

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 945 983**

51 Int. Cl.:

C07J 71/00 (2006.01)

A61K 31/58 (2006.01)

A61P 5/44 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.10.2017 PCT/US2017/056447**

87 Fecha y número de publicación internacional: **19.04.2018 WO18071736**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.10.2017 E 17860202 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.05.2023 EP 3525870**

54 Título: **Glucocorticoides muy potentes**

30 Prioridad:

14.10.2016 US 201662408314 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
11.07.2023

73 Titular/es:

**VAN ANDEL RESEARCH INSTITUTE (100.0%)
333 Bostwick Avenue N.E.
Grand Rapids, MI 49503, US**

72 Inventor/es:

**XU, HUAQIANG, ERIC y
HE, YUANZHENG**

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 945 983 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

Glucocorticoides muy potentes

5 Financiación federal

La presente invención se realizó con el apoyo del gobierno a tenor de DK066202 y DK071662 otorgados por el Instituto Nacional de la Diabetes y las Enfermedades Digestivas y Renales/Institutos Nacionales de Salud. El gobierno posee determinados derechos sobre la invención.

10 Campo técnico de la invención

La presente invención se refiere a compuestos de glucocorticoides novedosos. La invención también se refiere a métodos de uso de estos compuestos, a la síntesis de estos compuestos y a composiciones y formulaciones que comprenden los compuestos de glucocorticoides, y a usos de los mismos.

Referencia cruzada a solicitud relacionada

La presente solicitud reivindica la prioridad de la Solicitud Provisional de los Estados Unidos N.º: 62/408.314, presentada el 14 de octubre de 2016.

Antecedentes de la invención

Los glucocorticoides tales como la prednisona, la dexametasona (DEX) y la budesonida son antiinflamatorios muy eficaces. Se usan ampliamente para tratar inflamaciones y enfermedades autoinmunitarias tales como el asma, la artritis, el lupus y la enfermedad de Crohn (1, 2). Estos fármacos ejercen sus funciones fisiológicas a través de su unión al receptor de glucocorticoides (GR), un factor de transcripción activado por ligando de la superfamilia de receptores nucleares. En ausencia de glucocorticoides, el GR reside en el citoplasma y se asocia a proteínas chaperonas tales como hsp90 y hsp70. La unión de la hormona provoca un cambio conformacional en el GR, lo que conduce a su translocación al núcleo, donde ejerce su actividad de control de la transcripción, ya sea la activación (transactivación) o la represión (transrepresión). En la transactivación, el GR se dimeriza, se une directamente a un elemento de respuesta a glucocorticoides específico y, después, recluta coactivadores para activar la transcripción. En la transrepresión, el modelo general es que el GR se une a otros factores de transcripción (por ejemplo, NF- κ B, AP-1) para conectarse indirectamente a sus sitios de unión a través de interacciones proteína-proteína. Tras su conexión cerca de un promotor diana, el GR reprime la expresión génica corriente abajo (3). En general, se cree que la transrepresión no requiere la dimerización del GR (4, 5).

La transrepresión es el principal mecanismo a través del cual los glucocorticoides actúan como agentes antiinflamatorios (6). La conexión del GR al promotor NF- κ B/AP-1 conduce a la represión de la transcripción de los principales factores proinflamatorios corriente abajo, incluyendo las citocinas proinflamatorias (por ejemplo, TNF- α , IL-1 β , e IL-6), quimiocinas (por ejemplo, CCL2, CCL19) y enzimas asociadas al inicio de la inflamación (por ejemplo, COX2, MMP13 y fosfolipasa A2) (2). Debido a su acción rápida y a su efecto sostenible, los glucocorticoides siguen siendo la primera elección para tratar enfermedades inflamatorias. Sin embargo, el uso prolongado de glucocorticoides, especialmente a dosis elevadas, tiene muchas consecuencias adversas, incluyendo la diabetes mellitus/intolerancia a la glucosa, hipertensión, obesidad y osteoporosis (7, 8). La mayoría de estas consecuencias se atribuyen a la transactivación del GR. Por ejemplo, los glucocorticoides inducen los genes que codifican las enzimas limitadoras de la velocidad de la vía de la gluconeogénesis en el hígado, la glucosa-6-fosfatasa y la fosfoenol piruvato carboxinasa (9, 10), aumentando de este modo la síntesis de novo de glucosa y conduciendo finalmente al aumento de peso o a la diabetes. Los glucocorticoides también inducen un gen regulador clave del desarrollo óseo, Dickkopf-1 (DKK1), cuya regulación positiva provoca osteoporosis y pérdida ósea (11). En general, se observa que muchos de los efectos secundarios de los glucocorticoides se asocian al uso de dosis elevadas de glucocorticoides (12-14). Por ejemplo, se observó un "patrón umbral" para el uso de la prednisona: a 7,5 mg al día, provoca glaucoma, depresión e hipertensión arterial (12). Estos efectos secundarios se deben a la transactivación del GR y a la activación no selectiva de otros receptores, tales como el receptor de mineralocorticoides (MR), cuya activación provoca hipertensión arterial (15). Por lo tanto, es importante desarrollar glucocorticoides muy potentes y selectivos para reducir los efectos secundarios no deseados.

La potencia y la eficacia son dos parámetros farmacocinéticos clave de los glucocorticoides. Aunque la eficacia es la actividad máxima que puede conseguir un determinado fármaco, por lo general a la concentración máxima, la potencia es la concentración de un determinado fármaco necesaria para alcanzar la actividad semimáxima (CE50). Para dos glucocorticoides que tienen la misma eficacia, uno muy potente requerirá una dosis menor para conseguir el mismo efecto terapéutico (14, 15). De forma importante, un glucocorticoide puede tener diferentes potencias de transactivación y transrepresión; por ejemplo, la inducción génica por GR a través de DEX requiere una concentración de glucocorticoides de 5 a 6 veces superior a la de la represión génica (16-18). Esta respuesta diferencial proporciona la oportunidad de desarrollar glucocorticoides muy potentes que puedan usarse a dosis bajas para conseguir la represión total de las señales de inflamación, con una actividad de transactivación y unos efectos secundarios

mínimos. Por último, el desarrollo de insensibilidad y resistencia a la terapia con glucocorticoides es un problema importante en el tratamiento de enfermedades inflamatorias comunes tales como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, la artritis reumatoide y la enfermedad inflamatoria intestinal (19). La resistencia a los glucocorticoides también es un problema sin resolver en los cánceres de glóbulos blancos, especialmente la leucemia aguda infantil (20). Se han identificado o propuesto varios mecanismos de resistencia a los glucocorticoides, incluyendo un cambio de las vías de las cinasas, la alteración de cofactores y la pérdida o mutación de receptores (19, 21). Una observación común es que la afinidad del ligando por el receptor disminuye en los pacientes resistentes a los glucocorticoides. Dichos pacientes tratados con glucocorticoides muy potentes han mostrado mejoría, pero el efecto disminuyó gradualmente (22). Por consiguiente, existe una necesidad urgente de desarrollar una nueva generación de glucocorticoides más potentes.

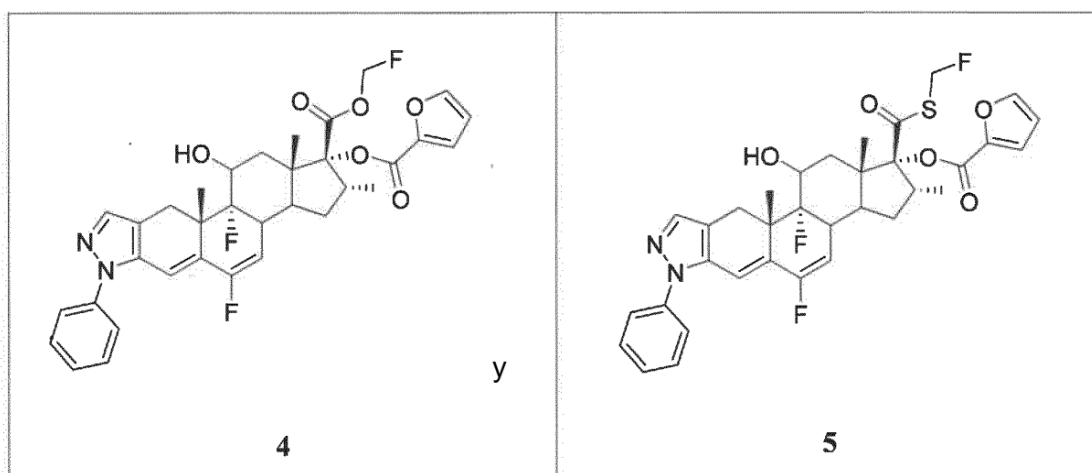
El cortisol es un glucocorticoide endógeno producido por la glándula suprarrenal. El cortisol tiene una potencia y una capacidad de unión al receptor bajas con respecto al glucocorticoide sintético más utilizado, tal como DEX (23). Por otra parte, el furoato de mometasona (MF) es un glucocorticoide potente utilizado para tratar los trastornos inflamatorios de la piel (Elocon), el asma (Asmanex) y la inflamación de los senos nasales (Nasonex) (24, 25). El MF tiene un éster de furoato lipófilo en la posición C17 α del anillo D del esteroide, lo que se cree que es el origen de su elevada potencia (26). En este caso, los inventores determinaron las estructuras cristalinas del LBD de GR unido a MF y cortisol, que revelan el mecanismo subyacente que discrimina la potencia del ligando entre MF y cortisol. Después, los presentes inventores usaron el mecanismo estructural observado para diseñar varios glucocorticoides novedosos con una potencia y una eficacia muy mejoradas, que podrían servir como líderes de partida para el desarrollo de terapias para el tratamiento de enfermedades inflamatorias.

El documento WO 2015/048316 A1 describe agonistas de los receptores de glucocorticoides muy potentes novedosos que tienen menos efectos secundarios. Uno de estos agonistas de los receptores de glucocorticoides ejemplificado en el documento WO 2015/048316 A1 es el Compuesto 9, que corresponde al compuesto VSCG12 en la presente solicitud.

Sumario de la invención

La evolución de los fármacos glucocorticoides estuvo impulsada por la demanda de reducir los efectos secundarios no deseados, manteniendo los efectos antiinflamatorios beneficiosos. La potencia es un aspecto muy importante de esta evolución, ya que muchos efectos secundarios indeseables se asocian a dosis elevadas. Los efectos secundarios pueden minimizarse con glucocorticoides muy potentes que consiguen los mismos efectos terapéuticos a dosis más bajas. Esta demanda impulsó la evolución de los glucocorticoides de potencia baja a elevada. El cortisol es un glucocorticoide endógeno que tiene una potencia relativamente baja, mientras que el furoato de mometasona (MF) es un glucocorticoide sintético muy potente que se ha utilizado en el tratamiento de muchas enfermedades inflamatorias. Para comprender los mecanismos subyacentes que impulsaron la evolución de los glucocorticoides, los inventores determinaron las estructuras de rayos X del dominio de unión a ligando (LBD) de receptores de glucocorticoides (GR) unido a cortisol y MF. El LBD de GR unido al cortisol reveló que la flexibilidad del enlace simple 1,2 en el anillo A del esteroide es la principal responsable de la baja afinidad del cortisol por los GR. Por otro lado, el LBD de GR unido al MF reveló que la potencia elevada del MF se consigue gracias a su grupo furoato 17 α , que llena totalmente el bolsillo de unión a ligando, proporcionando de este modo contactos de anclaje adicionales para una unión de afinidad elevada. Un único aminoácido en el bolsillo de unión a ligando, Q642, desempeña un papel discriminatorio en la potencia de ligando entre MF y cortisol. El diseño basado en la estructura condujo a la síntesis de varios glucocorticoides novedosos con una potencia muy mejorada. En conjunto, estos resultados revelan mecanismos estructurales clave de la potencia de los glucocorticoides y proporcionan una base racional para desarrollar glucocorticoides muy potentes.

En un aspecto, la invención proporciona un compuesto seleccionado entre:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 En un segundo aspecto, la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el compuesto del primer aspecto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y un portador o adyuvante farmacéuticamente aceptable.

- 10 En un tercer aspecto, la invención proporciona un método no terapéutico para modular la actividad de un receptor de glucocorticoides en una muestra biológica, que comprende la etapa de poner en contacto el receptor de glucocorticoides con un compuesto de acuerdo con el primer aspecto, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica de acuerdo con el segundo aspecto.

- 15 En un cuarto aspecto la invención proporciona un compuesto de acuerdo con el primer aspecto, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica de acuerdo con el segundo aspecto para su uso en un método de tratamiento o disminución de la gravedad de una enfermedad inflamatoria en un paciente, preferentemente en donde la enfermedad se selecciona entre asma, artritis, lupus, enfermedad de Crohn, enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedad celíaca, glomerulonefritis, acné vulgar, leucemia y cáncer de páncreas, más preferentemente en donde la enfermedad se selecciona entre asma y artritis.

Descripción detallada de las figuras

- 25 **FIG. 1A-1C:** Estructura global del LBD de GR unido a cortisol y del LBD de GR unido a MF. (FIG. 1A) Arquitectura del LBD de GR unido a cortisol y del LBD de GR unido a MF. (FIG. 1B) Comparación estructural del LBD de GR unido a DEX y el LBD de GR unido a MF. Las flechas indican las diferencias entre ambos, 1: región del bucle antes de la hélice 1; 2: región del bucle antes de la hélice 5 a la hélice 7; 3: orientación del extremo C de la hélice de AF2. (FIG. 1C) Mapa de densidad electrónica del cortisol y el MF en el bolsillo de unión a ligando del LBD de GR.
- 30 **FIG. 2A-2D:** Potencia de cortisol, DEX y MF. (FIG. 2A) Estructuras químicas del cortisol, la DEX y el MF. Se indican los anillos de los esteroides (FIG. 2A-2D). Las numeraciones de átomos clave están marcadas como pequeñas escrituras cerca de las posiciones correctas. La diferencia entre la DEX y el cortisol se indica en la estructura de la DEX. Se indica el grupo furoato del MF. (FIG. 2B-2C) Curvas dosis-respuesta para cortisol, DEX y MF para el indicador de inducción MMTV-Luc y el indicador de represión AP1-Luc en células AD293, ULR: Unidad de luciferasa relativa. Las barras de error representan la desviación típica, n=3. (FIG. 2D) Ensayo de unión a GR *in vitro* para MF, DEX y cortisol. RPM: recuentos por segundo. Las barras de error representan la desviación típica, n = 2.
- 35 **FIG. 3A-3B:** La flexibilidad del enlace simple 1,2 se atribuye a la baja afinidad del cortisol. (FIG. 3A) Red de enlaces de hidrógeno de cortisol y DEX en el bolsillo de unión a ligando del LBD de GR. (FIG. 3B) Curvas dosis-respuesta de cortisol, prednisolona y DEX para la transactivación de GR sobre MMTV-Luc en células AD293. La prednisolona se diferencia del cortisol sólo por el doble enlace 1,2. Las barras de error representan la desviación típica, n = 3.
- 40 **FIG. 4A-4D:** La ocupación completa del grupo furoato 17 α en el bolsillo de unión a ligando de GR. (FIG. 4A, 4B) Estructuras tridimensionales de DEX y MF. (FIG. 4C) Alineación de DEX y MF en el bolsillo de unión a ligando del LBD de GR. El grupo furoato 17 α de MF prolonga el bolsillo de unión a ligando de GR y ocupa por completo la cavidad hidrófoba situada encima del anillo D del esteroide. (FIG. 4D) Interacciones hidrófobas detalladas del grupo furoato 17 α con restos en la cavidad hidrófoba del bolsillo de unión a ligando del LBD de GR.
- 45 **FIG. 5A-5C:** Q642 desempeña funciones críticas en el reconocimiento de ligandos de diferente potencia. (FIG. 5A) Interacción detallada de Q642 con diferentes ligandos: LBD de GR unido a DEX y LBD de GR unido a MF. (FIG. 5B) Actividad de transactivación de las mutaciones de Q642 a una concentración no saturada de esteroide (DEX 10 nM; MF 1 nM). Las barras de error representan la desviación típica, n \geq 3. (FIG. 5C) Curvas dosis-respuesta para MF, DEX y cortisol del GR de tipo silvestre (TS) y Q642N mutante sobre MMTV-Luc en células AD293. Las barras

de error representan la desviación típica, $n = 3$.

FIG. 6: Diseño de compuestos de -O- o -S-éster y posterior hidrólisis hepática.

