNA, y en un grado aún mayor, la EHNA están íntimamente relacionadas con estados del síndrome metabólico, incluida la resistencia a la insulina, la diabetes mellitus tipo 2 y la obesidad abdominal.
- 15 20 Actualmente no existen fármacos aprobados para prevenir o tratar la EHGNA o la EHNA. Se han probado varias intervenciones farmacológicas, pero con un beneficio general limitado. Los agentes antioxidantes pueden detener la peroxidación lipídica y los agentes citoprotectores estabilizan las membranas fosfolípídicas, pero los agentes ensayados sin éxito o con un beneficio modesto hasta ahora incluyen el ácido ursodesoxicólico, vitaminas E y C y pentoxifilina, entre otros. Los agentes para bajar de peso como Orlistat no han mostrado un beneficio significativo en comparación con el uso de dieta y ejercicio para lograr la pérdida de peso por sí solos. La mayoría de los estudios de pérdida de peso en EHGNA/EHNA han sido estudios piloto de corta duración y éxito limitado, que informaron solo una mejora modesta en la necroinflamación o fibrosis. Además, un nuevo fármaco en investigación encuentra una variedad de obstáculos que pueden impedir su desarrollo posterior. Dichos obstáculos pueden incluir una distribución tisular deficiente, un perfil farmacocinético inadecuado, problemas de seguridad tales como toxicidad y/o interacciones fármaco-fármaco indeseables. A pesar de los esfuerzos en curso, sigue existiendo una importante necesidad clínica insatisfecha de un compuesto eficaz y bien tolerado que pueda tratar o ralentizar la progresión de la EHGNA y la EHNA.
- 25 30 35 40 El documento WO-A-2014/184271 describe el ácido 3-alfa-7-alfa-11-beta-trihidroxi-6-alfa-etilcolánico como un agonista de FXR.
- 45 50 La presente invención aborda estas necesidades. Por lo tanto, el objeto de la presente invención es proporcionar un nuevo agente terapéutico para tratar trastornos hepáticos tales como la EHGNA y EHNA, mientras presenta propiedades fisicoquímicas, ADME (adsorción, distribución, metabolismo y excreción) *in vitro* y/o *in vivo* superiores a las de los compuestos conocidos y/o propiedades farmacocinéticas superiores *in vivo*.

Resumen

- 55 Un objetivo de la presente invención es proporcionar un compuesto que activa el receptor Farnesoide X (FXR) y, por lo tanto, es útil para tratar trastornos relacionados con el FXR, lo que incluye EHGNA y EHNA. Por consiguiente, la presente invención proporciona el Compuesto 1:



(1),

o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo.

5 La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende el Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

10 La presente invención también proporciona los compuestos anteriores para su uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad o afección activada por FXR, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad eficaz del Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos de los mismos.

15 La presente invención proporciona además composiciones, que incluyen composiciones farmacéuticas, para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o afección activada por FXR, en las que la composición comprende el Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo.

20 15 A menos que se defina lo contrario, todos los términos técnicos y científicos usados en este documento tienen el mismo significado que el comúnmente entendido por un experto en la técnica al que pertenece esta invención. Aunque se pueden usar métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o ensayo de la presente invención, a continuación se describen métodos y materiales adecuados. Los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no pretenden ser limitantes. Otras características y ventajas de la invención resultarán evidentes a partir de la siguiente descripción detallada.

#### Breve descripción de las figuras

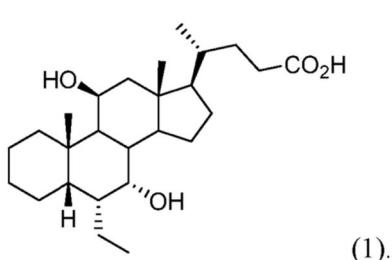
25 25 La figura 1 muestra los niveles de expresión del panel de genes diana de FXR.

#### Descripción detallada

30 30 La presente invención se basa en el descubrimiento de que el Compuesto 1 es un activador potente y selectivo del receptor Farnesoide X (FXR). El FXR es un receptor nuclear que actúa como un regulador clave de la homeostasis del colesterol, la síntesis de triglicéridos y la lipogénesis (Crawley, Expert Opinion Ther. Patents 2010, 20, 1047-1057). Este receptor se expresa en varios órganos y se ha demostrado que está involucrado en muchas enfermedades y afecciones, incluidas enfermedades hepáticas, pulmonares, renales, intestinales y cardíacas, y procesos biológicos, como el metabolismo de la glucosa, el metabolismo de la insulina y el metabolismo de los lípidos.

35 35 Definiciones

Como se usa en este documento, "Compuesto 1" o "un compuesto de la invención" se refiere al ácido 7 $\alpha$ , 11 $\beta$ -dihidroxi-6 $\alpha$ -etil-5 $\beta$ -olan-24-oico que tiene la siguiente estructura química:



40

La invención también comprende el Compuesto 1 marcado isotópicamente, o sales farmacéuticamente aceptables o conjugados de aminoácidos del mismo, que son idénticos a los enumerados en la estructura anterior, pero por el hecho de que uno o más átomos son reemplazados por un átomo que tiene una masa atómica o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa más comúnmente encontrado en la naturaleza. Los ejemplos de isotópos que pueden incorporarse al compuesto de la invención o sales farmacéuticamente aceptables o conjugados de aminoácidos del mismo incluyen isotópos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, flúor, tales como  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$  y  $^{18}\text{F}$ .

45 50 Los isotópos tritiados, es decir,  $^3\text{H}$ , y de carbono 14, es decir,  $^{14}\text{C}$ , pueden usarse por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isotópos más pesados como el deuterio, es decir,  $^2\text{H}$ , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, una vida media in vivo aumentada o requisitos de dosificación reducidos y, por lo tanto, puede usarse en algunas circunstancias. Los compuestos marcados isotópicamente o sus sales farmacéuticamente aceptables o conjugados de aminoácidos de los mismos pueden prepararse generalmente llevando a cabo los procedimientos descritos en el Esquema y/o en los Ejemplos, sustituyendo un reactivo no marcado isotópicamente por un reactivo no marcado isotópicamente fácilmente disponible. Sin embargo, un experto en la técnica reconocerá que no todos los isotópos pueden incluirse mediante la sustitución del reactivo no marcado isotópicamente. En una realización, el Compuesto 1 o sus sales o conjugados de

aminoácidos farmacéuticamente aceptables no están marcados isotópicamente. En una realización, el Compuesto 1 deuterado o sus sales o conjugados de aminoácidos farmacéuticamente aceptables son útiles para ensayos bioanalíticos. En otra realización, el Compuesto 1 o sus sales o conjugados de aminoácidos farmacéuticamente aceptables están radiomarcados.

5 Como se usa en el presente documento, "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a derivados del Compuesto 1 en los que el compuesto original se modifica formando una sal de la porción de ácido carboxílico. Los ejemplos de sales farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, cationes tales como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{NH}_4^+$  que son ejemplos de cationes presentes en sales farmacéuticamente aceptables. Las bases inorgánicas adecuadas incluyen hidróxido de calcio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio e hidróxido de sodio. Las sales también se pueden preparar usando bases orgánicas, tales como sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas de origen natural y aminas cíclicas que incluyen isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2-dimetilaminoetanol, trometamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaina, hidrabamina, colina, betaína, etilendiamina, glucosamina, N-alquilglucaminas, teobromina, purinas, piperazina, piperidina, N-etilpiperidina y similares.

10 La frase "vehículo farmacéuticamente aceptable" está reconocida en la técnica e incluye, por ejemplo, materiales, composiciones o vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como un relleno, diluyente, excipiente, disolvente o material encapsulante líquidos o sólidos, implicados en llevar o transportar cualquier composición objeto de un órgano 15 o parte del cuerpo, a otro órgano o parte del cuerpo. Cada vehículo es "aceptable" en el sentido de ser compatible con los demás ingredientes de una composición en cuestión y no ser perjudicial para el paciente. En determinadas formas de realización, un vehículo farmacéuticamente aceptable no es pirogénico. Algunos ejemplos de materiales que 20 pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen: azúcares, como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximeticcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, como manteca de 25 cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de girasol, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, como propileneglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes 30 tamponadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones tampón fosfato; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en las formulaciones farmacéuticas.

35 Una "composición" o "composición farmacéutica" es una formulación que contiene un compuesto de la invención o una sal o conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la composición farmacéutica está a granel o en forma de dosificación unitaria. La forma de dosificación unitaria es cualquiera de una variedad de formas, lo que incluye por ejemplo, una cápsula, bolsa intravenosa, comprimido, un inhalador de bombeo único o en aerosol, o un vial. La cantidad de ingrediente activo (por ejemplo, una formulación de un compuesto de la invención o sus sales) en una dosis unitaria de la composición es una cantidad eficaz y varía según el tratamiento particular involucrado. Un experto 40 en la técnica apreciará que puede ser necesario realizar variaciones rutinarias de la dosis dependiendo de la edad y el estado del paciente. La dosis también dependerá de la vía de administración. Se contemplan diversas rutas, lo que incluye la oral, ocular, oftálmica, pulmonar, rectal, parenteral, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intranasal y similares. Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de la invención incluyen polvos, pulverizadores, ungüentos, pastas, cremas, lociones, geles, soluciones, parches e inhaladores. En otra realización, el Compuesto 1 se mezcla bajo condiciones estériles con un vehículo 45 farmacéuticamente aceptable y con cualquier conservante, tampón o propelador que se requiera.

50 El término "tratar", como se usa en el presente documento, se refiere a aliviar, disminuir, reducir, eliminar, modular o mejorar, es decir, provocar la regresión del estado de la enfermedad o trastorno.

55 El término "prevenir", como se usa en el presente documento, se refiere a detener completa o casi completamente que ocurra un estado de enfermedad o trastorno en un paciente o sujeto, especialmente cuando el paciente o sujeto está predispuesto a ello o en riesgo de contraer el estado de enfermedad o trastorno. La prevención también puede incluir inhibir, es decir, detener el desarrollo de una enfermedad o afección, y aliviar o mejorar, es decir, provocar la regresión de la enfermedad o afección, por ejemplo, cuando la enfermedad o afección ya puede estar presente.