FIG. 7: Posiciones de las mutaciones de solubilidad y las mutaciones de cristalización". Panel superior: posiciones de las mutaciones que solubilizan el LBD de GR; panel inferior: mutaciones superficiales que facilitan la cristalización del LBD de GR.

FIG. 8: Expresión de proteína y purificación de las mutaciones seleccionadas de LBD de GR. Los mutantes de LBD de GR se expresaron y purificaron en presencia de cortisol 10 μ M.

FIG. 9A-9B: Cristales proteínicos y mapas de difracción del LBD de GR unido a cortisol y a MF. (FIG. 9A) LBD de GR unido a cortisol. (FIG. 9B) LBD de GR unido a MF.

FIG. 10A-10B: Las actividades de transcripción de las mutaciones AYVTI de GR. (FIG. 10A) Actividad de transactivación de las mutaciones AYVTI de GR sobre MMTV-Luc en células AD293. DEX, 100 nM. Las barras de error representan la desviación típica, $n = 3$. (FIG. 10B) Actividad de transrepresión de las mutaciones AYVTI de GR sobre AP1-Luc en células AD293. DEX, 100 nM. Las barras de error representan la desviación típica, $n = 3$.

FIG. 11A-11B: Comparaciones estructurales detalladas del grupo C-9 α y del grupo C-16 de esteroide de la DEX y el cortisol en el bolsillo de unión a ligando del LBD de GR. (FIG. 11A) El átomo de F en la posición C-9 α de la DEX hace un contacto estrecho con F623, L563 y M646 en el bolsillo de unión a ligando del LBD de GR. (FIG. 11B) El grupo metilo C-16 de DEX hace contacto estrecho con Y735, L732, M646 y Q642 en el bolsillo de unión a ligando del LBD de GR.

FIG. 12A-12B: Las mutaciones F623 y M639 no pueden separar la actividad de MF y DEX. (FIG. 12A) Actividad de transactivación de las mutaciones F623 sobre MMTV-Luc en células AD293. DEX 10 nM, MF 1 nM. Las barras de error representan la desviación típica, $n = 3$. (FIG. 12B) Actividad de transactivación de las mutaciones M639 sobre MMTV-Luc en células AD293. DEX 10 nM, MF 1 nM. Las barras de error representan la desviación típica, $n = 3$.

FIG. 13A-13B: Ensayo de unión *in vitro* de la proteína mutante Q642A de GR. (FIG. 13A) Experimento de unión a ligando *in vitro* usando citosol de células AD293 que expresaban GR de tipo silvestre o GR de Q642A mutante. RPM: recuentos por minuto. Las barras de error representan la desviación típica, $n = 2$. (FIG. 13B) Curva dosis-respuesta de DEX del GR TS y el GR de Q642A en un ensayo de indicador MMTV-Luc. Las barras de error representan la desviación típica, $n = 3$. (C), Ensayo de competencia por ligando de Q642A de GR. Las barras de error representan la desviación típica, $n = 2$.

FIG. 14: Gráfico de barras de actividad de los compuestos de la invención, proporcionadas como Unidades de luciferasa relativas. Los Compuestos 1, 2, 3 y 6 no forman parte de la invención.

FIG. 15: Gráfico lineal que muestra el aumento de 8 veces en la potencia del Compuesto 4 sobre el furoato de fluticasona (FF).

FIG. 16A-16B: (FIG. 16A) Un gráfico lineal que proporciona la potencia de los compuestos candidatos en un sistema indicador. (FIG. 16B) Un gráfico lineal que proporciona la evaluación del efecto de los compuestos candidatos en la represión de la inflamación pulmonar, usando un modelo de asma en ratón inducida por OVA.

Las figuras anteriores se proporcionan con fines ilustrativos y no pretenden ser limitantes en modo alguno.

Descripción detallada

Los glucocorticoides se usan desde hace casi 60 años y siguen siendo la primera elección para tratar muchas enfermedades inflamatorias y autoinmunitarias. Sin embargo, el uso prolongado de glucocorticoides puede provocar muchos efectos adversos. Comprender la base estructural de la activación y represión de los GR es muy importante para desarrollar glucocorticoides novedosos con menos efectos secundarios. Sin embargo, el nivel bajo de expresión de los GR en el sistema bacteriano, especialmente para el ligando de baja afinidad, obstaculizó el estudio estructural de este importante regulador celular. A través de la comparación de restos conservados en la familia de receptores de esteroides, los inventores habían identificado satisfactoriamente mutaciones de aminoácidos que podían facilitar la expresión del receptor sin afectar a su función fisiológica. Este método acelerará el estudio estructural de los GR, especialmente para aquellos ligandos de baja afinidad, tales como un ligando no esteroide, que puede encerrar el futuro de la próxima generación de glucocorticoides.

El desarrollo de glucocorticoides muy potentes se vio impulsado por dos tipos de urgencias, una es los efectos secundarios de los glucocorticoides provocados por el uso de dosis elevadas y la otra son los síntomas clínicos de resistencia a los glucocorticoides. Aunque la afinidad del ligando es un factor determinante de la potencia, no es el único. Los cofactores celulares también desempeñan papeles cruciales al reconocer las diferencias de superficie provocadas por la unión de ligandos y las sutiles variaciones inducidas por la unión de diferentes ligandos pueden tener efectos profundos sobre la selectividad de los cofactores. Se habían aplicado diferentes estrategias para modificar la cadena principal rígida del cortisol con el fin de aumentar su potencia y condujeron al desarrollo de la DEX. Una comparación estructural del LBD de GR unido a cortisol y el LBD de GR unido a DEX muestra que entre las modificaciones, el doble enlace Δ^1 es crítico para posicionar óptimamente la cetona C3, que forma un enlace de hidrógeno clave con R611. Posteriormente, los investigadores descubrieron que un grupo éster lipófilo, tal como un éster de alquilo o propionato (26), en la posición C-17 α puede potenciar fuertemente la actividad de los glucocorticoides. Uno de los fármacos para el asma más utilizados, el propionato de fluticasona (PF), se generó reemplazando el grupo hidroxilo por un éster de propionato en la posición C-17 α . Estos datos sugieren la presencia de una cavidad hidrófoba encima del anillo D del esteroide en el bolsillo de unión a ligando. Una mayor optimización

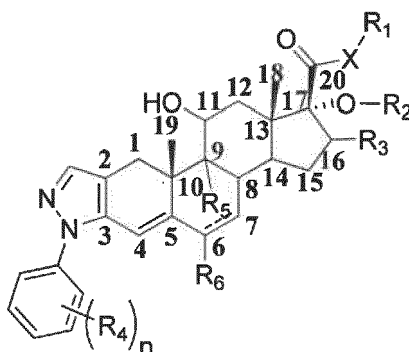
del FP con un grupo éster de furoato para reemplazar el éster de propionato creó un glucocorticoide muy potente, furoato de fluticasona (FF), indicando que el grupo furoato podría encajar mejor en la cavidad. Aunque se había resuelto la estructura del LBD de GR unido a FF (35), no se había definido el mecanismo estructural de la potencia elevada de MF. En este caso, los inventores han descubierto que la potencia elevada del MF es atribuible tanto a que el grupo furoato C-17 α ocupa todo el bolsillo de unión a ligando como a los cambios de conformación de la superficie provocados por la unión al ligando. Usando mutagénesis, los inventores demostraron que un único resto de aminoácido, Q642, desempeña un papel crucial en el reconocimiento del grupo furoato C-17 α y en la coordinación del posicionamiento de otras cadenas laterales de aminoácidos. Q642N difiere de la proteína de tipo silvestre en un solo grupo metilo, pero es suficiente para separar totalmente las actividades de MF, DEX y cortisol, indicando con qué precisión se regula la actividad del receptor.

Los inventores han demostrado que el grupo furoato C-17 α puede servir como punto de "anclaje" para posicionar ligandos de afinidad baja de forma precisa y firme en el bolsillo de unión a ligando. El éxito en la modificación de los derivados de DAC diseñados para aumentar las propiedades de disociación demuestra una estrategia sólida para diseñar glucocorticoides disociados terapéuticos, glucocorticoides con menor síntoma clínico de resistencia a los glucocorticoides o compuestos de glucocorticoides no esteroideos (esos compuestos generalmente muestran escasa afinidad por el receptor). En resumen, los presentes inventores han resuelto la primera estructura cristalina del LBD de GR unido a un ligando fisiológico, el glucocorticoide de baja potencia cortisol, así como la estructura del LBD unido al ligando sintético de potencia elevada, de importancia clínica, MF. En combinación con análisis bioquímicos y mutacionales, los inventores han identificado estructuralmente los determinantes críticos de la afinidad y la potencia de los glucocorticoides, y han validado estos determinantes a través del diseño basado en la estructura y la síntesis de glucocorticoides muy potentes.

I. Definiciones

Para los fines de la presente invención, los elementos químicos se identifican de acuerdo con la Tabla Periódica de los Elementos, Versión CAS, Handbook of Chemistry and Physics, 75ª ed. Asimismo, se describen principios generales de química orgánica en "Organic Chemistry", Thomas Sorrell, University Science Books, Sausalito: 1999 y "March's Advanced Organic Chemistry", 5ª ed., Ed.: Smith, M. B. y March, J., John Wiley & Sons, Nueva York: 2001.

Como se describe en el presente documento, la numeración de los carbonos de los Compuestos de Fórmula I es la convención aceptada para las estructuras esteroideas. En consecuencia, los compuestos de Fórmula I se numeran como sigue:



Como se describe en el presente documento, los compuestos que se describen en el presente documento y que no forman parte de la invención pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, tales como los que se han ilustrado en general, o como se ejemplifican por las clases, subclases y especies particulares de la invención.

Como se describe en el presente documento, "grupo protector" se refiere a un resto o funcionalidad que se introduce en una molécula por modificación química de un grupo funcional con el fin de obtener quimioselectividad en una reacción química posterior. Se proporcionan grupos protectores convencionales en Wuts y Greene: "Greene's Protective Groups in Organic Synthesis" 4ª Ed, Wuts, P. G. M. y Greene, T. W., Wiley-Interscience, Nueva York: 2006.

Como se usa en el presente documento, el término "hidroxilo" o "hidroxi" se refiere a un resto -OH.

Como se usa en el presente documento, el término "alifático" incluye los términos alquilo, alquenilo, alquínilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido como se muestra a continuación.

Como se usa en el presente documento, un grupo "alquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo alifático saturado que contiene 1-12 (por ejemplo, 1-8, 1-6 o 1-4) átomos de carbono. Un grupo alquilo puede ser lineal o ramificado. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen, pero sin limitación, metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo, n-heptilo o 2-etilhexilo. Un grupo alquilo puede estar sustituido (es decir, opcionalmente

sustituido) con uno o más sustituyentes tales como halo, fosfo, cicloalifático [por ejemplo, cicloalquilo o cicloalquenilo], heterocicloalifático [por ejemplo, heterocicloalquilo o heterocicloalquenilo], arilo, heteroarilo, alcoxi, aroilo, heteroarilo, acilo [por ejemplo, (alifático)carbonilo, (cicloalifático)carbonilo o (heterocicloalifático)carbonilo], nitro, ciano, amido [por ejemplo, (cicloalquilalquil)carbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (heterocicloalquilalquil)carbonilamino, heteroarilcarbonilamino, heteroaralquilcarbonilamino alquilaminocarbonilo, cicloalquilaminocarbonilo, heterocicloalquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo o heteroarilaminocarbonilo], amino [por ejemplo, amino alifático, amino cicloalifático o amino heterocicloalifático], sulfonilo [por ejemplo, alifático-SO₂], sulfinilo, sulfanilo, sulfoxi, urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, oxo, carboxi, carbamoilo, oxocicloalifático, heterocicloalifáticocooxi, ariloxi, heteroariloxi, aralquilo, heteroarilalcoxi, alcoxycarbonilo, alquilcarboniloxi o hidroxil. Sin limitación, algunos ejemplos de alquilos sustituidos incluyen carboxialquilo (tal como HOOC-alquilo, alcoxycarbonilalquilo y alquilcarboniloxialquilo), cianoalquilo, hidroxialquilo, alcoxialquilo, acilalquilo, aralquilo, (alcoxiaril)alquilo, (sulfonilamino)alquilo (tal como (alquil-SO₂-amino)alquilo), aminoalquilo, amidoalquilo, (cicloalifático)alquilo o haloalquilo.

Como se usa en el presente documento, un grupo "alquenilo" se refiere a un grupo de carbono alifático que contiene 2-8 (por ejemplo, 2-12, 2-6 o 2-4) átomos de carbono y al menos un doble enlace. Al igual que un grupo alquilo, un grupo alquenilo puede ser lineal o ramificado. Los ejemplos de un grupo alquenilo incluyen, pero sin limitación, alilo, 1- o 2-isopropenilo, 2-butenilo y 2-hexenilo. Un grupo alquenilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, tales como halo, fosfo, cicloalifático [por ejemplo, cicloalquilo o cicloalquenilo], heterocicloalifático [por ejemplo, heterocicloalquilo o heterocicloalquenilo], arilo, heteroarilo, alcoxi, aroilo, heteroarilo, acilo [por ejemplo, (alifático)carbonilo, (cicloalifático)carbonilo o (heterocicloalifático)carbonilo], nitro, ciano, amido [por ejemplo, (cicloalquilalquil)carbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (heterocicloalquilalquil)carbonilamino, heteroarilcarbonilamino, heteroaralquilcarbonilamino alquilaminocarbonilo, cicloalquilaminocarbonilo, heterocicloalquilaminocarbonilo, arilaminocarbonilo o heteroarilaminocarbonilo], amino [por ejemplo, amino alifático, amino cicloalifático, amino heterocicloalifático o sulfonilamino alifático], sulfonilo [por ejemplo, alquil-SO₂-, cicloalifático-SO₂- o aril-SO₂-], sulfinilo, sulfanilo, sulfoxi, urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, oxo, carboxi, carbamoilo, oxocicloalifático, heterocicloalifáticocooxi, ariloxi, heteroariloxi, aralquilo, heteroaralcoxi, alcoxycarbonilo, alquilcarboniloxi o hidroxil. Sin limitación, algunos ejemplos de alquenos sustituidos incluyen cianoalquenilo, alcoxialquenilo, acilalquenilo, hidroxialquenilo, aralquenilo, (alcoxiaril)alquenilo, (sulfonilamino)alquenilo (tal como (alquil-SO₂-amino)alquenilo), aminoalquenilo, amidoalquenilo, alquenilo (cicloalifático) o haloalquenilo.

Como se usa en el presente documento, un grupo "alquinilo" se refiere a un grupo de carbono alifático que contiene 2-8 (por ejemplo, 2-12, 2-6 o 2-4) átomos de carbono y tiene al menos un triple enlace. Un grupo alquinilo puede ser lineal o ramificado. Los ejemplos de un grupo alquinilo incluyen, pero sin limitación, propargilo y butinilo. Un grupo alquinilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como aroilo, heteroarilo, alcoxi, cicloalquiloxi, heterocicloalquiloxi, ariloxi, heteroariloxi, aralquilo, nitro, carboxi, ciano, halo, hidroxil, sulfo, mercapto, sulfanilo [por ejemplo, sulfanilo alifático o sulfanilo cicloalifático], sulfinilo [por ejemplo, sulfonilo alifático o sulfonilo cicloalifático], sulfonilo [por ejemplo, alifático-SO₂-, amino alifático-SO₂- o cicloalifático-SO₂-], amido [por ejemplo, aminocarbonilo, alquilaminocarbonilo, alquilcarbonilamino, cicloalquilaminocarbonilo, heterocicloalquilaminocarbonilo, cicloalquilcarbonilamino, arilaminocarbonilo, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (cicloalquilalquil)carbonilamino, heteroaralquilcarbonilamino, heteroarilcarbonilamino o heteroarilaminocarbonilo], urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, alcoxycarbonilo, alquilcarboniloxi, cicloalifático, heterocicloalifático, arilo, heteroarilo, acilo [por ejemplo, (cicloalifático)carbonilo o (heterocicloalifático)carbonilo], amino [por ejemplo, amino alifático], sulfoxi, oxo, carboxi, carbamoilo, (cicloalifático)oxi, (heterocicloalifático)oxi o (heteroaril)alcoxi.

Como se usa en el presente documento, un "amido" incluye tanto "aminocarbonilo" como "carbonilamino". Estos términos, cuando se usan solos o en conexión con otros grupos, se refieren a un grupo amido tal como -N(R^X)-C(O)-R^Y o -C(O)-N(R^X)₂, cuando se usan terminalmente, y -C(O)-N(R^X)- o -N(R^X)-C(O)- cuando se usan internamente, en donde R^X y R^Y pueden ser hidrógeno, alifático, cicloalifático, arilo, aralifático, heterocicloalifático, heteroarilo o heteroaralifático. Los ejemplos de grupos amido incluyen alquilamido (tal como alquilcarbonilamino o alquilaminocarbonilo), (heterocicloalifático)amido, (heteroaralquil)amido, (heteroaril)amido, (heterocicloalquil)alquilamido, arilamido, aralquilamido, (cicloalquil)alquilamido o cicloalquilamido.

Como se usa en el presente documento, un grupo "amino" se refiere a -NR^XR^Y en donde cada uno de R^X y R^Y es independientemente hidrógeno, alifático, cicloalifático, (cicloalifático)alifático, arilo, aralifático, heterocicloalifático, (heterocicloalifático)alifático, heteroarilo, carboxi, sulfanilo, sulfinilo, sulfonilo, (alifático)carbonilo, (cicloalifático)carbonilo, ((cicloalifático)alifático)carbonilo, arilcarbonilo, (aralifático)carbonilo, (heterocicloalifático)carbonilo, ((heterocicloalifático)alifático)carbonilo, (heteroaril)carbonilo o (heteroaralifático)carbonilo, siendo cada uno de los cuales como se define en el presente documento y estando opcionalmente sustituido. Los ejemplos de grupos amino incluyen alquilamino, dialquilamino o arilamino. Cuando el término "amino" no es el grupo terminal (por ejemplo, alquilcarbonilamino), se representa por -NR^X-, donde R^X tiene el mismo significado que se ha definido anteriormente.

Como se usa en el presente documento, un grupo "arilo" utilizado solo o como parte de un resto más grande como en "aralquilo", "aralcoxi", o "ariloxialquilo" se refiere a monocíclico (por ejemplo, fenilo); bicíclico (por ejemplo, indenilo, naftalenilo, tetrahidronaftilo, tetrahidroindenilo); y los sistemas de anillos tricíclicos (por ejemplo, fluorenil

tetrahidrofluorenilo, o tetrahidroantraceno, antraceno) en los que el sistema de anillo monocíclico es aromático o al menos uno de los anillos en un sistema de anillo bicíclico o tricíclico es aromático. Los grupos bicíclicos y tricíclicos incluyen anillos carbocíclicos benzocondensados de 2-3 miembros. Por ejemplo, un grupo benzocondensado incluye fenilo condensado con dos o más restos carbocíclicos C₄₋₈. Un arilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes incluyendo alifático [por ejemplo, alquilo, alqueno o alquino]; cicloalifático; (cicloalifático)alifático; heterocicloalifático; (heterocicloalifático)alifático; arilo; heteroarilo; alcoxi; (cicloalifático)oxi; (heterocicloalifático)oxi; ariloxi; heteroariloxi; (aralifático)oxi; (heteroaralifático)oxi; aroilo; heteroarilo; amino; oxo (en un anillo carbocíclico no aromático de un arilo bicíclico o tricíclico benzocondensado); nitro; carboxi; amido; acilo [por ejemplo, (alifático)carbonilo; (cicloalifático)carbonilo; ((cicloalifático)alifático)carbonilo; (aralifático)carbonilo; (heterocicloalifático)carbonilo; ((heterocicloalifático)alifático)carbonilo; o (heteroaralifático)carbonilo]; sulfonilo [por ejemplo, alifático-SO₂- o amino-SO₂-]; sulfonilo [por ejemplo, alifático-S(O)- o cicloalifático-S(O)-]; sulfanilo [por ejemplo, alifático-S-]; ciano; halo; hidroxil; mercapto; sulfoxil; urea; tiourea; sulfamilo; sulfamida; o carbamilo. Como alternativa, un arilo puede estar sin sustituir.

Los ejemplos no limitantes de arilos sustituidos incluyen haloarilo [por ejemplo, mono-, di (tal como p,m-dihaloarilo), y (trihalo)arilo]; (carboxi)arilo [por ejemplo, (alcoxycarbonil)arilo, ((aralquil)carboniloxi)arilo y (alcoxycarbonil)arilo]; (amido)arilo [por ejemplo, (aminocarbonil)arilo, (((alquilamino)alquil)aminocarbonil)arilo, (alquilcarbonil)aminoarilo, (arilaminocarbonil)arilo y (((heteroaril)amino)carbonil)arilo]; aminoarilo [por ejemplo, ((alquilsulfonil)amino)arilo o ((dialquil)amino)arilo]; (cianoalquil)arilo; (alcoxi)arilo; (sulfamilo)arilo [por ejemplo, (aminosulfonil)arilo]; (alquilsulfonil)arilo; (ciano)arilo; (hidroxialquil)arilo; ((alcoxi)alquil)arilo; (hidroxil)arilo, ((carboxi)alquil)arilo; (((dialquil)amino)alquil)arilo; (nitroalquil)arilo; (((alquilsulfonil)amino)alquil)arilo; ((heterocicloalifático)carbonil)arilo; ((alquilsulfonil)alquil)arilo; (cianoalquil)arilo; (hidroxialquil)arilo; (alquilcarbonil)arilo; alquilarilo; (trihaloalquil)arilo; p-amino-m-alcoxycarbonilarilo; p-amino-m-cianoarilo; p-halo-m-aminoarilo; o (m-(heterocicloalifático)-o-(alquil))arilo.

Como se usa en el presente documento, un "aralifático" tal como un grupo "aralquilo" se refiere a un grupo alifático (por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₄) que está sustituido con un grupo arilo. Se definen en el presente documento "alifático", "alquilo", y "arilo". Un ejemplo de un grupo aralifático tal como un grupo aralquilo es bencilo.

Como se usa en el presente documento, un grupo "aralquilo" se refiere a un grupo alquilo (por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₄) que está sustituido con un grupo arilo. "Alquilo" y "arilo" se han definido anteriormente. Un ejemplo de un grupo aralquilo es bencilo. Un aralquilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, tales como alifático [por ejemplo, alquilo, alqueno o alquino, incluyendo carboxialquilo, hidroxialquilo o haloalquilo, tal como trifluorometilo], cicloalifático [por ejemplo, cicloalquilo o cicloalqueno], (cicloalquil)alquilo, heterocicloalquilo, (heterocicloalquil)alquilo, arilo, heteroarilo, alcoxi, cicloalquiloxi, heterocicloalquiloxi, ariloxi, heteroariloxi, aralquiloxi, heteroaralquiloxi, aroilo, heteroarilo, nitro, carboxi, alcoxycarbonilo, alquilcarboniloxi, amido [por ejemplo, aminocarbonilo, alquilcarbonilamino, cicloalquilcarbonilamino, (cicloalquilalquil)carbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (heterocicloalquilalquil)carbonilamino, heteroarilcarbonilamino o heteroaralquilcarbonilamino], ciano, halo, hidroxil, acilo, mercapto, alquilsulfanilo, sulfoxil, urea, tiourea, sulfamilo, sulfamida, oxo o carbamilo.

Como se usa en el presente documento, un "sistema de anillo bicíclico" incluye estructuras de 6-12 (por ejemplo, 8-12 o 9, 10 u 11) miembros que forman dos anillos, en donde los dos anillos tienen al menos un átomo en común (por ejemplo, 2 átomos en común). Los sistemas de anillos bicíclicos incluyen bicicloalifáticos (por ejemplo, bicicloalquilo o bicicloalqueno), bicicloheteroalifáticos, arilos bicíclicos y heteroarilos bicíclicos.

Como se usa en el presente documento, un grupo "cicloalifático" incluye un grupo "cicloalquilo" y un grupo "cicloalqueno", cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido como se muestra a continuación.

Como se usa en el presente documento, un grupo "cicloalquilo" se refiere a un anillo carbocíclico saturado, mono- o bicíclico (condensado o puenteado) de 3-10 (por ejemplo, 5-10) átomos de carbono. Los ejemplos de grupos cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, adamantilo, norbornilo, cubilo, octahidro-indenilo, decahidro-naftilo, biciclo[3.2.1]octilo, biciclo[2.2.2]octilo, biciclo[3.3.1]nonilo, biciclo[3.3.2]decilo, biciclo[2.2.2]octilo, adamantilo o (cicloalquil(aminocarbonil))cicloalquilo.

Un grupo "cicloalqueno", como se usa en el presente documento, se refiere a un anillo carbocíclico no aromático de 3-10 (por ejemplo, 4-8) átomos de carbono que tiene uno o más dobles enlaces. Los ejemplos de grupos cicloalqueno incluyen ciclopentenilo, 1,4-ciclohexa-di-enilo, cicloheptenilo, ciclooctenilo, hexahidro-indenilo, octahidro-naftilo, ciclohexenilo, biciclo[2.2.2]octenilo o biciclo[3.3.1]nonenilo.

Un grupo cicloalquilo o cicloalqueno puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como fosfo, alifático [por ejemplo, alquilo, alqueno o alquino], cicloalifático, (cicloalifático) alifático, heterocicloalifático, (heterocicloalifático)alifático, arilo, heteroarilo, alcoxi, (cicloalifático)oxi, (heterocicloalifático)oxi, ariloxi, heteroariloxi, (aralifático)oxi, (heteroaralifático)oxi, aroilo, heteroarilo, amino, amido [por ejemplo, (alifático)carbonilamino, (cicloalifático)carbonilamino, ((cicloalifático)alifático)carbonilamino, (aril)carbonilamino, (aralifático)carbonilamino, (heterocicloalifático)carbonilamino, ((heterocicloalifático)alifático)carbonilamino, (heteroaril)carbonilamino o (heteroaralifático)carbonilamino], nitro, carboxi [por ejemplo, HOOC-, alcoxycarbonilo o alquilcarboniloxil], acilo [por

ejemplo, (cicloalifático)carbonilo, ((cicloalifático)alifático)carbonilo, (aralifático)carbonilo, (heterocicloalifático)carbonilo, ((heterocicloalifático)alifático)carbonilo o (heteroaralifático)carbonilo], ciano, halo, hidroxilo, mercapto, sulfonilo [por ejemplo, alquil-SO₂- y aril-SO₂-], sulfinilo [por ejemplo, alquil-S(O)-], sulfanilo [por ejemplo, alquil-S-], sulfoxi, urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, oxo o carbamoilo.

5

Como se usa en el presente documento, el término "heterocicloalifático" incluye grupos heterocicloalquilo y grupos heterocicloalqueno, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido como se muestra a continuación.

Como se usa en el presente documento, un grupo "heterocicloalquilo" se refiere a una estructura de anillo saturado monocíclico o bicíclico de 3-10 miembros (condensada o puenteada) (por ejemplo, monocíclico o bicíclico de 5 a 10 miembros), en la que uno o más de los átomos en el anillo es un heteroátomo (por ejemplo, N, O, S o combinaciones de los mismos). Los ejemplos de un grupo heterocicloalquilo incluyen piperidilo, piperazilo, tetrahidropirano, tetrahidrofurilo, 1,4-dioxolano, 1,4-ditiano, 1,3-dioxolano, oxazolidilo, isoxazolidilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, octahidrobenzofurilo, octahidrocromenilo, octahidrotiocromenilo, octahidroindolilo, octahidropirindinilo, decahidroquinolinilo, octahidrobenczo[b]tiofenoilo, 2-oxa-biciclo[2.2.2]octilo, 1-aza-biciclo[2.2.2]octilo, 3-aza-biciclo[3.2.1]octilo y 2,6-dioxa-triciclo[3.3.1.0^{3,7}]nonilo. Un grupo heterocicloalquilo monocíclico puede condensarse con un resto fenilo para formar estructuras, tales como tetrahidroisoquinolina, que se clasificarían como heteroarilos.

Un grupo "heterocicloalqueno", como se usa en el presente documento, se refiere a una estructura de anillo no aromático monocíclico o bicíclico (por ejemplo, monocíclico o bicíclico de 5 a 10 miembros) que tiene uno o más dobles enlaces, y en donde uno o más de los átomos en el anillo es un heteroátomo (por ejemplo, N, O o S). Los hidrocarburos heterocicloalifáticos monocíclicos y bicíclicos se numeran de acuerdo con la nomenclatura química normalizada.

Un grupo heterocicloalquilo o heterocicloalqueno puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, tales como fosfo, alifático [por ejemplo, alquilo, alqueno o alquino], cicloalifático, (cicloalifático)alifático, heterocicloalifático, (heterocicloalifático)alifático, arilo, heteroarilo, alcoxi, (cicloalifático)oxi, (heterocicloalifático)oxi, ariloxi, heteroariloxi, (aralifático)oxi, (heteroaralifático)oxi, aroilo, heteroarilo, amino, amido [por ejemplo, (alifático)carbonilamino, (cicloalifático)carbonilamino, ((cicloalifático)alifático)carbonilamino, (aril)carbonilamino, (aralifático)carbonilamino, (heterocicloalifático)carbonilamino, ((heterocicloalifático)alifático)carbonilamino, (heteroaril)carbonilamino o (heteroaralifático)carbonilamino], nitro, carboxi [por ejemplo, HOOC-, alcoxycarbonilo o alquylcarbonilo], acilo [por ejemplo, (cicloalifático)carbonilo, ((cicloalifático)alifático)carbonilo, (aralifático)carbonilo, (heterocicloalifático)carbonilo, ((heterocicloalifático)alifático)carbonilo o (heteroaralifático)carbonilo], nitro, ciano, halo, hidroxilo, mercapto, sulfonilo [por ejemplo, alquylsulfonilo o arilsulfonilo], sulfinilo [por ejemplo, alquylsulfinilo], sulfanilo [por ejemplo, alquylsulfanilo], sulfoxi, urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, oxo o carbamoilo.

35

Un grupo "heteroarilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un anillo monocíclico, bicíclico, o tricíclico que tiene de 4 a 15 átomos en el anillo en donde uno o más de los átomos en el anillo es un heteroátomo (por ejemplo, N, O, S o combinaciones de los mismos) y en el que el sistema de anillos monocíclico es aromático o al menos uno de los anillos en los sistemas de anillos bicíclicos o tricíclicos es aromático. Un grupo heteroarilo incluye un sistema de anillo benzocondensado que tiene de 2 a 3 anillos. Por ejemplo, un grupo benzocondensado incluye benzocondensado con uno o dos restos heterocicloalifáticos de 4 a 8 miembros (por ejemplo, indolizilo, indolilo, isoindolilo, 3H-indolilo, indolinilo, benzo[b]furilo, benzo[b]tiofenoilo, quinolinilo o isoquinolinilo). Algunos ejemplos de heteroarilo son azetidino, piridilo, 1H-indolilo, furilo, pirrolilo, tienilo, tiazolilo, oxazolilo, imidazolilo, tetrazolilo, benzofurilo, isquinolinilo, benzotiazolilo, xanteno, tioxanteno, fenotiazina, dihidroindol, benzo[1,3]dioxol, benzo[b]furilo, benzo[b]tiofenilo, indazolilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, purilo, cinnolilo, quinolilo, quinazolilo, cinnolilo, ftalazilo, quinazolilo, quinoxalilo, isoquinolilo, 4H-quinolizilo, benzo-1,2,5-tiadiazolilo o 1,8-naftiridilo.

Sin limitación, los heteroarilos monocíclicos incluyen furilo, tiofenilo, 2H-pirrolilo, pirrolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, pirazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, 1,3,4-tiadiazolilo, 2H-pirano, 4H-pirano, piridilo, piridazilo, pirimidilo, pirazolilo, pirazilo o 1,3,5-triazilo. Los heteroarilos monocíclicos se numeran de acuerdo con la nomenclatura química normalizada.

Sin limitación, los heteroarilos bicíclicos incluyen indolizilo, indolilo, isoindolilo, 3H-indolilo, indolinilo, benzo[b]furilo, benzo[b]tiofenilo, quinolinilo, isoquinolinilo, indolizilo, isoindolilo, indolilo, benzo[b]furilo, benzo[b]tiofenilo, indazolilo, bencimidazilo, benzotiazolilo, purinilo, 4H-quinolizilo, quinolilo, isoquinolilo, cinnolilo, ftalazilo, quinazolilo, quinoxalilo, 1,8-naftiridilo o pteridilo. Los heteroarilos bicíclicos se numeran de acuerdo con la nomenclatura química normalizada.