60 La frase "reducir el riesgo de", como se usa en este documento, se refiere a disminuir la eventualidad o probabilidad de que ocurra una enfermedad del sistema nervioso central, enfermedad inflamatoria y/o enfermedad metabólica en un paciente, especialmente cuando el sujeto está predispuesto a tal ocurrencia.

65 "Terapia de combinación" (o "coterapia") se refiere a la administración de un compuesto de la invención y al menos un segundo agente como parte de un régimen de tratamiento específico destinado a proporcionar el efecto beneficioso de la acción conjunta de estos agentes terapéuticos (es decir, el compuesto de la invención y al menos un segundo agente). El efecto beneficioso de la combinación incluye, pero no se limita a, la acción conjunta farmacocinética o farmacodinámica resultante de la combinación de agentes terapéuticos. La administración de estos agentes terapéuticos en combinación se lleva a cabo típicamente durante un período de tiempo definido (normalmente minutos, horas, días o semanas dependiendo de la combinación seleccionada). La "terapia de combinación" puede, pero en

general no lo está, destinada a abarcar la administración de dos o más de estos agentes terapéuticos como parte de regímenes de monoterapia separados que de manera casual y arbitraria dan como resultado las combinaciones de la presente solicitud. La "terapia de combinación" pretende abarcar la administración de este agente terapéutico de una manera secuencial, es decir, en la que el agente terapéutico se administra en un momento diferente, así como la administración de este agente terapéutico, o al menos dos agentes terapéuticos, en una de manera sustancialmente simultánea. La administración sustancialmente simultánea se puede lograr, por ejemplo, administrando al sujeto una única cápsula que tenga una proporción fija de un agente terapéutico o en múltiples cápsulas individuales para cada uno de los agentes terapéuticos. La administración secuencial o sustancialmente simultánea de cada agente terapéutico puede realizarse por cualquier vía apropiada que incluye, pero no se limita a, vías orales, vías intravenosas, vías intramusculares y absorción directa a través de los tejidos de las membranas mucosas. El agente terapéutico puede administrarse por la misma vía o por vías diferentes. Por ejemplo, un primer agente terapéutico de la combinación seleccionada puede administrarse mediante inyección intravenosa mientras que los otros agentes terapéuticos de la combinación pueden administrarse por vía oral. Alternativamente, por ejemplo, todos los agentes terapéuticos pueden administrarse por vía oral o todos los agentes terapéuticos pueden administrarse mediante inyección intravenosa. La secuencia en la que se administran los agentes terapéuticos no es estrictamente crítica.

La "terapia de combinación" también abarca la administración del agente terapéutico como se describe anteriormente en combinación adicional con otros ingredientes biológicamente activos y terapias no farmacológicas (por ejemplo, cirugía o tratamientos mecánicos). Cuando la terapia de combinación comprende además un tratamiento no farmacológico, el tratamiento no farmacológico puede realizarse en cualquier momento adecuado siempre que se logre un efecto beneficioso de la acción conjunta de la combinación de los agentes terapéuticos y el tratamiento no farmacológico. Por ejemplo, en casos apropiados, el efecto beneficioso aún se logra cuando el tratamiento no farmacológico se retira temporalmente de la administración de los agentes terapéuticos, quizás en días o incluso semanas.

Una "cantidad eficaz" de un compuesto de la invención es una cantidad (cuantía o concentración) del compuesto para producir el efecto farmacológico deseado. En una realización, cuando se va a administrar una cantidad eficaz de un compuesto a un sujeto que necesita tratamiento, los síntomas que surgen de la enfermedad mejoran inmediatamente o después de una o más administraciones del compuesto. La cantidad del compuesto que se administrará a un sujeto dependerá del trastorno particular, el modo de administración, los compuestos coadministrados, si los hay, y las características del sujeto, tales como salud general, otras enfermedades, edad, sexo, genotipo, peso corporal y tolerancia a los fármacos. El experto en la materia podrá determinar las dosis apropiadas dependiendo de estos y otros factores.

El término "cantidad profilácticamente eficaz" significa una cantidad (cuantía o concentración) de un compuesto de la presente invención, o una combinación de compuestos, que se administra para prevenir o reducir el riesgo de una enfermedad; en otras palabras, una cantidad necesaria para proporcionar un efecto preventivo o profiláctico. La cantidad del presente compuesto que se administrará a un sujeto dependerá del trastorno particular, el modo de administración, los compuestos coadministrados, si los hubiera, y las características del sujeto, tales como salud general, otras enfermedades, edad, sexo, genotipo, peso corporal y tolerancia a las drogas. El experto en la materia podrá determinar las dosis apropiadas dependiendo de estos y otros factores. Un "sujeto" incluye mamíferos, por ejemplo, seres humanos, animales de compañía (por ejemplo, perros, gatos, pájaros y similares), animales de granja (por ejemplo, vacas, ovejas, cerdos, caballos y similares) y animales de laboratorio (por ejemplo, ratas, ratones, cobayas y similares). Normalmente, el sujeto es un ser humano.

#### Composiciones farmacéuticas

Una "composición farmacéutica" es una formulación que contiene un compuesto de la invención en una forma adecuada para la administración a un sujeto. En una realización, la composición farmacéutica está a granel o en forma de dosificación unitaria. Puede ser ventajoso formular composiciones en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación. La forma de dosificación unitaria como se usa en este documento se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para el sujeto a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de reactivo activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. La especificación de las formas unitarias de dosificación está dictada y depende directamente de las características únicas del reactivo activo y el efecto terapéutico particular a lograr, y las limitaciones inherentes en la técnica de la composición de dicho agente activo para el tratamiento de individuos.

Las posibles formulaciones incluyen las adecuadas para la administración oral, sublingual, bucal, parenteral (por ejemplo, subcutánea, intramuscular o intravenosa), rectal, tópica, incluida la transdérmica, intranasal y por inhalación. Los medios de administración más adecuados para un paciente en particular dependerán de la naturaleza y gravedad de la enfermedad que se esté tratando o la naturaleza de la terapia que se use y de la naturaleza del compuesto activo, pero cuando sea posible, la administración oral puede usarse para la prevención, y tratamiento de enfermedades y afecciones activadas por FXR. Las formulaciones adecuadas para la administración oral se pueden proporcionar como unidades discretas, tales como comprimidos, cápsulas, sellos, pastillas, cada una de las cuales contiene una cantidad predeterminada del compuesto activo; como polvos o gránulos; como soluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; o como emulsiones de aceite en agua o agua en aceite. Las

formulaciones adecuadas para administración sublingual o bucal incluyen pastillas que comprenden el compuesto activo y, típicamente una base aromatizada, como azúcar y goma arábiga o tragacanto y pastillas que comprenden el compuesto activo en una base inerte, como gelatina y glicerina o sacarosa acacia.

5 Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral comprenden típicamente soluciones acuosas estériles que contienen una concentración predeterminada del compuesto activo; la solución puede ser isotónica con la sangre del receptor previsto. Las formulaciones adicionales adecuadas para la administración parenteral incluyen formulaciones que contienen codisolvientes fisiológicamente adecuados y/o agentes complejantes tales como tensioactivos y ciclodextrinas. Las emulsiones de aceite en agua también son formulaciones adecuadas para formulaciones parenterales. Aunque tales soluciones se pueden administrar por vía intravenosa, también se pueden administrar mediante inyección subcutánea o intramuscular.

10 Las formulaciones adecuadas para la administración rectal se pueden proporcionar como supositorios de dosis unitaria que comprenden el ingrediente activo en uno o más vehículos sólidos que forman la base del supositorio, por ejemplo, manteca de cacao.

15 Las formulaciones adecuadas para aplicación tópica o intranasal incluyen pomadas, cremas, lociones, pastas, geles, pulverizadores, aerosoles y aceites. Los vehículos adecuados para tales formulaciones incluyen vaselina, lanolina, polietilenglicoles, alcoholes y combinaciones de los mismos.

20 Las formulaciones de la invención se pueden preparar mediante cualquier método adecuado, típicamente mezclando uniforme e íntimamente el compuesto activo con líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos, en las proporciones requeridas y luego, si es necesario, dando forma a la mezcla resultante en la forma deseada.

25 Por ejemplo, se puede preparar un comprimido comprimiendo una mezcla íntima que comprende un polvo o gránulos del ingrediente activo y uno o más ingredientes opcionales, tales como un aglutinante, lubricante, diluyente inerte o agente dispersante tensioactivo, o moldear una mezcla íntima de ingrediente activo en polvo y diluyente líquido inerte. Las formulaciones adecuadas para la administración por inhalación incluyen polvos o nieblas de partículas finas que se pueden generar por medio de varios tipos de aerosoles, nebulizadores o insufladores presurizados de dosis medida.

30 Para la administración pulmonar a través de la boca, el tamaño de partícula del polvo o las gotitas está típicamente en el intervalo de 0,5 a 10 µm, o puede ser de aproximadamente 1 a 5 µm, para asegurar el suministro al árbol bronquial. Para la administración nasal, se puede usar un tamaño de partícula en el rango de 10-500 µm para asegurar la retención en la cavidad nasal.

35 Los inhaladores de dosis medidas son dispensadores de aerosol presurizados, que contienen típicamente una formulación en suspensión o solución del ingrediente activo en un propelador licuado. Durante el uso, estos dispositivos descargan la formulación a través de una válvula adaptada para suministrar un volumen medido, típicamente de 10 a 150 µm, para producir una pulverización de partículas finas que contiene el ingrediente activo. Los propulsores adecuados incluyen ciertos compuestos clorofluorocarbonados, por ejemplo, diclorodifluorometano, triclorofluorometano, diclorotetrafluoroetano y mezclas de los mismos. La formulación puede contener adicionalmente uno o más codisolvientes, por ejemplo, tensioactivos de etanol, tales como ácido oleico o trioleato de sorbitán, antioxidantes y agentes aromatizantes adecuados.