Un heteroarilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, tales como alifático [por ejemplo, alquilo, alqueno o alquino]; cicloalifático; (cicloalifático)alifático; heterocicloalifático; (heterocicloalifático)alifático; arilo; heteroarilo; alcoxi; (cicloalifático)oxi; (heterocicloalifático)oxi; ariloxi; heteroariloxi; (aralifático)oxi; (heteroaralifático)oxi; aroilo; heteroarilo; amino; oxo (en un anillo carbocíclico o heterocíclico no aromático de un heteroarilo cíclico o tricíclico); carboxi; amido; acilo [por ejemplo, carbonilo alifático; (cicloalifático)carbonilo; ((cicloalifático)alifático)carbonilo; (aralifático)carbonilo; (heterocicloalifático)carbonilo; ((heterocicloalifático)alifático)carbonilo; o (heteroaralifático)carbonilo]; sulfonilo [por ejemplo, sulfonilo o aminosulfonilo alifático]; sulfinilo [por ejemplo, sulfinilo alifático]; sulfanilo [por ejemplo, sulfanilo alifático]; nitro; ciano; halo; hidroxilo; mercapto; sulfoxi; urea; tiourea; sulfamoilo; sulfamida; o carbamoilo. Como alternativa, un heteroarilo puede estar sin

65

sustituir.

Los ejemplos no limitantes de heteroarilos sustituidos incluyen (halo)heteroarilo [por ejemplo, mono- y di-(halo)heteroarilo]; (carboxi)heteroarilo [por ejemplo, (alcoxicarbonil)heteroarilo]; cianoheteroarilo; aminoheteroarilo [por ejemplo, ((alquilsulfonil)amino)heteroarilo y ((dialquil)amino)heteroarilo]; (amido)heteroarilo [por ejemplo, aminocarbonilheteroarilo, ((alquilcarbonil)amino)heteroarilo, (((alquil)amino)alquil)aminocarbonilheteroarilo, (((heteroaril)amino)carbonil)heteroarilo, ((heterocicloalifático)carbonil)heteroarilo y ((alquilcarbonil)amino)heteroarilo]; (cianoalquil)heteroarilo; (alcoxi)heteroarilo; (sulfamoil)heteroarilo [por ejemplo, (aminosulfonil)heteroarilo]; (sulfonil)heteroarilo [por ejemplo, (alquilsulfonil)heteroarilo]; (hidroxialquil)heteroarilo; (alcoxialquil)heteroarilo; (hidroxi)heteroarilo; ((carboxi)alquil)heteroarilo; (((dialquil)amino)alquil)heteroarilo; (heterocicloalifático)heteroarilo; (cicloalifático)heteroarilo; (nitroalquil)heteroarilo; (((alquilsulfonil)amino)alquil)heteroarilo; ((alquilsulfonil)alquil)heteroarilo; (cianoalquil)heteroarilo; (acil)heteroarilo [por ejemplo, (alquilcarbonil)heteroarilo]; (alquil)heteroarilo; o (haloalquil)heteroarilo [por ejemplo, trihaloalquilheteroarilo].

Un "heteroaralifático" (tal como un grupo heteroaralquilo) como se usa en el presente documento, se refiere a grupo alifático (por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₄) que está sustituido con un grupo heteroarilo. "Alifático", "alquilo" y "heteroarilo" se han definido anteriormente.

Un grupo "heteroaralquilo", como se usa en el presente documento, se refiere a un grupo alquilo (por ejemplo, un grupo alquilo C₁₋₄) que está sustituido con un grupo heteroarilo. Tanto "alquilo" como "heteroarilo" se han definido anteriormente. Un heteroaralquilo está opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como alquilo (incluyendo carboxialquilo, hidroxialquilo y haloalquilo tal como trifluorometilo), alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterocicloalquilo, (heterocicloalquil)alquilo, arilo, heteroarilo, alcoxi, cicloalquiloxi, heterocicloalquiloxi, ariloxi, heteroariloxi, aralquiloxi, heteroaralquiloxi, aroilo, heteroaróilo, nitro, carboxi, alcoxicarbonilo, alquilcarboniloxi, aminocarbonilo, alquilcarbonilamino, cicloalquilcarbonilamino, (cicloalquilalquil)carbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (heterocicloalquilalquil)carbonilamino, heteroarilcarbonilamino, heteroaralquilcarbonilamino, ciano, halo, hidroxilo, acilo, mercapto, alquilsulfanilo, sulfoxi, urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, oxo o carbamoilo.

Como se usa en el presente documento, "resto cíclico" y "grupo cíclico" se refieren a sistemas de anillos monocíclicos, bicíclicos, y tricíclicos incluyendo cicloalifático, heterocicloalifático, arilo o heteroarilo, cada uno de los cuales se ha definido anteriormente.

Como se usa en el presente documento, un "sistema de anillo bicíclico puenteado" se refiere a un sistema de anillo alifático heterocíclico bicíclico o sistema de anillo cicloalifático bicíclico en el que los anillos están puenteados. Los ejemplos de sistemas de anillo bicíclico puenteado incluyen, pero sin limitación, adamantanilo, norbomanilo, biciclo[3.2.1]octilo, biciclo[2.2.2]octilo, biciclo[3.3.1]nonilo, biciclo[3.3.2]decilo, 2-oxabicyclo[2.2.2]octilo, 1-azabicyclo[2.2.2]octilo, 3-azabicyclo[3.2.1]octilo y 2,6-dioxo-triciclo[3.3.1.0^{3,7}]nonilo. Un sistema de anillo bicíclico puenteado puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes tales como alquilo (incluyendo carboxialquilo, hidroxialquilo y haloalquilo tal como trifluorometilo), alquenilo, alquinilo, cicloalquilo, (cicloalquil)alquilo, heterocicloalquilo, (heterocicloalquil)alquilo, arilo, heteroarilo, alcoxi, cicloalquiloxi, heterocicloalquiloxi, ariloxi, heteroariloxi, aralquiloxi, heteroaralquiloxi, aroilo, heteroaróilo, nitro, carboxi, alcoxicarbonilo, alquilcarboniloxi, aminocarbonilo, alquilcarbonilamino, cicloalquilcarbonilamino, (cicloalquilalquil)carbonilamino, arilcarbonilamino, aralquilcarbonilamino, (heterocicloalquil)carbonilamino, (heterocicloalquilalquil)carbonilamino, heteroarilcarbonilamino, heteroaralquilcarbonilamino, ciano, halo, hidroxilo, acilo, mercapto, alquilsulfanilo, sulfoxi, urea, tiourea, sulfamoilo, sulfamida, oxo o carbamoilo.

Como se usa en el presente documento, un grupo "acilo" se refiere a un grupo formilo o R^x-C(O)- (tal como alquil-C(O)-, también denominado "alquilcarbonilo") donde R^x y "alquilo" se han definido previamente. Acetilo y pivaloilo son ejemplos de grupos acilo.

Como se usa en el presente documento, un "aroilo" o "heteroaróilo" se refiere a un arilo-C(O)- o un heteroarilo-C(O)-. La porción de arilo y heteroarilo del aroilo o heteroaróilo está opcionalmente sustituida como se ha definido anteriormente.

Como se usa en el presente documento, un grupo "alcoxi" se refiere a un grupo alquilo-O- donde "alquilo" se ha definido anteriormente.

Como se usa en el presente documento, un grupo "carbamoilo" se refiere a un grupo que tiene la estructura -O-CO-NR^xR^y o -NR^x-CO-O-R^z, en donde R^x y R^y se han definido anteriormente y R^z puede ser alifático, arilo, aralifático, heterocicloalifático, heteroarilo o heteroaralifático.

Como se usa en el presente documento, un grupo "carboxi" se refiere a -COOH, -COOR^x, -OC(O)H, -OC(O)R^x, cuando se usa como grupo terminal; o -OC(O)- o -C(O)O- cuando se usa como un grupo interno.

Como se usa en el presente documento, un grupo "haloalifático" se refiere a un grupo alifático sustituido con 1-3

halógenos. Por ejemplo, el término haloalquilo incluye los grupos $-\text{CF}_3$, $-\text{CHF}_2$ y $-\text{CH}_2\text{F}$.

Como se usa en el presente documento, un grupo "mercapto" se refiere a $-\text{SH}$.

- 5 Como se usa en el presente documento, un grupo "sulfo" se refiere a $-\text{SO}_3\text{H}$ o $-\text{SO}_3\text{R}^X$ cuando se usa terminalmente o $-\text{S}(\text{O})_3-$ cuando se usa internamente.

Como se usa en el presente documento, un grupo "sulfamida" se refiere a la estructura $-\text{NR}^X-\text{S}(\text{O})_2-\text{NR}^Y\text{R}^Z$ cuando se usa terminalmente y $-\text{NR}^X-\text{S}(\text{O})_2-\text{NR}^Y$ cuando se usa internamente, en donde R^X , R^Y y R^Z se han definido anteriormente.

- 10 Como se usa en el presente documento, un grupo "sulfamoilo" se refiere a la estructura $-\text{O}-\text{S}(\text{O})_2\text{NR}^Y\text{R}^Z$ en donde R^Y y R^Z se han definido anteriormente.

- 15 Como se usa en el presente documento, un grupo "sulfonamida" se refiere a la estructura $-\text{S}(\text{O})_2-\text{NR}^X\text{R}^Y$ o $-\text{NR}^X-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}^Z$ cuando se usa terminalmente; o $-\text{S}(\text{O})_2-\text{NR}^X-$ o $-\text{NR}^X-\text{S}(\text{O})_2-$ cuando se usa internamente, en donde R^X , R^Y y R^Z se han definido anteriormente.

- 20 Como se usa en el presente documento, un grupo "sulfanilo" se refiere a $-\text{S}-\text{R}^X$ cuando se usa terminalmente y $-\text{S}-$ cuando se usa internamente, en donde R^X se ha definido anteriormente. Los ejemplos de sulfanilos incluyen alifático-S-, cicloalifático-S-, aril-S- o similares.

- 25 Como se usa en la presente memoria un grupo "sulfnilo" se refiere a $-\text{S}(\text{O})-\text{R}^X$ cuando se usa terminalmente y $-\text{S}(\text{O})-$ cuando se usa internamente, en donde R^X se ha definido anteriormente. Los grupos sulfnilo de ejemplo incluyen alifático-S(O)-, aril-S(O)-, (cicloalifático(alifático))-S(O)-, cicloalquil-S(O)-, heterocicloalifático-S(O)-, heteroaril-S(O)- o similares.

- 30 Como se usa en el presente documento, un grupo "sulfonilo" se refiere a $-\text{S}(\text{O})_2-\text{R}^X$ cuando se usa terminalmente y $-\text{S}(\text{O})_2-$ cuando se usa internamente, en donde R^X se ha definido anteriormente. Los grupos sulfonilo de ejemplo incluyen alifático-S(O)₂-, aril-S(O)₂-, (cicloalifático(alifático))-S(O)₂-, cicloalifático-S(O)₂-, heterocicloalifático-S(O)₂-, heteroaril-S(O)₂-, (cicloalifático(amido(alifático)))-S(O)₂- o similares.

Como se usa en el presente documento, un grupo "sulfoxi" se refiere a $-\text{O}-\text{S}(\text{O})-\text{R}^X$ o $-\text{S}(\text{O})-\text{O}-\text{R}^X$, cuando se usa terminalmente y $-\text{O}-\text{S}(\text{O})-$ o $-\text{S}(\text{O})-\text{O}-$ cuando se usa internamente, donde R^X se ha definido anteriormente.

- 35 Como se usa en el presente documento, un grupo "halógeno" o "halo" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

Como se usa en el presente documento, un "alcoxicarbonilo", que está incluido en el término carboxi, utilizado solo o junto con otro grupo se refiere a un grupo tal como alquil-O-C(O)-.

- 40 Como se usa en el presente documento, un "alcoxialquilo" se refiere a un grupo alquilo tal como alquil-O-alquil-, en donde el alquilo se ha definido anteriormente.

Como se usa en el presente documento, un "carbonilo" se refiere a $-\text{C}(\text{O})-$.

- 45 Como se usa en el presente documento, un "oxo" se refiere a $=\text{O}$.

Como se usa en el presente documento, el término "fosfo" se refiere a fosfinatos y fosfonatos. Los ejemplos de fosfinatos y fosfonatos incluyen $-\text{P}(\text{O})(\text{R}^P)_2$, en donde R^P es alifático, alcoxi, ariloxi, heteroariloxi, (cicloalifático)oxi, (heterocicloalifático)oxi arilo, heteroarilo, cicloalifático o amino.

- 50 Como se usa en el presente documento, un "aminoalquilo" se refiere a la estructura $(\text{R}^X)_2\text{N}-\text{alquil}-$.

Como se usa en el presente documento, un "cianoalquilo" se refiere a la estructura $(\text{NC})-\text{alquil}-$.

- 55 Como se usa en el presente documento, un grupo "urea" se refiere a la estructura $-\text{NR}^X-\text{CO}-\text{NR}^Y\text{R}^Z$ y un grupo "tiourea" se refiere a la estructura $-\text{NR}^X-\text{CS}-\text{NR}^Y\text{R}^Z$ cuando se usa terminalmente y $-\text{NR}^X-\text{CO}-\text{NR}^Y-$ o $-\text{NR}^X-\text{CS}-\text{NR}^Y-$ cuando se usa internamente, en donde R^X , R^Y y R^Z se han definido anteriormente.

- 60 Como se usa en el presente documento, un grupo "guanidina" se refiere a la estructura $-\text{N}=\text{C}(\text{N}(\text{R}^X\text{R}^Y))\text{N}(\text{R}^X\text{R}^Y)$ o $-\text{NR}^X-\text{C}(=\text{NR}^X)\text{NR}^X\text{R}^Y$ en donde R^X y R^Y se han definido anteriormente.

Como se usa en el presente documento, el término grupo "amidino" se refiere a la estructura $-\text{C}=(\text{NR}^X)\text{N}(\text{R}^X\text{R}^Y)$ en donde R^X y R^Y se han definido anteriormente.

- 65 En general, el término "vecinal" se refiere a la colocación de sustituyentes en un grupo que incluye dos o más átomos de carbono, en donde los sustituyentes se unen a los átomos de carbono adyacentes.

En general, el término "geminal" se refiere a la colocación de sustituyentes en un grupo que incluye dos o más átomos de carbono, en donde los sustituyentes se unen al mismo átomo de carbono.

- 5 Los términos "terminalmente" e "internamente" se refieren a la localización de un grupo en un sustituyente. Un grupo es terminal cuando el grupo que está presente al extremo del sustituyente no está unido al resto de la estructura química. Carboxialquilo, es decir, $R^XO(O)C$ -alquilo, es un ejemplo de un grupo carboxi utilizado terminalmente. Un grupo es interno cuando el grupo está presente en la parte intermedia de un sustituyente de la estructura química. Alquilcarboxi (por ejemplo, alquil- $C(O)O$ - o alquil- $OC(O)$ -) y alquilcarboxiarilo (por ejemplo, alquil- $C(O)O$ -arilo- o alquil- $O(CO)$ -arilo-) son ejemplos de grupos carboxi utilizados internamente.

- 15 Como se usa en el presente documento, una "cadena alifática" se refiere a un grupo alifático de cadena lineal o ramificada (por ejemplo, grupos alquilo, grupos alquenilo o grupos alquinilo). En algunos ejemplos, una cadena alifática lineal tiene la estructura $-[CH_2]_v-$, donde v es 1-12. En algunos ejemplos, una cadena alifática ramificada es una cadena alifática lineal que está sustituida con uno o más grupos alifáticos. Una cadena alifática ramificada tiene la estructura $-[CQQ]_v$, donde Q es independientemente un hidrógeno o un grupo alifático; sin embargo, Q será un grupo alifático en al menos un caso. La expresión cadena alifática incluye cadenas de alquilo, cadenas de alquenilo y cadenas de alquinilo, donde alquilo, alquenilo y alquinilo se han definido anteriormente.

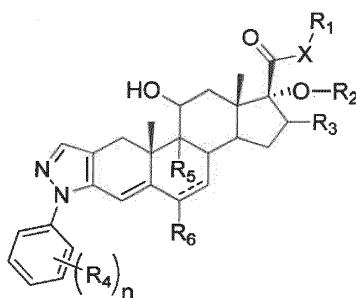
- 20 La expresión "opcionalmente sustituido" se usa de manera indistinta con la expresión "sustituido o sin sustituir". Como se describe en el presente documento, los compuestos de la invención pueden estar opcionalmente sustituidos con uno o más sustituyentes, tales como los que se han ilustrado en general, o como se ejemplifican por las clases, subclases y especies particulares de la invención. Como se describe en el presente documento, las variables R_1 , R_2 , R_3 , R_4 , R_5 , R_6 y X , y otras variables contenidas en las fórmulas descritas en el presente documento abarcan grupos específicos, tales como alquilo y arilo. A menos que se señale otra cosa, cada uno de los grupos específicos para las variables puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes descritos en el presente documento. Cada sustituyente de un grupo específico está además opcionalmente sustituido con uno a tres de halo, ciano, oxo, alcoxi, hidroxí, amino, nitro, arilo, cicloalifático, heterocicloalifático, heteroarilo, haloalquilo y alquilo. Por ejemplo, un grupo alquilo puede estar sustituido con alquilsulfanilo y el alquilsulfanilo puede estar opcionalmente sustituido con uno a tres de halo, ciano, oxo, alcoxi, hidroxí, amino, nitro, arilo, haloalquilo y alquilo. Como un ejemplo adicional, la porción cicloalquilo de un (cicloalquil)carbonilamino puede estar opcionalmente sustituida con uno a tres de halo, ciano, alcoxi, hidroxí, nitro, haloalquilo y alquilo. Cuando dos grupos alcoxi están unidos al mismo átomo o átomos adyacentes, los dos grupos alcoxi pueden formar un anillo junto con el átomo o átomos a los que están unidos.

- 35 En general, el término "sustituido", esté precedido o no por el término "opcionalmente", se refiere al reemplazo de radicales hidrógeno en una estructura dada por el radical de un sustituyente especificado. Los sustituyentes específicos se han descrito anteriormente en las definiciones y a continuación en la descripción de los compuestos y ejemplos de los mismos. A menos que se indique otra cosa, un grupo opcionalmente sustituido puede tener un sustituyente en cada posición sustituible del grupo, y cuando más de una posición en una estructura dada puede estar sustituida con más de un sustituyente seleccionado entre un grupo especificado, el sustituyente puede ser igual o diferente en cada posición. Un sustituyente de anillo, tal como un heterocicloalquilo, puede estar unido a otro anillo, tal como un cicloalquilo, para formar un sistema de anillo espirobicíclico, por ejemplo, ambos anillos comparten un átomo común.

- 45 Asimismo, a menos que se indique lo contrario, las estructuras presentadas en el presente documento también pretenden incluir los compuestos que difieren únicamente en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras, excepto por la sustitución de hidrógeno por deuterio o tritio, o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido ^{13}C o ^{14}C , están comprendidos dentro del alcance de la presente invención. Dichos compuestos son útiles, por ejemplo, como herramientas o sondas analíticas en ensayos biológicos, o como agentes terapéuticos.

II. COMPUESTOS

- 55 En el presente documento se describe, sin formar parte de la invención actualmente reivindicada, un compuesto de Fórmula I:



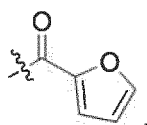
I

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde

- 5 X es -O- o -S-;
 ----- es un enlace o está ausente;
 R₁ se selecciona entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo o heterocicloalquilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido;
 10 R₂ es -L-R'- en donde L es un enlace o -C(O)- y R' se selecciona entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, aralquilo, heteroaralquilo o heterocicloalquilo, en donde R' está opcionalmente sustituido;
 R₃ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido;
 cada R₄ se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, -OH, halo, haloalquilo, -CN, -NO₂, -C(O)(alquilo C₁₋₆), -NHC(O)(alquilo C₁₋₆), -OC(O)(alquilo C₁₋₆), -C(O)NH(alquilo C₁₋₆), -C(O)O(alquilo C₁₋₆), -SO₂(alquilo C₁₋₆) o -SO₂NH(alquilo C₁₋₆), en donde R₄ está opcionalmente sustituido;
 15 cada uno de R₅ y R₆ es independientemente hidrógeno, halo o alquilo C₁₋₄; y
 n es 0, 1, 2, 3, 4 o 5.

- Como se describe en el presente documento, R₁ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, cicloalquilo o arilo, en donde el alquilo, cicloalquilo o arilo está opcionalmente sustituido. Por ejemplo, R₁ es alquilo, cicloalquilo o arilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con halo. En otros ejemplos descritos en el presente documento, R₁ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆, en donde el alquilo C₁₋₆ está opcionalmente sustituido con 1-3 halo. Y, en algunos ejemplos, R₁ es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo o *terc*-butilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con 1-3 halo. Por ejemplo, R₁ es fluorometilo. En otros ejemplos descritos en el presente documento, R₁ es alquilo C₁₋₆ sin sustituir. Por ejemplo, R₁ es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo o *terc*-butilo. En algunos casos, R₁ es etilo.
 25 En algunos casos, R₁ es isopropilo. En algunos casos, R₁ es *terc*-butilo. En algunos casos, R₁ es hidrógeno. Como se describe además en el presente documento, R₁ es un cicloalquilo de 3-7 miembros opcionalmente sustituido, fenilo o naftilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido.

- Como también se describe en el presente documento, L es -C(O)- y R' es hidrógeno, alquilo C₁₋₆, aralquilo, heteroarilo o heteroaralquilo, en donde R₂ está opcionalmente sustituido con halo, CN, carboxilo u oxo. Por ejemplo, L es -C(O)- y R₂ es heteroarilo. En otros ejemplos, R₂ es



- 35 Como se describe en el presente documento, R₃ es alquilo C₁₋₆ opcionalmente sustituido. Por ejemplo, R₃ es metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo o *terc*-butilo, cualquiera de los cuales opcionalmente sustituido. En otros ejemplos, R₃ es hidrógeno.

- Como también se describe en el presente documento, R₄ se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, -OH, halo, -CN, -NO₂, -C(O)(alquilo C₁₋₆), -NHC(O)(alquilo C₁₋₆), -OC(O)(alquilo C₁₋₆), -C(O)NH(alquilo C₁₋₆) o -C(O)O(alquilo C₁₋₆), en donde el grupo alquilo de R₄ está opcionalmente sustituido con halo, -CN, carboxilo u oxo. En algunos ejemplos, cada R₄ se selecciona independientemente entre hidrógeno, alquilo C₁₋₆, halo, -CN, -NO₂, -C(O)(alquilo C₁₋₆), -C(O)NH(alquilo C₁₋₆) o -C(O)O(alquilo C₁₋₆), en donde el grupo alquilo de R₄ está opcionalmente sustituido con halo, carboxilo u oxo. Y, en algunos ejemplos, cada R₄ es independientemente hidrógeno, alquilo C₁₋₆ o halo. En otros ejemplos descritos en el presente documento, cada R₄ es hidrógeno.
 45

Como se describe en el presente documento, R₄ es hidrógeno y R₁ es hidrógeno, alquilo C₁₋₆ o haloalquilo.

Como también se describe en el presente documento, n es 0, 1 o 2. Por ejemplo, n es 0.

50

Como se describe además en el presente documento, X es -O-.

Como se describe en el presente documento, X es -S-.

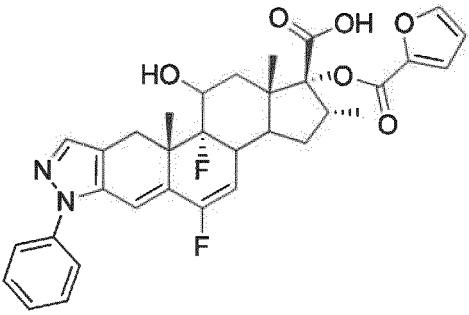
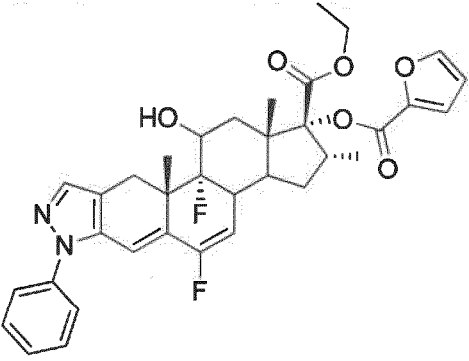
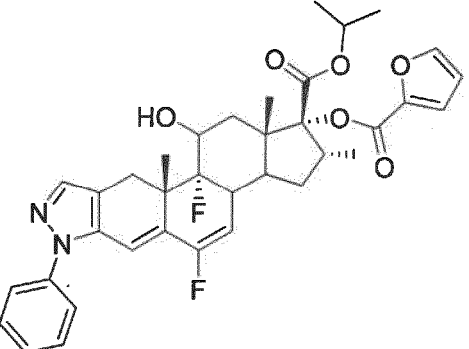
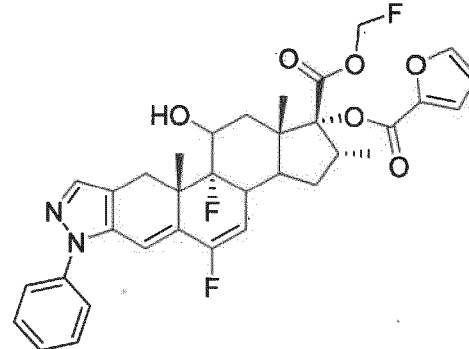
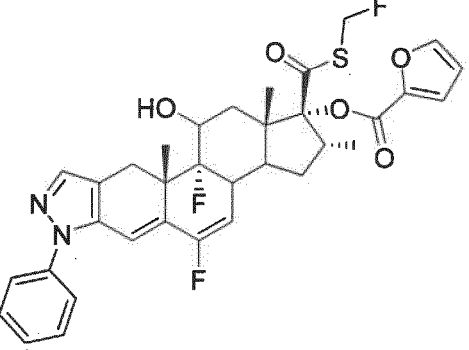
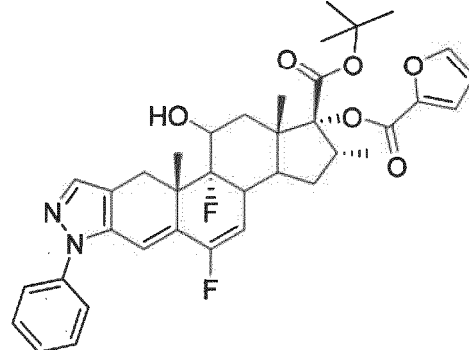
5 Como también se describe en el presente documento, ----- es un enlace.

Como se describe además en el presente documento, ----- está ausente.

10 Como se describe en el presente documento, R₅ y R₆ son cada uno independientemente hidrógeno o halo. Por ejemplo, R₅ y R₆ son ambos -F.

De acuerdo con la invención, el compuesto se selecciona entre los compuestos 4 y 5 de la Tabla 1, a continuación. Los compuestos 1, 2, 3 y 6 que se muestran en la Tabla 1 a continuación no forman parte de la invención.

15 Tabla 1: Compuestos de fórmula I.

1	2
	
3	4
	
5	6
	

En un aspecto de la presente invención, se proporcionan composiciones farmacéuticamente aceptables, en donde estas composiciones comprenden el compuesto 4 o el compuesto 5 descritos en el presente documento y opcionalmente comprenden un portador o adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. Como se describe en el presente documento, estas composiciones comprenden además opcionalmente uno o más agentes terapéuticos adicionales.

Como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales que son, dentro del ámbito del buen criterio médico, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos o animales inferiores sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, y son acordes con una relación beneficio/riesgo razonable. Una "sal farmacéuticamente aceptable" significa cualquier sal no tóxica de un compuesto de la presente invención que, tras su administración a un receptor, es capaz de proporcionar, ya sea directa o indirectamente, un compuesto de la presente invención o un metabolito con actividad inhibidora o un resto del mismo.

Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, S. M. Berge, *et al.* describen con detalle sales farmacéuticamente aceptables en J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66, 1-19. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen las obtenidas a partir de ácidos y bases inorgánicas y orgánicas adecuadas. Son ejemplos de sales de adición de ácidos no tóxicas farmacéuticamente aceptables las sales de un grupo amino formadas con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido perclórico, o con ácidos orgánicos, tales como ácido acético, ácido oxálico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido succínico o ácido malónico, o usando otros métodos utilizados en la técnica, tales como el intercambio iónico.

Otras sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales adipato, alginato, ascorbato, aspartato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, citrato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, edisilato (etanodisulfonato), etanosulfonato, formiato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, gluconato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, yodhidrato, 2-hidroxi-etanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, *p*-toluenosulfonato, undecanoato, valerato y similares. Las sales derivadas de bases adecuadas incluyen sales de metales alcalinos, metales alcalinotérreos, amonio y $N^+(\text{alquilo } C_{1-4})_4$. La presente invención también prevé la cuaternización de cualquier grupo básico que contenga nitrógeno de los compuestos desvelados en el presente documento. Pueden obtenerse productos solubles o dispersables en agua o aceite mediante dicha cuaternización. Las sales de metales alcalinos o alcalinotérreos representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares. Las sales farmacéuticamente aceptables adicionales incluyen, cuando sea adecuado, amonio no tóxico, amonio cuaternario y cationes de amina formados usando contraiones, tales como haluro, hidróxido, carboxilato, sulfato, fosfato, nitrato, sulfonato de alquilo inferior y sulfonato de arilo.

Como se ha descrito anteriormente, las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención comprenden adicionalmente un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable, que, como se usa en el presente documento, incluye todos y cada uno de los disolventes, diluyentes u otro vehículo líquido, adyuvantes de dispersión o suspensión, agentes tensioactivos, agentes isotónicos, agentes espesantes o emulsionantes, conservantes, aglutinantes sólidos, lubricantes y similares, según sea adecuado para la forma farmacéutica particular deseada. Remington's Pharmaceutical Sciences, decimosexta edición, E. W. Martin (Mack Publishing Co., Easton, Pa., 1980) desvela diversos portadores utilizados en la formulación de composiciones farmacéuticamente aceptables y técnicas conocidas para la preparación de los mismos. Excepto en la medida en que cualquier medio transportador convencional sea incompatible con los compuestos de la invención, tal como mediante la producción de cualquier efecto biológico indeseable o la interacción de otro modo de manera perjudicial con cualquier otro componente o componentes de la composición farmacéuticamente aceptable, su uso se desvela en el presente documento.

Algunos ejemplos de materiales que pueden actuar como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen, pero sin limitación, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas, tales como albúmina de suero humano, sustancias tamponantes tales como fosfatos, glicina, ácido sórbico o sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos, tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato disódico, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, poliácridatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxipropileno, lanolina, azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón; aceite de cártamo; aceite de sésamo; aceite de oliva; aceite de maíz y aceite de soja; glicoles; tales como propilenglicol o polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua apirógena; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico y soluciones de tampón de fosfato, así como otros lubricantes compatibles no tóxicos, tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes también pueden estar presentes en la composición, de acuerdo con el

criterio del formulador.

IV. USO Y ADMINISTRACIÓN DE LOS COMPUESTOS

- 5 En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2 para su uso en un método de tratamiento o disminución de la gravedad de una enfermedad inflamatoria en un paciente. También se describe en el presente documento, sin formar parte de la presente invención, un método de tratamiento o disminución de la gravedad de una enfermedad inflamatoria en un sujeto, comprendiendo el método administrar al
- 10 sujeto una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto de Fórmula I, preferentemente un mamífero, que lo necesite.

- También se describe en el presente documento, sin formar parte de la presente invención, un método de tratamiento o disminución de la gravedad de una afección, enfermedad o trastorno que implica el receptor de glucocorticoides. Se describe además en el presente documento, sin formar parte de la presente invención, un método para tratar una afección, enfermedad o trastorno que implica una deficiencia de la actividad del receptor de glucocorticoides, comprendiendo el método administrar una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto de
- 15 Fórmula I a un sujeto, preferentemente un mamífero, que lo necesite. También se describe en el presente documento, sin formar parte de la presente invención, un método de tratamiento de una afección, enfermedad o trastorno inflamatorio en un sujeto, en donde el sujeto tiene una actividad normal del receptor de glucocorticoides, comprendiendo el método administrar una cantidad eficaz de una composición que comprende un compuesto de
- 20 Fórmula I a un sujeto, preferentemente un mamífero, que lo necesite.