45 Los nebulizadores son dispositivos disponibles comercialmente que transforman soluciones o suspensiones del ingrediente activo en una neblina de aerosol terapéutica por medio de la aceleración de un gas comprimido típicamente aire u oxígeno, a través de un estrecho orificio, o por medio de agitación ultrasónica. Las formulaciones adecuadas para su uso en nebulizadores consisten en el ingrediente activo en un vehículo líquido y comprenden hasta el 40% p/p de la formulación, preferiblemente menos del 20% p/p. El vehículo es típicamente agua o una solución alcohólica acuosa diluida, que preferiblemente se vuelve isotónica con fluidos corporales mediante la adición de, por ejemplo, cloruro de sodio. Los aditivos opcionales incluyen conservantes si la formulación no se prepara estéril, por ejemplo, hidroxibenzoato de metilo, antioxidantes, agentes aromatizantes, aceites volátiles, agentes tamponantes y tensioactivos.

55 Las formulaciones adecuadas para la administración por insuflación incluyen polvos finamente triturados que pueden administrarse por medio de un insuflador o introducirse en la cavidad nasal a modo de rapé. En el insuflador, el polvo está contenido en cápsulas o cartuchos, típicamente hechos de gelatina o plástico, que se perforan o abren in situ y el polvo se extrae mediante aire extraído a través del dispositivo al inhalarlo o mediante una bomba accionada manualmente. El polvo empleado en el insuflador consiste únicamente en el ingrediente activo o en una mezcla de polvos que comprende el ingrediente activo, un diluyente de polvo adecuado, tal como lactosa, y un tensioactivo opcional. El ingrediente activo comprende típicamente de 0,1 a 100% p/p de la formulación.

60 En una realización adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende, como ingrediente activo, un compuesto de la invención junto y/o mezclado con al menos un vehículo o diluyente farmacéutico. Estas composiciones farmacéuticas se pueden usar en la prevención o el tratamiento de las enfermedades o afecciones anteriores.

El vehículo es farmacéuticamente aceptable y debe ser compatible con, es decir, no tener un efecto perjudicial sobre los otros ingredientes de la composición. El vehículo puede ser sólido o líquido y se formula preferiblemente como una formulación de dosis unitaria, por ejemplo, un comprimido que puede contener de 0,05 a 95% en peso del ingrediente activo. Si se desea, también se pueden incorporar otros ingredientes fisiológicamente activos en las composiciones farmacéuticas de la invención.

Además de los ingredientes específicamente mencionados anteriormente, las formulaciones de la presente invención pueden incluir otros agentes conocidos por los expertos en la técnica farmacéutica, teniendo en cuenta el tipo de formulación en cuestión. Por ejemplo, las formulaciones adecuadas para la administración oral pueden incluir agentes aromatizantes y las formulaciones adecuadas para la administración intranasal pueden incluir perfumes.

Compuestos de la invención para su uso en métodos de tratamiento.

El compuesto de la invención es útil para la terapia en sujetos tales como mamíferos, incluidos humanos. En particular, el compuesto de la invención es útil en un método para tratar o prevenir una enfermedad o afección en un sujeto que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o un conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, el compuesto de la invención se usa en el tratamiento de una enfermedad o afección activada por la activación de FXR (por ejemplo, FXR juega un papel en el inicio o el progreso de la enfermedad o afección). En una realización, la enfermedad o afección se selecciona entre enfermedad cardiovascular, enfermedad hepática crónica, trastorno de lípidos, enfermedad gastrointestinal, enfermedad renal, enfermedad metabólica, cáncer y enfermedad neurológica.

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad cardiovascular en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o un conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento de enfermedades cardiovasculares. En una realización, la enfermedad cardiovascular se selecciona entre aterosclerosis, arteriosclerosis, dislipidemia, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, hiperlipoproteinemia e hipertrigliceridemia.

El término "hiperlipidemia" se refiere a la presencia de un nivel anormalmente elevado de lípidos en la sangre. La hiperlipidemia puede aparecer en al menos tres formas: hipercolesterolemia, es decir, un nivel de colesterol elevado; hipertrigliceridemia, es decir, un nivel elevado de triglicéridos; e hiperlipidemia combinada, es decir, una combinación de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia.

El término "dislipidemia" se refiere a niveles anormales de lipoproteínas en el plasma sanguíneo que incluyen niveles tanto deprimidos como elevados de lipoproteínas (por ejemplo, niveles elevados de LDL, VLDL y niveles deprimidos de HDL).

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método seleccionado entre reducir los niveles de colesterol o modular el metabolismo del colesterol, el catabolismo, la absorción del colesterol de la dieta y el transporte inverso del colesterol en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo.

En otra realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad que afecta los niveles de colesterol, triglicéridos o ácidos biliares en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo.

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método para reducir los triglicéridos en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo.

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad asociada con un nivel elevado de colesterol en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento de un estado de enfermedad asociado con un nivel elevado de colesterol en un sujeto. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método para prevenir una enfermedad asociada con un nivel elevado de colesterol en un sujeto. En una realización, el estado de enfermedad se selecciona entre enfermedad de las arterias coronarias, angina de pecho, enfermedad de las arterias carótidas, accidentes cerebrovasculares, arteriosclerosis cerebral y xantoma.

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento

o prevención de un trastorno de lípidos en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de Compuesto 1 o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento de un trastorno lipídico. En una realización, la invención se refiere a un método para prevenir un trastorno de lípidos.

5 Los trastornos de los lípidos son el término para las anomalías del colesterol y los triglicéridos. Las anomalías de los lípidos están asociadas con un mayor riesgo de enfermedad vascular, y especialmente ataques cardíacos y accidentes cerebrovasculares. Las anomalías en los trastornos de los lípidos son una combinación de predisposición genética y la naturaleza de la ingesta dietética. Muchos trastornos de los lípidos están asociados con el sobrepeso. Los trastornos de los lípidos también pueden estar asociados con otras enfermedades, incluida la diabetes, el síndrome metabólico (a veces llamado síndrome de resistencia a la insulina), tiroides hipoactiva o el resultado de ciertos medicamentos (como los que se usan para los regímenes antirrechazo en personas que han tenido trasplantes).

10 En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de uno o más síntomas de enfermedades que afectan el metabolismo de los lípidos (es decir, lipodistrofia) en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesite del mismo, una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento de uno o más síntomas de una enfermedad que afecta al metabolismo de los lípidos. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método para prevenir uno o más síntomas de una enfermedad que afecta al metabolismo de los lípidos.

15 En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método para disminuir la acumulación de lípidos en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo.

20 En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de la enfermedad hepática crónica en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o un conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento de la enfermedad hepática crónica. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de prevención de la enfermedad hepática crónica. En una realización, la enfermedad hepática crónica se selecciona de cirrosis biliar primaria (CBP) (también conocida como colangitis biliar primaria (CBP)), xantomatosis cerebrotendinosa (CTX), colangitis esclerosante primaria (CEP), 25 colestasis inducida por fármacos, colestasis intrahepática del embarazo, colestasis asociada a nutrición parenteral (CANP), sobrecrecimiento bacteriano o colestasis asociada a sepsis, hepatitis autoinmune, hepatitis viral crónica, enfermedad hepática alcohólica, enfermedad del hígado graso no alcohólica (EHGNA), esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), enfermedad de injerto contra huésped asociada a trasplante de hígado, regeneración hepática de trasplante de donante vivo, fibrosis hepática congénita, coledocolitiasis, enfermedad hepática granulomatosa, neoplasia maligna 30 intra o extrahepática, síndrome de Sjogren, sarcoidosis, enfermedad de Wilson, enfermedad de Gaucher, hemocromatosis y deficiencia de alfa1-antitripsina.

35 En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de uno o más síntomas de colestasis, incluidas las complicaciones de la colestasis en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesite una cantidad de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento de uno o más síntomas de colestasis. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en la prevención de uno o más 40 síntomas de colestasis.

45 50 La colestasis es causada típicamente por factores dentro del hígado (intrahepático) o fuera del hígado (extrahepático) y conduce a la acumulación de sales biliares, pigmento biliar bilirrubina y lípidos en el torrente sanguíneo en lugar de ser eliminados normalmente. La colestasis intrahepática se caracteriza por un bloqueo generalizado de los conductos pequeños o por trastornos, como la hepatitis, que afectan la capacidad del cuerpo para eliminar la bilis. La colestasis intrahepática también puede ser causada por enfermedad hepática alcohólica, cirrosis biliar primaria, cáncer que se disseminó (hizo metástasis) desde otra parte del cuerpo, colangitis esclerosante primaria, cálculos biliares, cólico biliar y colecistitis aguda. También puede ocurrir como una complicación de la cirugía, lesión grave, fibrosis quística, infección o alimentación intravenosa o ser inducida por fármacos. La colestasis también puede ocurrir como una complicación del embarazo y a menudo se desarrolla durante el segundo y tercer trimestre. La colestasis extrahepática es causada con mayor frecuencia por coledocolitiasis (cálculos del conducto biliar), estenosis biliares benignas (estrechamiento no canceroso del conducto común), colangiocarcinoma (carcinoma ductal) y carcinoma pancreático. La colestasis extrahepática puede ocurrir como efecto secundario de muchos medicamentos.

55 60 Un compuesto de la invención puede usarse para tratar o prevenir uno o más síntomas de colestasis intrahepática o extrahepática, que incluyen, sin limitación, atresia biliar, colestasis obstétrica, colestasis neonatal, colestasis inducida por fármacos, colestasis que surge de la infección por hepatitis C, enfermedad hepática crónica colestásica como

cirrosis biliar primaria (CBP) y colangitis esclerosante primaria (CEP).

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método para mejorar la regeneración hepática en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, el método mejora la regeneración del hígado para el trasplante de hígado.

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de la fibrosis en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento de la fibrosis. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método para prevenir la fibrosis.

Por consiguiente, tal como se usa en este documento, el término fibrosis se refiere a todos los trastornos fibróticos reconocidos, incluida la fibrosis debida a afecciones o enfermedades patológicas, fibrosis debida a traumatismo físico ("fibrosis traumática"), fibrosis debida a daño por radiación y fibrosis debida a exposición a quimioterápicos. Como se usa en este documento, el término "fibrosis de órganos" incluye, pero no se limita a, fibrosis del hígado, fibrosis de los riñones, fibrosis del pulmón y fibrosis del intestino. "Fibrosis traumática" incluye, pero no se limita a, fibrosis secundaria a cirugía (cicatrización quirúrgica), trauma físico accidental, quemaduras y cicatrización hipertrófica.

Tal como se usa en el presente documento, "fibrosis hepática" incluye fibrosis hepática debida a cualquier causa, que incluye pero no se limita a fibrosis hepática inducida por virus, como la debida al virus de la hepatitis B o C; exposición al alcohol (enfermedad hepática alcohólica), ciertos compuestos farmacéuticos que incluyen, entre otros, metotrexato, algunos agentes quimioterapéuticos e ingestión crónica de arsenicales o vitamina A en megadosis, estrés oxidativo, radioterapia contra el cáncer o ciertos productos químicos industriales que incluyen, entre otros, el tetracloruro de carbono y dimetilnitrosamina; y enfermedades tales como cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, hígado graso, obesidad, esteatohepatitis no alcohólica, fibrosis quística, hemocromatosis, hepatitis autoinmune y esteatohepatitis. La terapia actual en la fibrosis hepática se dirige principalmente a eliminar el agente causal, por ejemplo, eliminar el exceso de hierro (por ejemplo, en el caso de hemocromatosis), disminuir la carga viral (por ejemplo, en el caso de hepatitis viral crónica) o eliminar o disminuir la exposición a toxinas (por ejemplo, en el caso de enfermedad hepática alcohólica). Los medicamentos antiinflamatorios como los corticosteroides y la colchicina también son conocidos por su uso en el tratamiento de la inflamación que puede provocar fibrosis hepática. Como se conoce en la técnica, la fibrosis hepática puede clasificarse clínicamente en cinco etapas de gravedad (S0, S1, S2, S3 y S4), normalmente basándose en el examen histológico de una muestra de biopsia. S0 indica que no hay fibrosis, mientras que S4 indica cirrosis. Si bien existen varios criterios para estadificar la gravedad de la fibrosis hepática, en general las primeras etapas de la fibrosis se identifican por áreas de cicatrización discretas y localizadas en un portal (zona) del hígado, mientras que las etapas posteriores de la fibrosis se identifican por fibrosis en puente (cicatrización que cruza zonas del hígado).

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método para tratar o prevenir la fibrosis de órganos en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la fibrosis es fibrosis hepática.

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad gastrointestinal en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o un conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento de enfermedades gastrointestinales. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de prevención de enfermedades gastrointestinales. En una realización, la enfermedad gastrointestinal se selecciona entre enfermedad inflamatoria del intestino (EII), síndrome del intestino irritable (SII), sobrecrecimiento bacteriano, malabsorción, colitis posradiación y colitis microscópica. En una realización, la enfermedad inflamatoria del intestino se selecciona de la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa.

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de la enfermedad renal en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o un conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento de la enfermedad renal. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de prevención de la enfermedad renal. En una realización, la enfermedad renal se selecciona de nefropatía diabética, glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS), nefroesclerosis hipertensiva, glomerulonefritis crónica, glomerulopatía crónica por trasplante, nefritis intersticial crónica y enfermedad renal poliquística.

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad metabólica en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una

- cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o un conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento de la enfermedad renal. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de prevención de la enfermedad renal. En una realización, la enfermedad metabólica se selecciona de resistencia a la insulina, hiperglucemia, diabetes mellitus, diabesidad y obesidad. En una realización, la diabetes mellitus es diabetes de tipo I. En una realización, la diabetes mellitus es diabetes de tipo II.
- La diabetes mellitus, comúnmente llamada diabetes, se refiere a una enfermedad o afección que generalmente se caracteriza por defectos metabólicos en la producción y utilización de glucosa que dan como resultado la imposibilidad de mantener niveles adecuados de azúcar en sangre en el cuerpo.
- En el caso de la diabetes de tipo II, la enfermedad se caracteriza por la resistencia a la insulina, en la que la insulina pierde su capacidad para ejercer sus efectos biológicos en una amplia gama de concentraciones. Esta resistencia a la respuesta a la insulina da como resultado una activación insuficiente de la captación, oxidación y almacenamiento de glucosa en el músculo y una represión inadecuada de la lipólisis en el tejido adiposo y de la producción y secreción de glucosa en el hígado. La condición resultante es un nivel elevado de glucosa en sangre, que se denomina "hiperglucemia". La hiperglucemia incontrolada se asocia con un aumento y una mortalidad prematura debido a un mayor riesgo de enfermedades microvasculares y macrovasculares, incluida la retinopatía (el deterioro o la pérdida de la visión debido al daño de los vasos sanguíneos en los ojos); neuropatía (daño a los nervios y problemas en los pies debido al daño de los vasos sanguíneos del sistema nervioso); y nefropatía (enfermedad renal debido a daño de los vasos sanguíneos en los riñones), hipertensión, enfermedad cerebrovascular y enfermedad coronaria. Por lo tanto, el control de la homeostasis de la glucosa es un enfoque de importancia crítica para el tratamiento de la diabetes.
- Se ha planteado la hipótesis de que la resistencia a la insulina unifica la agrupación de hipertensión, intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, niveles aumentados de triglicéridos y colesterol HDL reducido, y obesidad central y general. Se ha observado la asociación de la resistencia a la insulina con la intolerancia a la glucosa, un aumento de los triglicéridos plasmáticos y una disminución de las concentraciones de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad, hipertensión, hiperuricemia, partículas de lipoproteínas de baja densidad más pequeñas y densas y niveles circulantes más altos del inhibidor 1 del activador del plasminógeno referido como "Síndrome X". En consecuencia, se proporcionan los compuestos para su uso en métodos de tratamiento o prevención de cualquier trastorno relacionado con la resistencia a la insulina, incluido el grupo de estados de enfermedad, afecciones o trastornos que componen el "Síndrome X". En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención del síndrome metabólico en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento del síndrome metabólico. En otra realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de prevención del síndrome metabólico.
- En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención del cáncer en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento del cáncer. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de prevención del cáncer. En una realización, el cáncer se selecciona de carcinoma hepatocelular, cáncer colorrectal, cáncer gástrico, cáncer renal, cáncer de próstata, cáncer suprarrenal, cáncer de páncreas, cáncer de mama, cáncer de vejiga, cáncer de glándulas salivales, cáncer de ovario, cáncer de cuerpo uterino y cáncer de pulmón. En una realización, el cáncer es carcinoma hepatocelular. En una realización, el cáncer es cáncer colorrectal. En una realización, el cáncer es cáncer gástrico. En una realización, el cáncer es cáncer renal. En una realización, el cáncer es cáncer de próstata. En una realización, el cáncer es cáncer suprarrenal. En una realización, el cáncer es cáncer de páncreas. En una realización, el cáncer es cáncer de mama. En una realización, el cáncer es cáncer de vejiga. En una realización, el cáncer es cáncer de glándulas salivales. En una realización, el cáncer es cáncer de ovario. En una realización, el cáncer es cáncer de cuerpo uterino. En una realización, el cáncer es cáncer de pulmón.
- En otra realización, al menos uno de un agente seleccionado entre Sorafenib, Sunitinib, Erlotinib o Imatinib es para la coadministración con el compuesto de la invención para tratar el cáncer. En una realización, al menos uno de un agente seleccionado entre abarelix, aldeleucina, allopurinol, altretamina, amifostina, anastrozol, bevacizumab, capecitabina, carboplatino, cisplatino, docetaxel, doxorubicina, erlotinib, exemestano, 5-fluorouracilina, acetato de trantosa, irinotecán, ditosilato de lapatinib, letozol, leucovorina, levamisol, oxaliplatin, paclitaxel, panitumumab, pemetrexed disódico, profimer sódico, tamoxifeno, topotecán y trastuzumab es para la coadministración con el compuesto de la invención para tratar el cáncer.
- El tratamiento apropiado para los cánceres depende del tipo de célula de la que deriva el tumor, el estadio y la gravedad de la malignidad y la anomalía genética que contribuye al tumor.
- Los sistemas de estadificación del cáncer describen el grado de progresión del cáncer. En general, los sistemas de estadificación describen qué tan lejos se ha diseminado el tumor y ubican a los pacientes con pronóstico y tratamiento

similares en el mismo grupo de estadificación. En general, existen peores pronósticos para los tumores que se han vuelto invasivos o han hecho metástasis.

5 En un tipo de sistema de estadificación, los casos se agrupan en cuatro etapas, indicadas por los números romanos I a IV. En el estadio I, los cánceres a menudo se localizan y generalmente son curables. Los cánceres en estadio II y IIIA suelen estar más avanzados y pueden haber invadido los tejidos circundantes y se han diseminado a los ganglios linfáticos. Los cánceres en estadio IV incluyen cánceres metastásicos que se han diseminado a sitios fuera de los ganglios linfáticos.

10 Otro sistema de estadificación es la estadificación TNM que representa las categorías: tumor, nódulos linfáticos y metástasis. En este sistema, las neoplasias malignas se describen de acuerdo con la gravedad de las categorías individuales. Por ejemplo, T clasifica la extensión de un tumor primario de 0 a 4, donde 0 representa una neoplasia maligna que no tiene actividad invasiva y 4 representa una neoplasia maligna que ha invadido otros órganos por extensión desde el sitio original. N clasifica el grado de afectación de los ganglios linfáticos donde 0 representa una neoplasia maligna sin afectación de los ganglios linfáticos y 4 representa una neoplasia con afectación extensa de los ganglios linfáticos. M clasifica la extensión de la metástasis de 0 a 1, donde 0 representa una neoplasia maligna sin metástasis y 1 representa una neoplasia maligna con metástasis.