- En otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2 para su uso en un método de tratamiento o disminución de la gravedad de una enfermedad inflamatoria en un paciente, en donde la enfermedad se selecciona entre asma, artritis, lupus, enfermedad de Crohn, enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedad celíaca, glomerulonefritis, acné vulgar, leucemia y cáncer de páncreas.
- 25

- De acuerdo con la invención una "cantidad eficaz" del compuesto o composición farmacéuticamente aceptable es aquella cantidad eficaz para tratar o disminuir la gravedad de una o más de las enfermedades, trastornos o afecciones citados anteriormente.
- 30

- Los compuestos y composiciones, para el uso de la presente invención, pueden administrarse usando cualquier cantidad y cualquier vía de administración eficaz para tratar o disminuir la gravedad de una o más de las enfermedades, trastornos o afecciones citados anteriormente.
- 35

- La cantidad exacta necesaria variará entre sujetos, dependiendo de la especie, la edad y el estado general del sujeto, la gravedad de la infección, el agente particular, su modo de administración y similares. Los compuestos de la invención se formulan preferentemente en forma farmacéutica unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La expresión "forma farmacéutica unitaria", como se usa en el presente documento, se refiere a una unidad físicamente concreta de agente adecuada para el paciente para tratar. Se entenderá, sin embargo, que el uso diario total de los compuestos y composiciones de la presente invención será decidido por el médico tratante dentro del alcance del buen criterio médico. El nivel específico de dosis eficaz para cualquier paciente u organismo en particular dependerá de diversos factores, incluyendo el trastorno que se trate y la gravedad del trastorno; la actividad del compuesto específico empleado; la composición específica empleada; la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo y la dieta del paciente; el momento de la administración, la vía de administración y la tasa de secreción del compuesto específico empleado; la duración del tratamiento; los fármacos utilizados en combinación o coincidiendo con el compuesto específico empleado y factores similares bien conocidos en las técnicas médicas. El término
- 40 "paciente", como se usa en el presente documento, significa un animal, preferentemente un mamífero y mucho más preferentemente, un ser humano.
- 45
- 50

- Las composiciones farmacéuticamente aceptables de la presente invención pueden administrarse a seres humanos y otros animales por vía oral, por vía rectal, por vía parenteral, por vía intracisternal, por vía intravaginal, por vía intraperitoneal, por vía tópica (en forma de polvos, pomadas, gotas o parche), por vía bucal, en forma de un pulverizador oral o nasal o similares, dependiendo de la gravedad de la infección que se va a tratar. En determinadas realizaciones, los compuestos para el uso de acuerdo con la invención pueden administrarse por vía oral o por vía parenteral a niveles de dosificación de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg y preferentemente de aproximadamente 0,5 mg/kg a aproximadamente 25 mg/kg, del peso corporal del sujeto al día, una o más veces al
- 55
- 60

- Las formas farmacéuticas líquidas para la administración oral incluyen, pero sin limitación, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además de los compuestos activos, las formas farmacéuticas líquidas pueden contener diluyentes inertes utilizados habitualmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo,
- 65

propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, cacahuete, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfúrico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitano, y mezclas de los mismos. Además de diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, aromatizantes y perfumantes.

Las preparaciones inyectables, por ejemplo, suspensiones acuosas u oleosas inyectables estériles pueden formularse de acuerdo con la técnica conocida utilizando agentes dispersantes o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, suspensión o emulsión inyectable estéril en un diluyente o disolvente atóxico por vía parenteral aceptable, por ejemplo, en forma de una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse se encuentran agua, solución de Ringer, U.S.P. y solución de cloruro de sodio isotónica. Además, normalmente se emplean aceites no volátiles estériles como disolvente o medio de suspensión. Para este fin, puede emplearse cualquier aceite no volátil suave, incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, se usan ácidos grasos tales como ácido oleico en la preparación de inyectables.

Las formulaciones inyectables pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias o mediante incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril u otro medio inyectable estéril antes de su uso.

Para prolongar el efecto de un compuesto de la presente invención, es deseable con frecuencia ralentizar la absorción del compuesto de inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo con escasa solubilidad en agua. La velocidad de absorción del compuesto depende entonces de su velocidad de disolución que, a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Como alternativa, se realiza absorción retardada de una forma de compuesto administrado por vía parenteral disolviendo o suspendiendo el compuesto en un vehículo de aceite. Las formas de depósito inyectables se preparan formando matrices microencapsuladas del compuesto en polímeros biodegradables tales como polilactida-policlicólido. Dependiendo de la relación de compuesto con respecto a polímero y de la naturaleza del polímero particular empleado, puede controlarse la velocidad de liberación del compuesto. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). También se preparan formulaciones de depósito inyectables atrapado el compuesto en liposomas o microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

Las composiciones para la administración rectal o vaginal son, preferentemente, supositorios que pueden prepararse mezclando los compuestos de la presente invención con excipientes o portadores adecuados no irritantes tales como manteca de cacao, polietilenglicol o una cera para supositorios que son sólidos a temperatura ambiente pero líquidos a temperatura corporal y, por lo tanto, se derriten en el recto o en la cavidad vaginal y liberan el compuesto activo.

Las formas farmacéuticas sólidas para la administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el compuesto activo se mezcla con al menos un excipiente o portador inerte, farmacéuticamente aceptable, tal como citrato de sodio o fosfato dicálcico y/o a) cargas o diluyentes tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido silícico, b) aglutinantes tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y goma arábiga, c) humectantes tales como glicerol, d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato de sodio, e) agentes retardantes de la solución tales como parafina, f) aceleradores de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario, g) agentes humectantes tales como, por ejemplo, alcohol cetílico y monoestearato de glicerol, h) absorbentes, tales como caolín y arcilla bentonítica e i) lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, la forma farmacéutica también puede comprender agentes tamponantes.

También pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar lácteo, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. Opcionalmente, pueden contener agentes opacificantes y también pueden tener una composición que libere el principio o los principios activos solo, o preferentemente, en una parte determinada del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. También pueden emplearse composiciones sólidas de tipo similar como cargas en cápsulas de gelatina de cargadas blandas y duras usando excipientes tales como lactosa o azúcar lácteo, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Los compuestos activos también pueden estar en forma microencapsulada con uno o más excipientes como se ha señalado anteriormente. Las formas farmacéuticas sólidas de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden prepararse con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos de control de la liberación y otros recubrimientos bien conocidos en la técnica de la formulación farmacéutica. En dichas formas farmacéuticas sólidas, el compuesto activo puede mezclarse con al menos un diluyente inerte tal como sacarosa,

lactosa o almidón. Dichas formas farmacéuticas también pueden comprender, como es práctica normal, sustancias adicionales distintas de diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes para la formación de comprimidos y otros adyuvantes para la formación de comprimidos tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las formas farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponantes.

5 Opcionalmente, pueden contener agentes opacificantes y también pueden tener una composición que libere el principio o los principios activos solo, o preferentemente, en una parte determinada del tracto intestinal, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

10 Las formas farmacéuticas para la administración tópica o transdérmica de un compuesto de la presente invención incluyen pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, polvos, soluciones, pulverizadores, inhalantes o parches. El componente activo se mezcla en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable y cualquier conservante o tampón necesario, según sea necesario. Las formulaciones oftálmicas, gotas óticas y colirios también se contemplan dentro del alcance de la presente invención. Asimismo, la presente invención contempla los parches transdérmicos, que tienen la ventaja añadida de proporcionar un suministro controlado de un compuesto al organismo. 15 Dichas formas farmacéuticas se preparan disolviendo o dispensando el compuesto en el medio adecuado. También pueden usarse potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. La velocidad puede controlarse proporcionando una membrana de control de la velocidad o dispersando el compuesto en una matriz polimérica o gel.

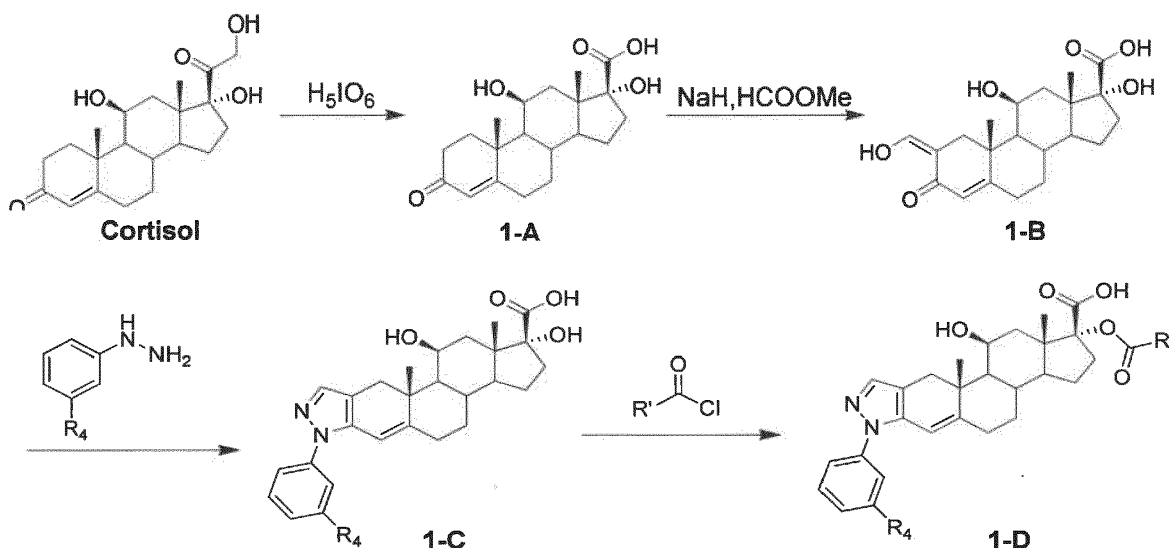
20 La actividad de un compuesto utilizado en la presente invención como modulador del receptor de glucocorticoides puede someterse a ensayo de acuerdo con los métodos descritos en general en la técnica y en los Ejemplos del presente documento.

25 V. Ejemplos

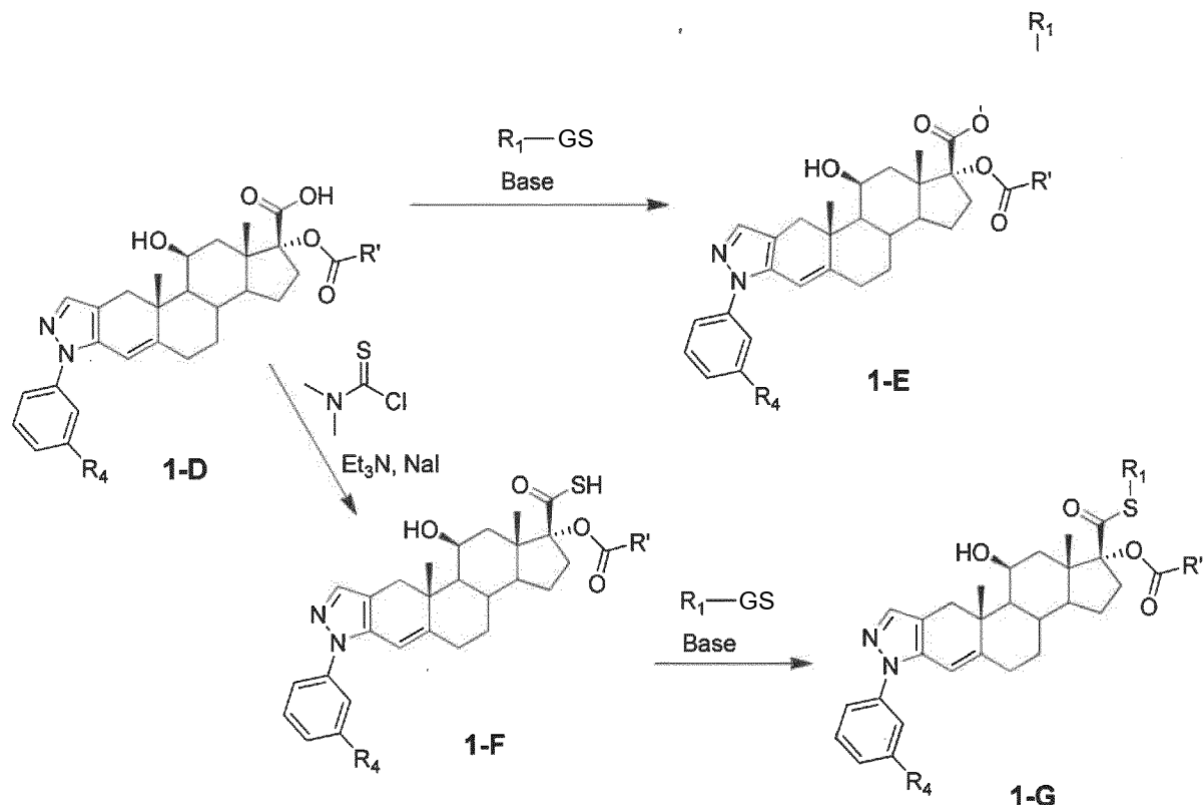
Los siguientes ejemplos son ejemplos de la presente invención en la medida en que se refieren a la preparación y el ensayo de los compuestos 4 o 5. En la medida en que los ejemplos no incluyan los compuestos 4 o 5, sólo tienen fines comparativos.

Esquemas de síntesis generales

Esquema 1:



Esquema 2:



- 5 Los esquemas 1 y 2 proporcionan síntesis sintéticas generales de compuestos de Fórmula 1-G a partir de Cortisol disponible en el mercado, en donde R_1 , R_4 y R' se han definido anteriormente. A partir del Esquema 1, la oxidación del Cortisol con un reactivo tal como el ácido peryódico proporciona un ácido carboxílico de Fórmula 1-A, que puede funcionalizarse adicionalmente en una fase posterior en la síntesis. Tratamiento de 1-A con una base y reactivo de aldehído, tal como condiciones de NaH/formiato de metilo proporciona un compuesto de Fórmula 1-B. El tratamiento
- 10 de 1-B con una fenilhidrazina opcionalmente sustituida (los Esquemas 1 y 2 muestran un sustituyente en la posición meta, por ejemplo) proporciona un compuesto de Fórmula 1-C. La funcionalización del sustituyente 17 α hidroxilo con un cloruro de acilo de la estructura R'



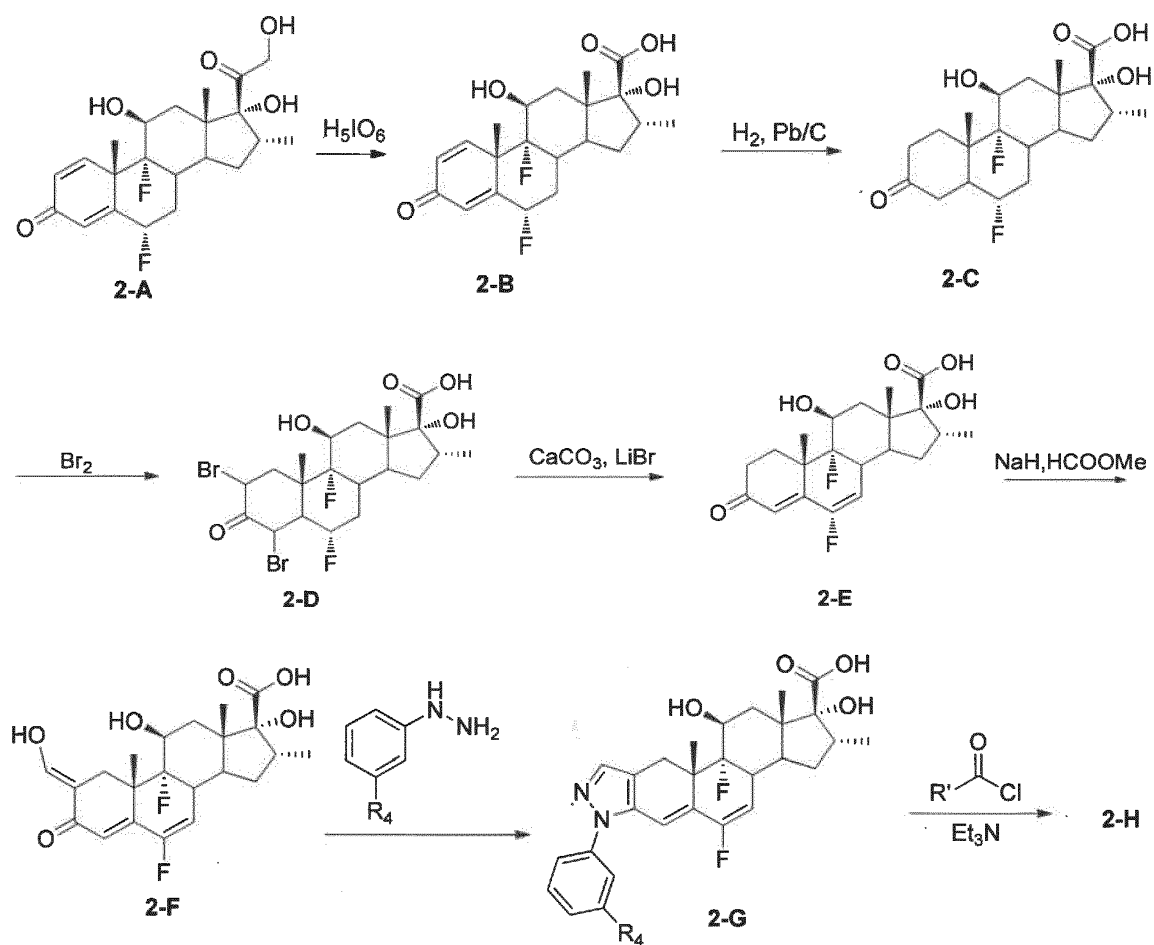
- 15 proporciona un compuesto de Fórmula 1-D.