15 Estos sistemas de estadificación o variaciones de estos sistemas de estadificación u otros sistemas de estadificación adecuados pueden usarse para describir un tumor como el carcinoma hepatocelular. Hay pocas opciones disponibles para el tratamiento del cáncer hepatocelular según la etapa y las características del cáncer. Los tratamientos incluyen cirugía, tratamiento con sorafenib y terapias dirigidas. En general, la cirugía es la primera línea de tratamiento para el cáncer hepatocelular localizado en estadio temprano. Se pueden usar tratamientos sistémicos adicionales para tratar tumores invasivos y metastásicos.

20 25 En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de cálculos biliares en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento de cálculos biliares. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de prevención de cálculos biliares.

30 35 Un cálculo biliar es una concreción cristalina formada dentro de la vesícula biliar por acumulación de componentes biliares. Estos cálculos se forman en la vesícula biliar, pero pueden pasar distalmente a otras partes del tracto biliar, como el conducto cístico, el conducto biliar común, el conducto pancreático o la ampolla de Vater. En raras ocasiones, en casos de inflamación grave, los cálculos biliares pueden erosionarse a través de la vesícula biliar hacia el intestino adherente y causar potencialmente una obstrucción denominada ileo por cálculos biliares. La presencia de cálculos biliares en la vesícula biliar puede conducir a colecistitis aguda, una condición inflamatoria caracterizada por retención de bilis en la vesícula biliar y a menudo infección secundaria por microorganismos intestinales, predominantemente *Escherichia coli* y especies de *Bacteroides*.

40 45 50 La presencia de cálculos biliares en otras partes del tracto biliar puede causar la obstrucción de los conductos biliares, lo que puede conducir a afecciones graves como colangitis ascendente o pancreatitis. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de la enfermedad de cálculos biliares por colesterol en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método para tratar la enfermedad de cálculos biliares por colesterol. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método para prevenir la enfermedad de cálculos biliares por colesterol.

55 60 65 En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento o prevención de una enfermedad neurológica en un sujeto, que comprende administrar al sujeto que lo necesita una cantidad eficaz de un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o un conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de tratamiento de enfermedades neurológicas. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de prevención de enfermedades neurológicas. En una realización, la enfermedad neurológica es un accidente cerebrovascular.

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método como se describe en el presente documento y además, en el que el compuesto se administra por una vía seleccionada entre oral, parenteral, intramuscular, intranasal, sublingual, intratraqueal, inhalación, ocular, vaginal, rectal e intracerebroventricular. En una forma de realización, la vía es oral.

65 En una realización, el compuesto para usar en uno o más de los métodos descritos en el presente documento es un agonista de FXR. En una realización, el compuesto es un agonista selectivo de FXR. En otra realización, el compuesto no activa TGR5. En una realización, el compuesto no activa otros receptores nucleares implicados en rutas

metabólicas (por ejemplo, medido por un ensayo AlphaScreen). En una realización, dichos otros receptores nucleares implicados en las rutas metabólicas se seleccionan entre LXR $\beta$ , PXR, CAR, PPAR $\alpha$ , PPAR $\delta$ , PPAR $\gamma$ , RAR, RAR $\alpha$ , VDR, TR, PR, RXR, GR y ER. En una realización, el compuesto induce la apoptosis.

- 5 En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método para regular el nivel de expresión de uno o más genes implicados en la homeostasis de los ácidos biliares.

En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de regulación negativa del nivel de expresión de uno o más genes seleccionados de CYP7 $\alpha$ 1 y SREBP-IC en una célula mediante la administración a la célula de un compuesto de la invención. En una realización, la invención se refiere a los compuestos de la invención para su uso en un método de regulación positiva del nivel de expresión de uno o más genes seleccionados entre OST $\alpha$ , OST $\beta$ , BSEP, SHP, UGT2B4, MRP2, FGF-19, PPAR $\gamma$ , PLTP, APOCII y PEPCK en una célula administrando a la célula un compuesto de la invención.

- 15 La invención también se refiere a una composición para su uso en un método para tratar o prevenir una enfermedad o afección (por ejemplo, una enfermedad o afección activada por FXR), en la que la composición comprende un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable o un conjugado de aminoácidos del mismo. En una realización, la invención se refiere a una composición para su uso en un método para tratar o prevenir cualquiera de las enfermedades o afecciones descritas en el presente documento anteriormente, en el que la composición comprende un compuesto de la invención o una sal o conjugado de aminoácidos farmacéuticamente aceptable del mismo.

25 Los métodos descritos anteriormente comprenden la etapa de administrar una cantidad eficaz de un compuesto de la invención. Como se usa en el presente documento, el término "cantidad eficaz" se refiere a una cantidad de un compuesto de la invención que es suficiente para lograr el efecto indicado. Por consiguiente, una cantidad eficaz de un compuesto de la invención para usar en un método para la prevención o el tratamiento de enfermedades o afecciones activadas por FXR será una cantidad suficiente para prevenir o tratar la enfermedad o afección activada por FXR.

- 30 De manera similar, una cantidad eficaz de un compuesto de la invención para usar en un método para la prevención o el tratamiento de una enfermedad hepática colestásica o para aumentar el flujo de bilis será una cantidad suficiente para aumentar el flujo de bilis al intestino.

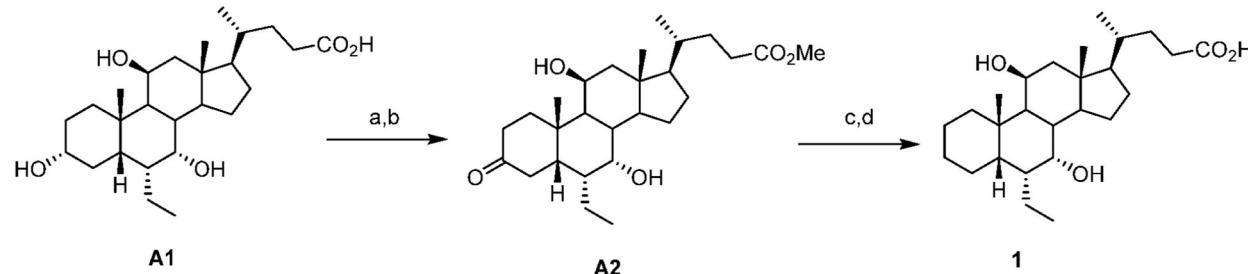
35 La cantidad del compuesto de la invención que se requiere para lograr el efecto biológico deseado dependerá de una serie de factores tales como el uso para el que está destinado, los medios de administración y el receptor, y en última instancia será a discreción del médico o veterinario que lo atiende. En general, se puede esperar que una dosis diaria típica para el tratamiento de una enfermedad y afección activada por FXR, por ejemplo, se encuentre en el intervalo de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 100 mg/kg. Esta dosis puede administrarse como una dosis unitaria única o como varias dosis unitarias separadas o como una infusión continua. Serían aplicables dosificaciones similares para el tratamiento de otras enfermedades, afecciones y terapias que incluyen la prevención y el tratamiento de enfermedades hepáticas colestásicas.

#### Sección experimental

- 45 Ejemplo 1. Síntesis del compuesto 1

El compuesto 1 se preparó de acuerdo con los procedimientos descritos en el Esquema 1 y a partir del ácido 7 $\alpha$ , 11 $\beta$ -dihidroxi-6 $\alpha$ -etil-5 $\beta$ -olan-24-oico (A1) como material de partida. A1 se preparó mediante métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, A1 puede prepararse mediante los procedimientos descritos en la publicación PCT nº WO 50 2014/184271.

Esquema 1



55 Reactivos y condiciones: a) MeOH, p-TSA; b) Reactivo de Fetizon, tolueno seco, refluxo; c) NaOH, MeOH; d) KOH, NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> $\cdot$ H<sub>2</sub>O, etilenglicol, refluxo.

7 $\alpha$ , 11 $\beta$ -dihidroxi-6 $\alpha$ -etil-3-oxo-5 $\beta$ -olan-24-oate de metilo (A2):

Se hizo reaccionar durante la noche una solución de A1 (0,46 mmol) y p-TSA (0,046 mmol) en MeOH (5 ml). El disolvente se eliminó a presión reducida, el residuo se disolvió en acetato de etilo (10 ml) y se lavó con una solución saturada de NaHCO<sub>3</sub> hasta pH neutro. La fase acuosa se extrajo con EtOAc y las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron al vacío. El material bruto se disolvió en tolueno (6,5 ml) y se calentó a reflujo con reactivo de Fetizon durante 18 h. La mezcla se filtró sobre un filtro de Celite, el filtrado se concentró al vacío y se usó para el siguiente paso sin más purificaciones. RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  0,87-0,95 (9H, m, CH<sub>3</sub>-18, CH<sub>3</sub>-21, CH<sub>3</sub>-26), 1,23 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 3,0 (1H, t, J = 14,2 Hz, CH-4), 3,65 (3H, s, COOCH<sub>3</sub>), 3,87 (1H, s, CH-7), 4,32 (1H, s, CH-11).

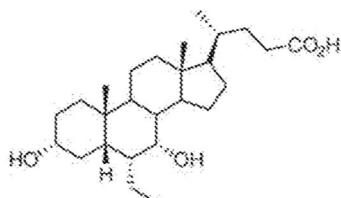
Ácido 7 $\alpha$ , 11 $\beta$ -dihidroxi-6 $\alpha$ -etil-5 $\beta$ -olan-24-oico (1):

Se agitó 7 $\alpha$ , 11 $\beta$ -dihidroxi-6 $\alpha$ -etil-3-oxo-5 $\beta$ -olan-24-oato de metilo (A2) (150 mg) con una solución metanólica de NaOH durante la noche. El disolvente se evaporó a presión reducida y el residuo se disolvió en agua y se lavó con Et<sub>2</sub>O. La fase acuosa se acidificó con HCl 3 N hasta pH 1, se extrajo con CHCl<sub>3</sub> y las capas orgánicas recogidas se lavaron con H<sub>2</sub>O y salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó mediante chromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice usando una mezcla de éter de petróleo y acetato de etilo como sistema disolvente de elución. Una suspensión de ácido 7 $\alpha$ , 11 $\beta$ -dihidroxi-6 $\alpha$ -etil-3-oxo-5 $\beta$ -olan-24-oico (0,21 mmol) en etilenglicol (2 ml) se calentó a reflujo durante 30 h con KOH (0,518 mmol) y NH<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O (2,07 mmol). La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con H<sub>2</sub>O y se lavó con Et<sub>2</sub>O (3 x 5 ml). Después de la acidificación con HCl 3 N hasta pH 1, la fase acuosa se extrajo con EtOAc y las capas orgánicas recogidas se lavaron con H<sub>2</sub>O, salmuera, se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidro y se concentraron a presión reducida. El material bruto se purificó mediante chromatografía ultrarrápida C18 de fase inversa usando H<sub>2</sub>OMeOH como sistema disolvente de elución obteniendo así ácido 7 $\alpha$ , 11 $\beta$ -dihidroxi-6 $\alpha$ -etil-5 $\beta$ -olan-24-oico (1) como un sólido blanco. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD):  $\delta$  0,87-0,92 (6H, m, CH<sub>3</sub>-18, CH<sub>3</sub>-25), 1,00 (3H, d, J = 6,4 Hz, CH<sub>3</sub>-21), 1,14 (3H, s, CH<sub>3</sub>-19), 3,73 (1H, s, CH-7), 4,19 (1H, s, CH-11). <sup>13</sup>C-RMN (100,6 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 12,1, 14,7, 19,0, 23,2, 23,5, 24,7, 25,5, 28,6, 29,0, 29,1, 34,1, 36,3, 37,5, 37,8, 38,3, 38,5, 38,8, 42,8 (x2), 50,1, 51,5, 52,3, 58,1, 69,3, 71,8, 183,6.

Farmacología y datos biológicos

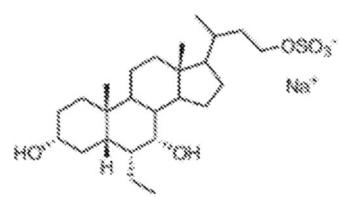
En general, la perspectiva de un compuesto como candidato a fármaco puede evaluarse usando varios ensayos conocidos en la técnica. Por ejemplo, para la validación *in vitro* de FXR, su actividad y selectividad pueden evaluarse usando AlphaScreen (ensayo bioquímico); la expresión génica se puede evaluar usando RT-PCR (gen diana de FXR); y la citotoxicidad (por ejemplo, HepG2) se puede evaluar usando contenido de ATP, liberación de LDH y activación de caspasa-3. Para la validación *in vitro* de TGR5, su actividad y selectividad se pueden evaluar usando HTR-FRET (ensayo basado en células); la expresión génica se puede evaluar usando RT-PCR (gen diana TGR5 (es decir, cFOS)); y la citotoxicidad (por ejemplo, HepG2) se puede evaluar usando contenido de ATP, liberación de LDH y activación de caspasa-3. Los siguientes compuestos se usaron como controles en los ejemplos siguientes.

Como se usa en este documento, el Compuesto A es



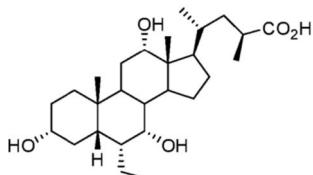
que también se conoce como ácido obeticólico, INT-747, 6-ECDCA, ácido 6-alfa-etilquenodesoxicólico o ácido 6 $\alpha$ -etil-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ -dihidroxi-5 $\beta$ -olan-24-oico.

Como se usa en este documento, el Compuesto B es



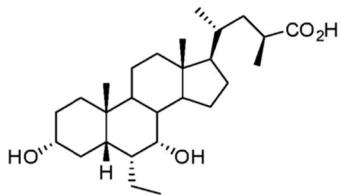
que también se conoce como INT-767 o sal sódica de 6 $\alpha$ -etil-3 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 23-trihidroxi-24-nor-5 $\beta$ -olan-23-sulfato.

Como se usa en este documento, el Compuesto C es



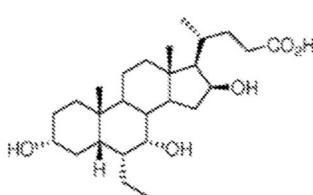
5 que también se conoce como INT-777 o ácido 6α-etyl-23(S)-metil-3α,7α,12α trihidroxi-5β-colan-24-oico.

Como se usa en el presente documento, el Compuesto D es

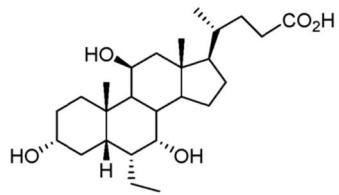


10 que también se conoce como ácido 6α-etyl-23(R)-metilquenodesoxicólico y S-EMCDCA.

Como se usa en este documento, el Compuesto E es



Como se usa en este documento, el Compuesto F es



20 que también se conoce como ácido 3α,7α,11β-dihidroxi-6α-etyl-5β-colan-24-oico.

#### Ejemplo 2. Actividad FXR/TGR5

25 En el núcleo, los receptores nucleares unidos a ligandos (NR) modulan el inicio de la transcripción interactuando directamente con la maquinaria transcripcional basal o contactando factores puente llamados coactivadores (Onate, et al., Science, 1995, 270, 1354-1357; Wang y col., J Biol Chem, 1998, 273, 30847-30850; y Zhu y col., Gene Expr, 1996, 6, 185-195). La interacción dependiente del ligando de los NR con sus coactivadores se produce entre la función 30 de activación 2 (AF-2), ubicada en el dominio de unión al ligando del receptor (LBD) y las cajas del receptor nuclear (caja NR), ubicadas en los coactivadores (Nolte, et al., Nature, 1998, 395, 137-143). Varias líneas de evidencia han demostrado que la secuencia del péptido LXXLL presente en la caja NR representa un motivo distintivo que facilita la interacción de diferentes proteínas con la región AF-2 (Heery, et al., Nature, 1997, 387, 733-736; y Torchia et al., Nature, 1997, 387, 677-684).

35 Se utilizó AlphaScreen con el objetivo de identificar moduladores novedosos aprovechando la interacción bimolecular predominante entre FXR y el motivo LXXLL presente en la caja NR del coactivador 1 del receptor de esteroides (SRC-1).

40 Se incubó FXR-LBD-GST humano con concentraciones crecientes de los ligandos indicados en presencia de péptido LXXLL SRC-1 biotinilado. La señal AlphaScreen aumenta cuando se forma el complejo receptor-coactivador. El compuesto de esta invención es un potente agonista de FXR. Los datos se proporcionan en la Tabla 1.

Los ácidos biliares (AB) modulan no solo varios receptores de hormonas nucleares, sino que también son agonistas del receptor acoplado a proteínas G (GPCR) TGR5 (Makishima, et al., Science, 1999, 284, 1362-1365; Parks, et al., Science, 1999, 284, 1365-1368; Maruyama, et al., Biochem Biophys Res Commun, 2002, 298, 714-719; y Kawamata, et al., J Biol Chem, 2003, 278, 9435-9440). La señalización a través de FXR y TGR5 modula varias vías metabólicas, regulando no solo la síntesis de AB y la recirculación enterohepática, sino también la homeostasis de triglicéridos, colesterol, glucosa y energía. Para evaluar la capacidad del Compuesto 1 para activar TGR5, este compuesto y otros compuestos de comparación se cribaron en busca de un aumento de cAMP intracelular como una lectura para la activación de TGR5. Se expusieron células enteroendocrinas humanas NCI-H716 que expresan constitutivamente TGR5 a concentraciones crecientes de un compuesto de la invención, y se midieron los niveles de AMPc intracelular mediante TR-FRET. Se utilizó ácido litocólico (ALC) como control positivo. El compuesto de esta invención muestra una alta selectividad para FXR sobre TGR5. Los datos se proporcionan en la Tabla 1.

Tabla 1. Actividad FXR/TGR5

Compuesto	Ensayo AlphaScreen FXR humano	HTR-FRET (cAMP) TGR5 humano (células NCI-H716)
	Ref, CDCA = 15±3 µM	Ref, ALC = 7±3 µM
Compuesto 1	0,14±0,04	> 200
Compuesto A	0,2±0,018	15±5
Compuesto B	0,03	0,63
Compuesto C	175	0,9
Compuesto F	0,15±0,05	> 200

Tabla 2. Actividad de especies cruzadas del compuesto 1 FXR

hFXR	mFXR	rFXR	dFXR
CE <sub>50</sub> (µM)	CE <sub>50</sub> (µM)	CE <sub>50</sub> (µM)	CE <sub>50</sub> (µM)
0,14±0,04	0,6±0,02	0,49±0,01	1,65±0,05

Tabla 3. Actividad de especies cruzadas del compuesto 1 TGR5

hTGR5	mTGR5	rTGR5	dTGR5
CE <sub>50</sub> (µM)	CE <sub>50</sub> (µM)	CE <sub>50</sub> (µM)	CE <sub>50</sub> (µM)
> 200	> 200	> 200	> 200

## Ejemplo 3. Perfil de selectividad de receptor nuclear

Usando el ensayo AlphaScreen, se puede evaluar la selectividad del Compuesto 1 contra los siguientes receptores nucleares involucrados en las rutas metabólicas: LXR $\alpha$ , LXR $\beta$ , PXR, CAR, PPAR $\alpha$ , PPAR $\delta$ , PPAR $\gamma$ , RAR, RAR $\alpha$ , VDR, TR, PR, RXR $\alpha$ , GR y ER.