El Esquema 2 proporciona una síntesis general con respecto a la funcionalización del resto de ácido carboxílico de un compuesto de Fórmula 1-D. Para obtener un éster, un compuesto de Fórmula 1-D puede tratarse con una base y un

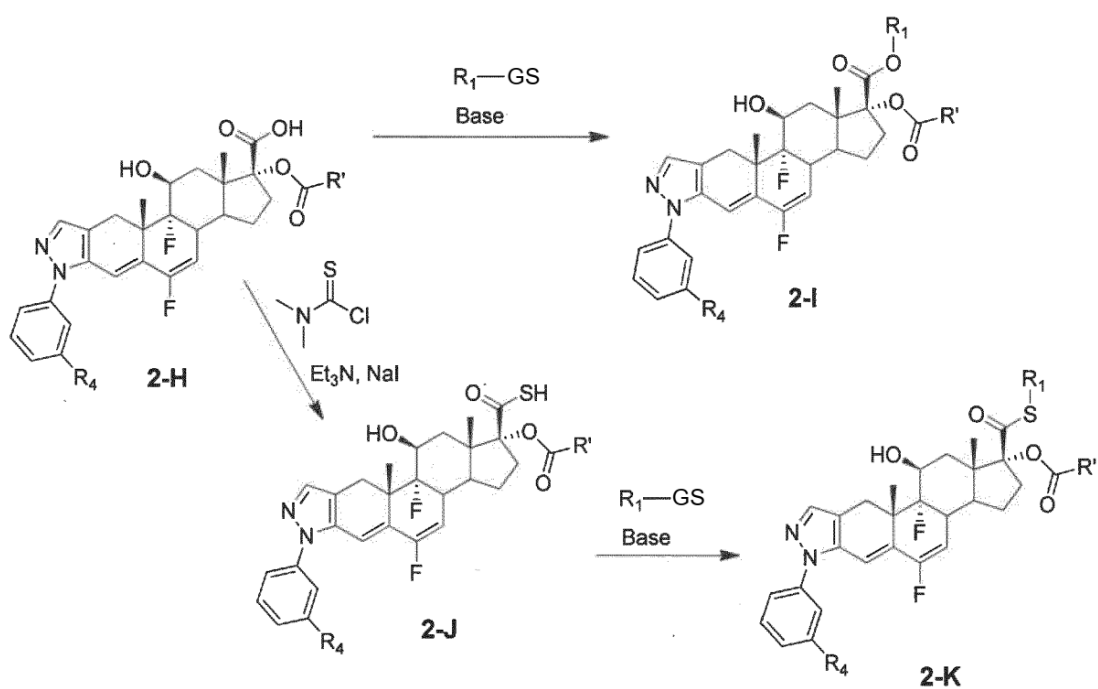
20 compuesto de fórmula R^1-GS , en donde GS es un grupo saliente, para proporcionar la Fórmula 1-E. El tioéster de 1-D puede obtenerse mediante la primera transformación del resto de ácido carboxílico con un reactivo adecuado, tal como cloruro N, N-dimetilcarbamotioico, a un ácido tiocarboxílico de Fórmula 1-F, que puede hacerse reaccionar además con un compuesto de fórmula R^1-GS , en donde GS es un grupo saliente, para proporcionar un compuesto de

25 Fórmula 1-G.

Esquema 3:



Esquema 4:



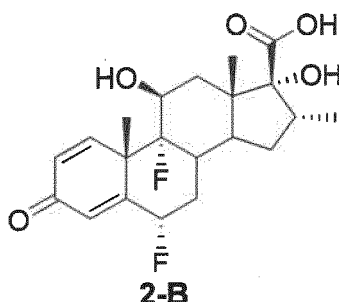
Los compuestos de Fórmula **2-I** pueden sintetizarse a partir de compuestos de partida, tales como **2-A**, de acuerdo con los Esquemas 3 y 4 anteriores.

De acuerdo con el Esquema 3, la escisión oxidativa del grupo hidroxil metilo del grupo α -hidroxi acetilo de **2-A** para proporcionar **2-B** puede conseguirse usando ácido peryódico. La reducción de los restos olefínicos de **2-B** usando, por ejemplo, hidrógeno gaseoso y un catalizador de Pd/C proporciona el producto saturado, **2-C**. La bromación posterior usando, por ejemplo, bromo molecular proporciona el compuesto de bis- α,α' bromuro, **2-D**. La doble eliminación de los sustituyentes de bromuro usando una base, tal como el carbonato de calcio, y un catalizador, tal como bromuro de litio, proporciona **2-E**. La generación del enolato de **2-E** puede lograrse con una base, tal como hidruro de sodio, seguido de adición nucleófila de formiato de metilo puede proporcionar el compuesto **2-F**. El tratamiento de **2-F** con una fenilhidrazina opcionalmente sustituida (los Esquemas 3 y 4 muestran un sustituyente en la posición meta, por ejemplo) puede proporcionar el compuesto de pirazina **2-G**. La esterificación posterior del grupo hidroxilo libre de **2-G** usando un compuesto de carbonilo activado de fórmula $R^1-C(O)-X$, en donde X es un grupo saliente tal como cloruro, puede proporcionar un compuesto de Fórmula **2-H**.

El Esquema 4 proporciona una síntesis general con respecto a la funcionalización del resto de ácido carboxílico de un compuesto de Fórmula **2-H**. Para obtener un éster, un compuesto de Fórmula **2-H** puede tratarse con una base y un electrófilo adecuado, tal como haloalquilo, para proporcionar la Fórmula **2-I**. El tioéster de **2-H** puede obtenerse mediante la primera transformación del resto de ácido carboxílico con un reactivo adecuado, tal como N, cloruro N-dimetilcarbamoiloico, a un ácido tiocarboxílico de Fórmula **2-J**, que puede hacerse reaccionar además con un compuesto de fórmula R^1-GS , en donde GS es un grupo saliente, para proporcionar la Fórmula **2-K**.

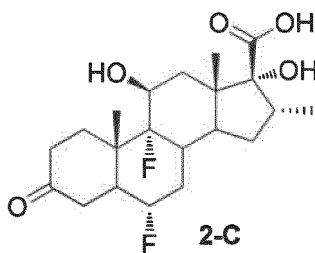
Ejemplos de síntesis

Síntesis del Compuesto 2-B (Ejemplo de referencia):

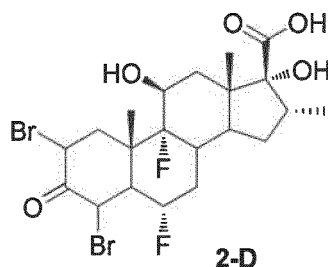


El Compuesto **2-A** disponible en el mercado (4,1 g, 10 mmol) se disolvió en metanol (60 ml) y después se añadió en gotas ácido peryódico (4,5 g en 60 ml de agua, 20 mmol) a 0 °C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El metanol se concentró y se añadió H_2O (100 ml). El precipitado se filtró, se lavó con agua (15 x 3 ml) y se secó al aire para proporcionar el compuesto **2-B** (3,2 g) en forma de un sólido de color blanco. RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ : 12,47 (s, 1H), 7,26 (dd, $J = 10,2, 1,2$ Hz, 1H), 6,28 (dd, $J = 10,2, 1,9$ Hz, 1H), 6,09 (s, 1H), 5,63 (ddd, $J = 48,5, 9,6, 6,7$ Hz, 1H), 5,33 (dd, $J = 3,8, 1,7$ Hz, 1H), 4,71 (s, 1H), 4,17 - 4,09 (m, 1H), 3,34 (s, 1H), 2,84 (ddd, $J = 11,1, 7,1, 4,1$ Hz, 1H), 2,26 - 2,16 (m, 1H), 1,49 (s, 3H), 0,99 (s, 3H), 0,86 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H). LR-Masa (IEN) m/z: 397,1 $[M + H]^+$.

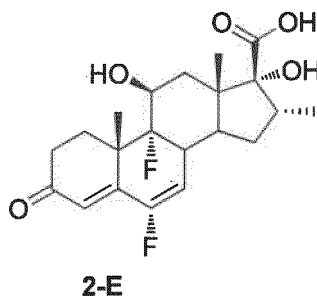
Síntesis del Compuesto 2-C (Ejemplo de referencia):



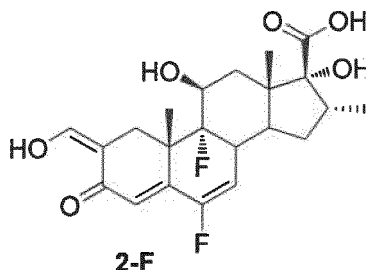
Se disolvió Compuesto **2-B** (1,9 g, 5 mmol) en metanol (200 ml) y se añadió Pb/C(200 mg). Después se agitó a temperatura ambiente en atmósfera de H_2 durante 1 d. La solución se filtró a través de un lecho de Celite y después se concentró a presión reducida para proporcionar **2-C** (1,8 g) para su uso posterior sin purificación. RMN 1H (400 MHz, DMSO) δ : 5,20 - 4,99 (m, 1H), 4,93 (d, $J = 2,6$ Hz, 1H), 4,21 (m, 1H), 2,89 - 2,77 (m, 1H), 2,56 (m, $J = 15,9$ Hz, 1H), 1,24 (s, 3H), 0,93 (s, 3H), 0,86 (d, $J = 7,1$ Hz, 3H). LR-Masa (IEN) m/z: 401,2 $[M + H]^+$.

Síntesis del Compuesto 2-D (Ejemplo de referencia):

5 El Compuesto **2-C** (1,6 g) en ácido acético (40 ml) se trató sucesivamente con bromuro de hidrógeno 6,6 M en ácido acético (1,6 ml) y una solución de bromo en ácido acético (4,5 ml). Después se agitó a temperatura ambiente durante 40 min. La dilución con agua proporcionó el **2-D** en bruto (2,1 g). RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ: 5,32 - 4,96 (m, 3H), 4,69 (m, 2H), 4,18 (m, 1H), 3,07 (m, 1H), 2,95 (m, 1H), 2,81 (s, 1H), 1,31 (s, 3H), 0,88 (s, 3H), 0,84 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H). LR-Masa (IEN) *m/z*: 559,1 [*M* + *H*]⁺.

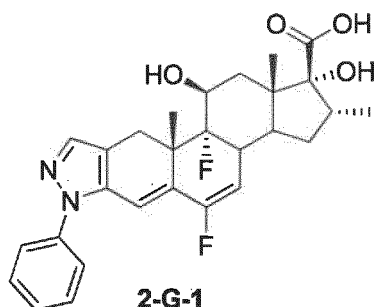
Síntesis del Compuesto 2-E (Ejemplo de referencia):

15 El Compuesto **2-D** (2,0 g) se añadió a una suspensión agitada vigorosamente de carbonato de calcio (1,1 g) y bromuro de litio anhidro (0,8 g) en dimetilacetamida (17 ml) mantenida a 100 °C con nitrógeno. Después de 3 h, la mezcla enfriada se vertió en un exceso de ácido clorhídrico diluido, la mezcla se extrajo con EtOAc, se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. El producto en bruto se purificó mediante cromatografía para proporcionar el compuesto **2-E** en forma de un sólido de color blanco para proporcionar un sólido (0,6 g, 43 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO) δ: 5,85 (s, 1H), 5,62 (d, *J* = 14,8 Hz, 1H), 5,27 - 5,19 (m, 1H), 4,74 (m, 1H), 4,11 (m, 1H), 3,07 - 2,78 (m, 3H), 2,70 - 2,58 (m, 1H), 2,42 - 2,03 (m, 6H), 1,45 (s, 3H), 1,03 (s, 3H), 0,89 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H). LR-Masa (IEN) *m/z*: 397,1 [*M* + *H*]⁺.

Síntesis del Compuesto 2-F (Ejemplo de referencia):

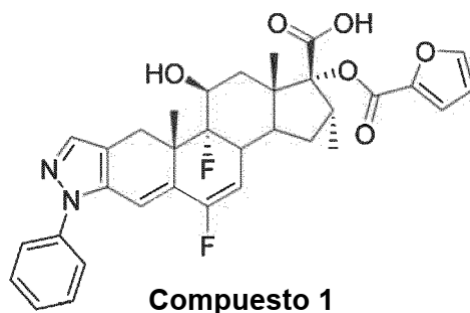
30 Se disolvió Compuesto **2-E** (0,5 g) en tolueno seco (15 ml) y formiato de metilo (2 ml). Después, se añadió NaH (900 mg, 20 mmol, dispersión al 60 % en aceite mineral). Después de agitar a temperatura ambiente durante 4 h, se añadió HCl 1 N (120 ml) y la mezcla se extrajo varias veces con EtOAc. El disolvente se secó y se retiró para proporcionar 0,6 g de **2-F** en forma de una espuma de color amarillo para el uso posterior sin purificación. LR-Masa (IEN) *m/z*: 425,3 [*M* + *H*]⁺.

Síntesis del Compuesto 2-G-1:



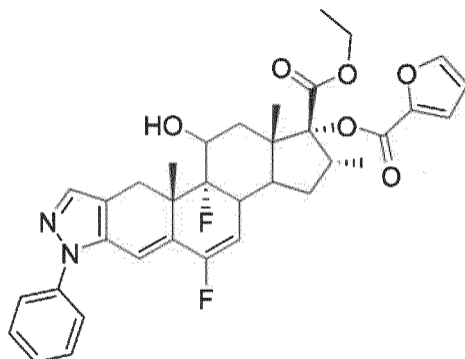
Se disolvió Compuesto **2-F** (0,50 g) en AcOH (15 ml) y H₂O (3 ml), se añadió fenilhidrazina (0,14 g). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se añadió agua fría (100 ml), El precipitado se filtró, se lavó en atmósfera de H₂O (10 x 3 ml) y se secó al aire para proporcionar el compuesto **2-G-1** (0,44 g) en forma de un sólido de color amarillo. RMN ¹H (400 MHz, DMSO) δ: 7,61 (s, 1H), 7,58 - 7,49 (m, 4H), 7,42 (m, 1H), 6,54 (s, 1H), 5,33 - 5,20 (m, 2H), 4,16 (s, 1H), 2,38 - 2,29 (m, 1H), 2,10 (d, *J* = 14,1 Hz, 1H), 1,71 (c, *J* = 11,5 Hz, 1H), 1,53 (d, *J* = 13,7 Hz, 1H), 1,26 (s, 3H), 1,05 (s, 3H), 0,87 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H). LR-Masa (IEN) *m/z*: 497,3 [*M* + *H*]⁺.

Ejemplo 1: Síntesis del Compuesto 1 (Ejemplo de referencia):



A una solución del compuesto **2-G-1** (400 mg, TEA (300 ml) en DCM seco (10 ml) se le añadió cloruro de α-furoilo (200 mg) a 0 °C en atmósfera de N₂. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. El disolvente se evaporó a presión reducida para proporcionar el producto en bruto, que se purificó mediante cromatografía con DCM: MeOH (50:1) para proporcionar el **compuesto 1** en forma de un sólido de color blanco (82 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO) δ: 8,01 - 7,98 (m, 1H), 7,64 (s, 1H), 7,60 - 7,51 (m, 5H), 7,45 (m, 1H), 7,16 (dd, *J* = 3,5, 0,6 Hz, 1H), 6,70 (dd, *J* = 3,5, 1,7 Hz, 1H), 6,59 (s, 1H), 5,38 (dd, *J* = 21,7, 8,8 Hz, 2H), 4,26 (s, 1H), 1,29 (s, 3H), 1,23 (s, 2H), 1,11 (s, 3H), 0,92 (d, *J* = 7,1 Hz, 3H). LR-Masa (IEN) *m/z*: 591,2 [*M* + *H*]⁺.