Tabla 4a. Perfil de receptor nuclear (modo agonista)

	LXR $\alpha$ CE <sub>50</sub> (µM)	CAR CE <sub>50</sub> (µM)	LXR $\beta$ CE <sub>50</sub> (µM)	PPAR $\alpha$ CE <sub>50</sub> (µM)	PPAR $\delta$ CE <sub>50</sub> (µM)	PPAR $\gamma$ CE <sub>50</sub> (µM)	PXR CE <sub>50</sub> (µM)
Compuesto de referencia	TO91317 0,12	CITCO 0,005	TO91317 0,06	GW7647 0,003	GW0742 0,004	GW1929 0,012	SR-12183 0,06
Compuesto 1	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300

Tabla 4b. Perfil de receptor nuclear (modo agonista)

	RAR CE <sub>50</sub> (µM)	RXR $\alpha$ CE <sub>50</sub> (µM)	VDR CE <sub>50</sub> (µM)	ER CE <sub>50</sub> (µM)	GR CE <sub>50</sub> (µM)	PR CE <sub>50</sub> (µM)	TR CE <sub>50</sub> (µM)
Compuesto de referencia	ATRA 0,001	9cisRA 0,004	Dihidroxi VitD3 0,0001	Estradiol 0,001	Budenósido 0,002	Progesterona 0,050	T3 0,0001
Compuesto 1	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300	> 300

## Ejemplo 4. Panel de genes diana de FXR

Para evaluar la capacidad del Compuesto 1 para modular los genes diana de FXR, se realizan ensayos cuantitativos de RT-PCR (ver Figura 1). Las células HepG2 se seleccionan como una línea celular relevante para determinar si un compuesto de la invención puede regular la red genética endógena de FXR. La capacidad de un compuesto de la invención para inducir genes diana de FXR se evalúa aislando el ARN total de las células tratadas durante la noche con 1 µM de compuestos comparativos y un compuesto de la invención. El compuesto A se establece como un potente agonista selectivo de FXR y el compuesto B se establece como un potente agonista de FXR/TGR5 doble.

El FXR regula la expresión de varios genes diana implicados en la homeostasis de los AB. Brevemente, FXR juega un papel central en varias vías metabólicas, que incluyen, por ejemplo, el metabolismo de los lípidos, el metabolismo

de los ácidos biliares y el metabolismo de los carbohidratos. Con respecto al perfil de expresión génica, los genes que codifican proteínas implicadas en el metabolismo de lípidos incluyen, por ejemplo, APOCII, APOE, APOAI, SREBP-1C, VLDL-R, PLTP y LPL; los genes que codifican proteínas implicadas en el metabolismo de los ácidos biliares incluyen, por ejemplo, OSTα/β, BSEP, MRP2, SHP, CYP7A1, FGF19, SULT2A1 y UGT2B4; y los genes que codifican proteínas implicadas en el metabolismo de carbohidratos incluyen, por ejemplo, PGC 1-alfa, PEPCK y GLUT2.

#### Ejemplo 5. Citotoxicidad in vitro

Para evaluar la citotoxicidad in vitro del Compuesto 1, se emplean dos métodos de ensayo diferentes. Los ensayos evalúan la viabilidad celular midiendo los niveles de ATP y la citotoxicidad midiendo la liberación de LDH. El nucleótido de trifosfato de adenosina (ATP) representa la fuente de energía a nivel molecular básico, ya que es una molécula multifuncional que se utiliza en cada célula como coenzima y es una parte integral del ADN mitocondrial (Kangas, et al., Medical Biology , 1984, 62, 338-343; Crouch, et al., J Immunol. Methods, 1993, 160, 81-88; y Petty, et al., J Biolumin. Chemilumin. 1995, 10, 29-34). Se le ha llamado la "unidad molecular de moneda" cuando se trata de la transferencia de energía intracelular. Esto es para asegurar el papel importante del ATP en el metabolismo y una caída en el contenido de ATP es el primer paso para revelar el daño celular (Storer, et al., Mutation Research, 1996, 368, 59-101; y Cree y Andreotti, Toxicology In Vitro, 1997, 11, 553-556). La viabilidad celular se determina como una medida de ATP intracelular relacionada con el tiempo de exposición y concentración de los compuestos de prueba (Sussman, Promega Cell Notes, Edición 3, 2002).

Otro método para determinar la viabilidad de las células es detectar la integridad de la membrana que define la compartimentación celular. La medición de la fuga de componentes fuera del citoplasma, en las membranas celulares dañadas, indica la pérdida de la integridad de la membrana, y la liberación de LDH es el método utilizado para determinar la toxicidad común en las células. Las células HepG2 se tratan con un compuesto de la invención y se realizan diluciones en serie. Se añaden diluciones de ALC a las células en placa como controles del ensayo junto con células sin células y sin tratar. El ensayo se realiza por triplicado para cada concentración de compuesto de prueba.

Tabla 5. Citotoxicidad in vitro del compuesto 1

LDH CE <sub>50</sub> (μM) Ref Tamoxifen CE <sub>50</sub> (μM) 35±4 μM > 300	Contenido de ATP CE <sub>50</sub> (μM) Ref Tamoxifen CE <sub>50</sub> (μM) 49±9 μM > 300
---	--

#### Ejemplo 6. Cribado CYP450

Para evaluar el potencial del Compuesto 1 para interacciones fármaco-fármaco, se investigan las seis isoformas principales de CYP450 (CYP1A2, CYP2C9, CYT2C19, CYP2D6, CYT2E1, CYP3A4) (Obach, et al., J Pharmacol. Exp. Ther, 2006, 316, 336-348).

Para determinar la interacción entre el Compuesto 1 y las enzimas del citocromo P450, se analiza el compuesto de la invención por su capacidad para inhibir (o no) la producción de una señal fluorescente, utilizando proteínas CYP450 recombinantes (baculosomas; Invitrogen), sustratos e inhibidores (Bidstrup et al., Br J Clin. Pharmacol, 2003, 56, 305-14). Como control positivo, se prueba un inhibidor selectivo para cada isoforma CYP450 en la misma placa.

Tabla 6. Selección de CYP450

CYP450	Compuesto 1 CI <sub>50</sub> (μM)
CYP1A2 Referencia: Furafilina = 0,5 μM	> 10
CYP3A4 (sustrato verde) Referencia: Ketoconazol = 0,044 μM	> 10
CYP3A4 (sustrato azul) Referencia: Ketoconazol = 0,04 μM	> 10
CYP2C9 Referencia: Sulfafenazol = 0,4 μM	> 10
CYP2C19 Referencia: Miconazol = 0,06 μM	> 10
CYP2D6 Referencia: Quinidina = 0,01 μM	> 10
CYP2E1 Referencia: DCC = 0,4 μM	> 10

#### Ejemplo 7. Canal de potasio ERG humano

Para determinar la función del canal iónico, se emplea el ensayo de polarización de fluorescencia Predictor™ hERG

ya que proporciona un método eficaz para una determinación inicial de la propensión de los compuestos de prueba a bloquear el canal hERG (Dom, et al. J Biomol. Screen, 2005, 10, 339-347). El ensayo se basa en el supuesto de que la actividad del canal de potasio hERG contribuye a la membrana en reposo potencial en células permanentemente transfectadas y, por lo tanto, un bloqueo de los canales hERG debería resultar en una despolarización de la membrana celular. El ensayo está diseñado para identificar posibles bloqueadores de los canales de hERG mediante la producción de datos que se correlacionan con precisión con los estudios de electrofisiología de fijación en parche de membrana (patch-clamp). Los resultados del ensayo Predictor™ demuestran una alta correlación con los obtenidos con las técnicas de pinzamiento de parche (Dorn, et al. J Biomol Screen, 2005, 10, 339-347).

10 Se utilizan preparaciones de membrana de células de ovario de hámster chino transfectadas de forma estable con el canal de potasio hERG para evaluar el efecto inhibidor potencial de un compuesto de la invención sobre este canal utilizando el ensayo de polarización de fluorescencia Predictor™. La reducción de la polarización de la membrana como resultado de la inhibición del canal de potasio hERG se correlaciona directamente con una reducción de la polarización de fluorescencia (FP).

15 El ensayo se realiza por triplicado usando una respuesta a la dosis de 16 puntos del compuesto de prueba y los controles positivos E-4031 y Tamoxifeno. Se obtiene una  $IC_{50}$  de 15 nM (AmP = 163) para E-4031 y 1,4  $\mu$ M (AmP = 183) para Tamoxifeno. Una ventana de ensayo superior a 100 mP (miliopolarización) se considera buena. Las curvas de regresión no lineal se obtienen mediante el análisis GraphPad Prism (GraphPad Software Inc.), para calcular los 20 valores de  $IC_{50}$ .

Tabla 7. Actividad del canal de potasio hERG del Compuesto 1

Inhibición de hERG
$IC_{50}$ ( $\mu$ M)
> 100

## Ejemplo 8. Actividad ATPasa de Pgp

25 Se examinó el impacto del Compuesto 1 en la actividad de Pgp ATPasa en el ensayo Pgp-Glo™ (Boletín técnico; Instrucciones de uso de los sistemas de ensayo Pgp-Glo™ para el uso de los productos V3591 y V3601; revisado en noviembre de 2015) de acuerdo con el protocolo estándar del fabricante.

30 Tabla 8. Compuesto 1 como sustrato

Pgp Sustrato Pgp
$CE_{50}$ ( $\mu$ M)
> 300

## Ejemplo 9. Propiedades fisioquímicas

35 Las propiedades fisicoquímicas del Compuesto 1 tales como solubilidad en agua, concentración micelar crítica, tensión superficial y LogP<sub>A</sub> se determinaron usando métodos conocidos en la técnica. Los datos se proporcionan en la Tabla 9.

Tabla 9. Propiedades fisioquímicas

	Ws <sup>(a)</sup> (mM)	CMC <sup>(b)</sup> (mM)	ST <sub>CMC</sub> <sup>(c)</sup>	LogP <sub>A</sub> <sup>(d)</sup>
Compuesto 1		2,0		1,8
Compuesto A	9	2,9	43,2-48,8	2,5
Compuesto B	hs	1,3	43,3-47,9	2,0
Compuesto C	99	2	50,1	1,4
Compuesto D	15	-	-	2,9
Compuesto E	120	5,9	52,4	1,6
Compuesto F	143-150	15,8	47,8	0,8

<sup>a</sup> Ws: la solubilidad en agua se refiere a AB como especies protonadas y, por lo tanto, no se evalúa para el Compuesto B, TCDCA y TUDCA que son altamente solubles (hs)

<sup>b</sup> CMC: Concentración micelar crítica determinada en solución acuosa de NaCl 0,15 M

<sup>c</sup> ST<sub>cmc</sub>: Tensión superficial en CMC en solución acuosa de NaCl 0,15 M

<sup>d</sup> LogP<sub>A</sub>: coeficiente de partición 1-octanol-agua de los ácidos biliares estudiados como especies ionizadas

40 Ejemplo 10. Secreción biliar y metabolismo del Compuesto 1 en rata con fistula biliar

Objetivo y fundamento: la modificación estructural de un compuesto afecta su captación hepática, transportes hepáticos y secreción y absorción intestinal. Por lo tanto, el conocimiento de la secreción biliar después de la administración iv o id junto con su metabolismo es un punto clave en la selección de candidatos para estudios adicionales. Para evaluar el modo y la eficacia de la absorción intestinal, el Compuesto 1 se administra tanto por vía intravenosa (infusión femoral) como por vía oral (infusión duodenal) a la misma dosis y su tasa de secreción biliar se

evalúa en el modelo de rata con fistula biliar. También se evalúa el efecto colerético sobre la producción de bilis. Las diferencias en el área bajo la curva (AUC) de la secreción biliar frente al tiempo entre la administración iv e id dan cuenta de su absorción intestinal y proporcionan información sobre su biodisponibilidad. Además, el metabolismo hepático e intestinal también podría ser bastante diferente y, por lo tanto, se determina la secreción biliar del Compuesto 1 y sus metabolitos principal (intestinal) y hepático.

5 Efecto colerético - Infusión duodenal

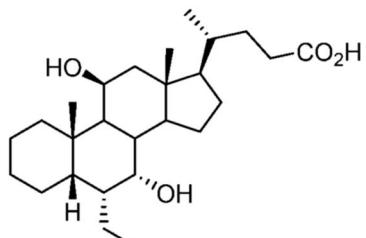
10 El modelo de rata con fistula biliar se desarrolla en las instalaciones del laboratorio de la Universidad de Bolonia. El compuesto 1 se administra a una dosis de aproximadamente 1  $\mu\text{mol}/\text{kg}/\text{min}$  (infusión de 1 hora) a un grupo de ratas mediante infusión duodenal (id). Las ratas tienen una fistula biliar para recolectar muestras de bilis en diferentes momentos antes y durante la infusión. Para el experimento de infusión duodenal, se tratan ratas ( $250\pm10$  g). Las muestras de bilis se recogen cada 15 minutos durante cuatro horas. Además, se tratan 3 ratas de control con solución salina en las mismas condiciones durante los tiempos y el muestreo (ratas de control duodenales).

15 Efecto colerético - Infusión intravenosa

20 Para el experimento de infusión femoral, las ratas se tratan con el compuesto 1 a aproximadamente 1  $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{kg}$ . La infusión femoral comienza después de aproximadamente 75 minutos de estado estable y continúa durante aproximadamente 60 minutos. Las muestras de bilis se recolectan aproximadamente cada 15 minutos durante cuatro horas. Además, las ratas se tratan con solución salina en las mismas condiciones durante los tiempos y el muestreo (ratas de control femoral).

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de estructura:



(1),

o una sal farmacéuticamente aceptable o un conjugado de aminoácidos del mismo.

2. El ácido libre del compuesto de la reivindicación 1.

3. Una sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la reivindicación 1.

4. Un conjugado de aminoácidos del compuesto de la reivindicación 1, en el que el aminoácido es glicina o sarcosina.

5. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

6. El compuesto de la reivindicación 1, o una sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo, para su uso en el tratamiento o prevención de una enfermedad o afección activada por el FXR, en el que la enfermedad o afección activada por FXR se selecciona de entre enfermedad cardiovascular, enfermedad hepática crónica, trastorno lipídico, enfermedad gastrointestinal, enfermedad renal, enfermedad metabólica, cáncer y enfermedad neurológica.

7. El compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 6, en el que la enfermedad es una enfermedad hepática crónica.

8. El compuesto o sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo para su uso de acuerdo con la reivindicación 7, en el que la enfermedad hepática crónica se selecciona entre cirrosis biliar primaria (CBP) (también conocida como colangitis biliar primaria (CBP)), xantomatosis cerebrotendinosa (CTX), colangitis esclerosante primaria (CEP), colestasis inducida por fármacos, colestasis intrahepática del embarazo, colestasis asociada a nutrición parenteral (CANP), colestasis asociada a sobrecrecimiento bacteriano o sepsis, hepatitis autoinmune, hepatitis viral crónica, enfermedad hepática alcohólica, enfermedad del hígado graso no alcohólico (EHGNA), esteatohepatitis no alcohólica (EHNA), enfermedad de injerto contra huésped asociada a trasplante de hígado, regeneración de hígado de trasplante de donante vivo, fibrosis hepática congénita, coledocolitiasis, enfermedad del hígado granulomatoso, neoplasia intra o extrahepática, síndrome de Sjogren, sarcoidosis, enfermedad de Wilson, enfermedad de Gaucher, hemocromatosis y deficiencia de alfa-1-antitripsina.

9. El compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la enfermedad hepática crónica es EHGNA.

40 10. El compuesto, o sal farmacéuticamente aceptable o conjugado de aminoácidos del mismo, para su uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la enfermedad hepática crónica es EHNA.

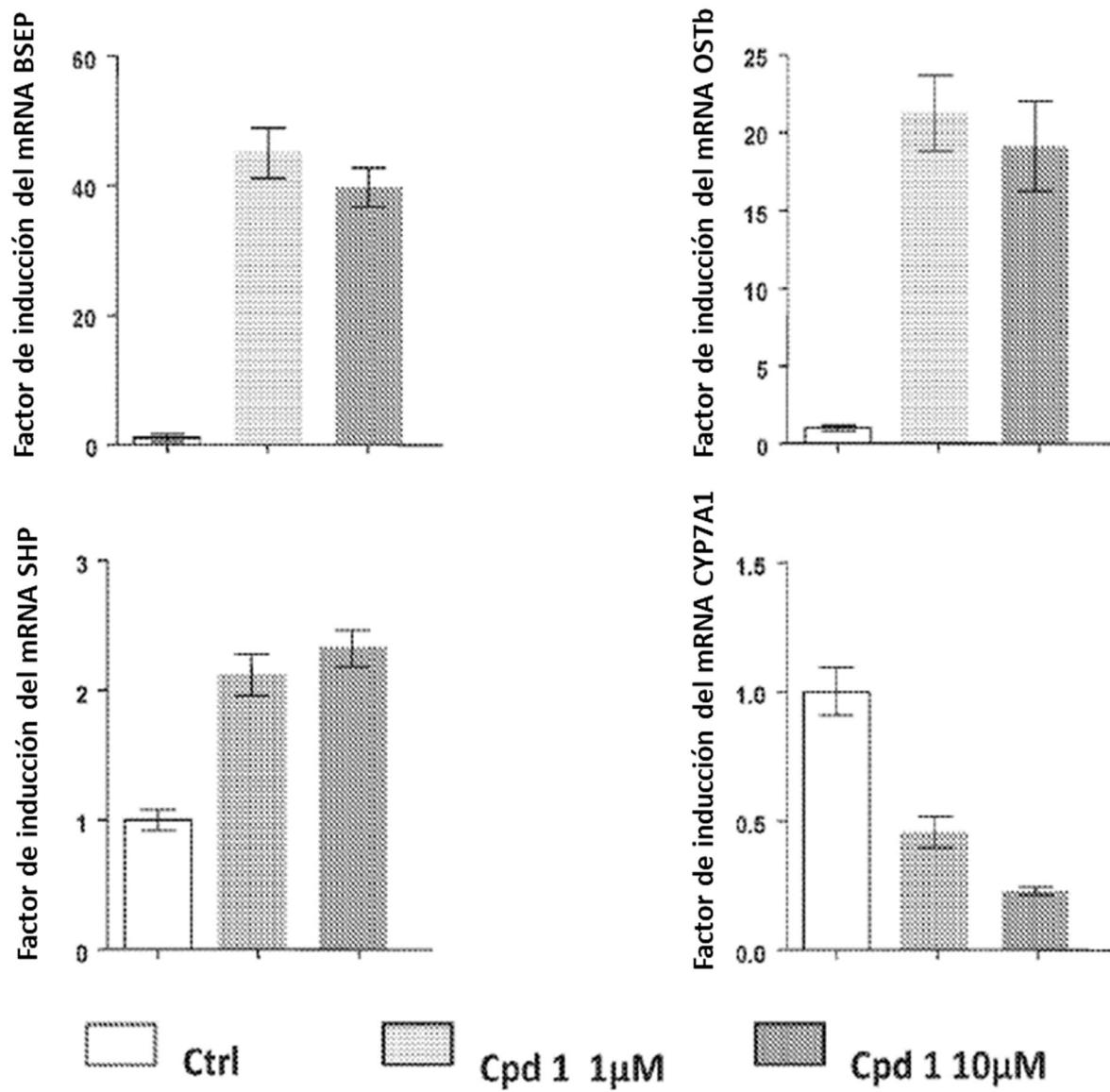


Figura 1