Ejemplo 2: Síntesis del Compuesto 2 (Ejemplo de referencia):

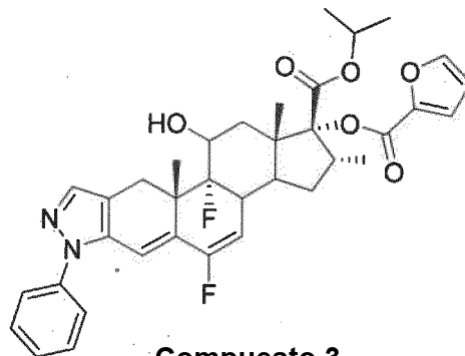


Se añadió **Compuesto 1** (50 mg) a una suspensión agitada vigorosamente de carbonato de potasio (30 mg) y yodoetano (20 mg) en DMF (2 ml), y la mezcla resultante se agitó a 50 °C durante 3 h. La solución de reacción se vertió en agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. El producto en bruto se purificó mediante Prep-TLC para proporcionar **compuesto 2** en forma de un sólido de color blanco (41 mg, 79 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO) δ: 8,00 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,61 - 7,51 (m, 4H),

7,45 (m, 1H), 7,19 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,71 (dd, J = 3,2, 1,6 Hz, 1H), 6,58 (s, 1H), 5,47 - 5,28 (m, 2H), 4,27 (s, 1H), 4,23 - 4,06 (m, 2H), 1,20 (t, 3H). CL-EM (IEN) m/z: 619,3 [M + H]⁺.

Ejemplo 3: Síntesis del Compuesto 3 (Ejemplo de referencia):

5



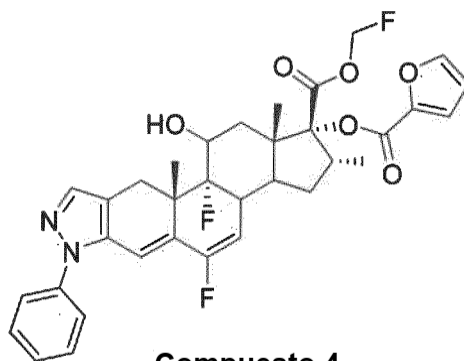
Compuesto 3

Se añadió **Compuesto 1** (50 mg) a una suspensión agitada vigorosamente de carbonato de potasio (30 mg) y 2-bromopropano (15 mg) en DMF (2 ml) y la mezcla resultante se agitó a 50 °C durante 3 h. La solución de reacción se vertió en agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. El producto en bruto se purificó mediante Prep-TLC para proporcionar **compuesto 3** en forma de un sólido de color blanco (39 mg, 73 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,58 (s, 1H), 7,54 - 7,47 (m, 6H), 7,38 (m, 1H), 7,15 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,75 (s, 1H), 6,48 (dd, J = 3,2, 1,6 Hz, 1H), 5,25 - 5,08 (m, 2H), 4,45 (s, 1H), 1,31 (d, 3H), 1,23 (d, 3H). CL-EM (IEN) m/z: 633,3 [M + H]⁺.

10

15

Ejemplo 4: Síntesis del Compuesto 4:



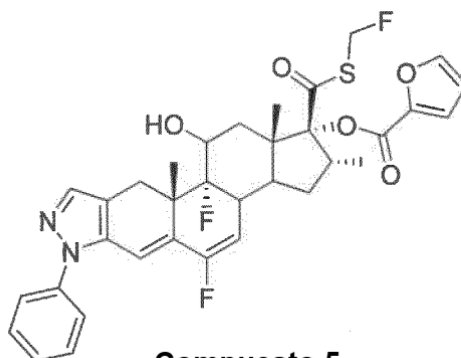
Compuesto 4

Se añadió **Compuesto 1** (50 mg) a una suspensión agitada vigorosamente de carbonato de potasio (30 mg) y fluoroyodo-metano (15 mg) en DMF (2 ml), y la mezcla resultante se agitó a 50 °C durante 3 h. La solución de reacción se vertió en agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. El producto en bruto se purificó mediante Prep-TLC para proporcionar **compuesto 4** en forma de un sólido de color blanco (38 mg, 72 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO) δ: 8,02 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,63 - 7,50 (m, 4H), 7,45 (m, 1H), 7,25 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,73 (dd, J = 3,2, 1,6 Hz, 1H), 6,60 (s, 1H), 5,84 (d, J = 112,4 Hz, 1H), 5,83 (d, 1H), 5,54 (d, 1H), 5,37 (d, 1H), 4,28 (s, 1H). CL-EM (IEN) m/z: 623,2 [M + H]⁺.

20

25

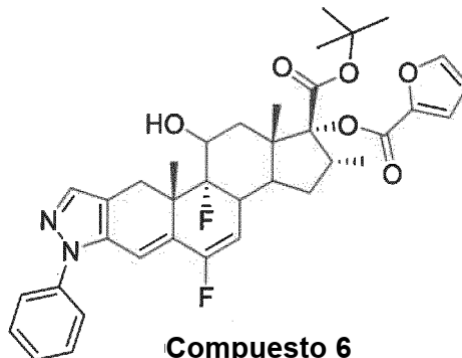
Ejemplo 5: Síntesis del Compuesto 5:

**Compuesto 5**

Parte I: A una solución agitada del **compuesto 1** (200 mg) en 2-butanona (5 ml) se le añadió cloruro de N, N-dimetilcarbamotioico (83 mg), trietilamina (100 mg) y yoduro de sodio (5 mg). La mezcla se agitó a 75 °C durante 2 h y después se concentró al vacío. El residuo obtenido se lavó con agua y se secó para obtener 0,2 g del producto. El compuesto obtenido se añadió a morfolina (3 ml) y la mezcla obtenida se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Después, se añadió a la solución de reacción anterior una mezcla de agua y acetato de etilo a 10-15 °C. Por último, se añadió ácido acético glacial (0,5 ml) gota a gota para ajustar el pH a un pH de 5-7. El sólido precipitado se filtró, se lavó con agua y se secó para proporcionar 170 mg de S-ácido (1R,2R,10aS,10bR,11S,12aS)-5,10b-difluoro-1-((furano-2-carbonil)oxi)-11-hidroxi-2,10a,12a-trimetil-7-fenil-1,2,3,3a,3b,7,10,10a,10b,11,12,12a-dodecahidrociclopenta[5,6]naftol[1,2-f]indazol-1-carbotioico (**Compuesto 2-J-1**), que se usó en la siguiente etapa directamente.

Parte II: Se añadió **Compuesto 2-J-1** (50 mg) a una suspensión agitada vigorosamente de carbonato de potasio (30 mg) y fluoroyodo-metano (15 mg) en DMF (2 ml), y la mezcla resultante se agitó a 50 °C durante 3 h. Después, la solución obtenida se vertió en agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄, después se concentró y purificó mediante Prep-TLC para proporcionar el **compuesto 5** en forma de un sólido de color blanco (35 mg, 66 %). RMN ¹H (400 MHz, DMSO) δ: 8,05 (s, 1H), 7,65 (s, 1H), 7,61 - 7,51 (m, 4H), 7,45 (m, 1H), 7,25 (d, J = 3,6 Hz, 1H), 6,74 (dd, J = 3,2, 1,6 Hz, 1H), 6,60 (s, 1H), 6,04 (s, 1H), 5,92 (s, 1H), 5,54 (s, 1H), 5,39-5,31 (m, 1H), 4,28 (s, 1H). LR-Masa (IEN) m/z: 639,2 [M + H]⁺.

Ejemplo 6: Síntesis del Compuesto 6 (Ejemplo de referencia):

**Compuesto 6**

Se añadió **Compuesto 1** (180 mg) a una suspensión agitada vigorosamente de carbonato de potasio (200 mg) y 2-bromo-2-metilpropano (10 ml) en DMF (5 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 8 días. La solución de reacción se vertió en agua (30 ml) y se extrajo con EtOAc (20 ml x 3), la capa orgánica combinada se lavó con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. El producto en bruto se purificó mediante Prep-TLC para proporcionar **compuesto 6** en forma de un sólido de color blanco (11 mg, 5,6 %). RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ: 7,58 (s, 1H), 7,54 - 7,46 (m, 6H), 7,38 (m, 1H), 7,13 (d, J = 3,2 Hz, 1H), 6,75 (s, 1H), 6,48 (dd, J = 3,2, 1,6 Hz, 1H), 5,22 (d, H), 4,45 (s, 1H), 1,50 (s, 9H). CL-EM (IEN) m/z: 647,3 [M + H]⁺.

Métodos y materiales

Ejemplo 7A: Expresión y purificación de proteínas. El LBD de GR (restos 525-777) que contenía las mutaciones F602A, C622Y, T668V, S674T, V675I, K699A y K703A para Furoato de Mometasona y las mutaciones F602A, C622Y, T668V, S674T, V675I, E684A y E688A para el Cortisol se expresaron como una proteína de fusión 6xHis-GST a partir del vector de expresión pET24a (Novagen). Las proteínas de fusión modificadas contienen un marcador His6 (MKKGHHHHHHG) en el extremo N y un sitio de proteasa de trombina entre GST y el LBD de GR. Se cultivaron células BL21DE3 transformadas con los plásmidos de expresión en caldo LB a 16 °C a una DO600 de ~1 y se indujeron

con IPTG 0,1 mM y Furoato de mometasona o Cortisol 50 μ M. Las células se recogieron, se resuspendieron en 200 ml de tampón de extracción (Tris[pH8] 50 mM, NaCl 150 mM, urea 2 M, glicerol al 10 % + ligando 1 μ M) por cada 12 litros de células, y se hicieron pasar tres veces a través de una prensa francesa con presión ajustada a 1000 Pa. El lisado se centrifugó a 20.000 rpm durante 30 min y el sobrenadante se cargó en una columna de níquel de 25 ml. La columna se lavó con 700 ml de tampón de extracción y se eluyó con 300 ml de tampón B al 50 % (Tris [pH8] 25 mM, Imizadol 500 mM, glicerol al 10 %, ligando 1 μ M). El LBD de GR se escindió durante la noche con trombina en una relación proteasa/proteína de 1:1000 en la cámara fría mientras se dializaba contra Tris [pH8] 20 mM, NaCl 500 mM, glicerol al 10 %, ligando 1 μ M. El marcador H6GST se retiró uniéndolo a una columna de níquel Ni-NTA. El flujo se purificó mediante filtración en gel (Tris [pH8] 20 mM, NaCl 500 mM, DTT 1 mM, EDTA 1 mM, glicerol al 10 %, ligando 1 μ M). La proteína unida a Furoato de Mometasona formó complejo con la versión más larga del péptido SRC2-3: SPKKKENALLRYLLDKDDTKD y se concentró por filtración a 6 mg/ml. El LBD de GR de Cortisol formó complejo con la versión más corta SRC2-3: KENALLRYLLDKDD y B-octilglucósido al 0,2 % y se concentró por filtración a 7 mg/ml.

Ejemplo 7B: Cristalización. Los cristales de GR de Furoato de Mometasona se cultivaron a temperatura ambiente en gotas colgantes que contenían 1 μ l de la proteína complejada con el péptido GP2 y 2 μ l de la solución de pocillos que contenía citrato de sodio 0,1 M [pH6] y cloruro de sodio 2,2 M. Los cristales de GR de cortisol se cultivaron a temperatura ambiente en gotas colgantes que contenían 1 μ l del complejo proteínico y 1 μ l de la solución de pocillos que contenía imidazol 0,1 M pH6,5, trihidrato de acetato de sodio 1 M. Se usó sacarosa al 30 % en el tampón de pocillos como crioprotector para ambos.

Ejemplo 7C: Determinación de la estructura. Para el reemplazo molecular se usó el programa PHASER de CCP4 (36), con la estructura de LBD de GR/dexametasona (código PDB: 1M2Z) (27) como modelo de búsqueda. El modelo inicial se reconstruyó y se refinó manualmente usando CNS (37) y el programa REFMAC5 de CCP4 (38). Todas las figuras de estructuras se prepararon con PyMOL (The PyMOL Molecular Graphics System, Versión 1.3, Schrodinger LLC).

Ejemplo 7D: Transfección celular y ensayos de indicador. Se dividieron células AD293 a 20.000/pocillo en placas de 24 pocillos un día antes de la transfección. Para la transactivación, se transfectaron 100 ng de plásmido pHHLuc (MMTV-Luc), 0,1 ng de pRShGR junto con 5 ng de pHRGtkRenilla mediante X-tremeGENE 9 (Roche) en células AD293 por pocillo. Para la transrepression, se transfectaron 10 ng de AP1-Luc, 100 ng de pRShGR y 5 ng de pHRGtkRenilla en células AD293 por pocillo. Un día después de la transfección, las células se indujeron mediante diferentes tratamientos (esteroides o vehículo) 16 horas durante la noche. Las células se recogieron con 1 x tampón de lisis pasiva (Promega), la actividad de luciferasa se evaluó mediante el sistema Dual-Glo Luciferase (Promega). Los datos se representaron por el Valor de luciferasa/Valor de Renilla, como Unidad de luciferasa relativa (ULR).

Ejemplo 7E: Ensayo *in vitro* de unión a ligando de GR. El ensayo de unión a GR *in vitro* es similar a como se ha descrito anteriormente (39). El ligando radiomarcado [3 H]Dex se fijó a 25 nM y se incubó con citosol de GR al 5 % más molibdato de sodio 20 mM en tampón de TAPS (pH8,8), se añadieron ligandos fríos (variando de 0,1 nM a 10 μ M) para competir con la unión a ligando caliente. Los datos se representaron como una curva de competencia patrón mediante GraphPad Prism 5.

Ejemplos biológicos

Ejemplo 8: Estructura general de los LBD de GR unidos a cortisol y MF.

La cristalización del LBD de la GR siempre ha sido un reto debido a su problema de solubilidad. La estructura original del LBD de GR se determinó con un ligando de afinidad elevada DEX (27), unido al LBD de GR con la mutación F602S, que mejoran la solubilidad de las proteínas. Sin embargo, el cortisol es un ligando mucho más débil que la DEX y la mutación F602S no es suficiente para estabilizar el LBD de GR unido al cortisol, una hormona endógena (Figura 8, calle 1). Para identificar los aminoácidos que podrían aumentar la solubilidad del LBD de GR sin afectar a la estructura global, los presentes inventores alinearon el GR con los miembros más cercanos de la familia de las hormonas esteroideas, MR, el receptor de andrógenos (AR) y el receptor de progesterona (PR), que son mucho más solubles que el GR. Además de F602, el resto C622, T668, S674 y V675 se distinguen de las secuencias conservadas de la familia, por lo que los inventores mutaron esos aminoácidos de nuevo a los restos conservados (F602A, C622Y, T668V, S674T y V675I, denominados AYVTI). La mayoría de estos restos se encuentran en el interior de las proteínas, estando los restos PR mejor empaquetados en la estructura de LBD de PR (28). De hecho, el LBD de GR de AVYTI tiene una solubilidad mucho mejor que el LBD de F602S cuando se une al cortisol (Figura 8, calle 2). El LBD de GR mutado puede expresarse y purificarse con un rendimiento superior a 5 mg por litro. Sin embargo, los inventores no pudieron obtener cristales de este LBD de GR mutado unido a cortisol o MF. El LBD de GR tiene varios restos de lisina y ácido glutámico en su hélice H9, cuyas cadenas laterales largas pueden afectar a la cristalización. El LBD de GR con mutaciones en alanina de estos restos (K669A/K703A para MF y E684A/E688A para cortisol) como mutaciones de reducción de entropía superficial permaneció soluble (Figura 8, calles 3 y 4) y permitió a los inventores obtener cristales del LBD de GR unido a MF y cortisol (Figuras 9A-B). Todas estas mutaciones están lejos del bolsillo de unión a ligando y no alteran las funciones de transactivación o transrepresión de GR mediadas por ligando (Figuras 10A-B).

Las estructuras globales de los LBD de GR unidos a MF y unidos a cortisol (Figura 1A) son similares a las del LBD de

GR unido a DEX, con 11 hélices empaquetadas en tres capas de un haz intercalado helicoidal, con la cavidad de unión a ligando enterrada en la parte inferior del haz. Las estadísticas de recogida y refinamiento de datos se resumen en la Tabla S1. La arquitectura global del LBD de GR unido a cortisol es casi idéntica a la del LBD de GR unido a DEX, mientras que existen algunas diferencias notables entre el LBD de GR unido a MF y el LBD de GR unido a DEX, incluyendo la orientación del bucle antes de la hélice 1 (marcada como "1" en la Figura 1B); una expansión de la región del bucle entre las hélices 5 y 6 (marcada como "2" en la Figura 1B); y un cambio en la orientación C-terminal de la hélice AF-2 (marcado como "3" en la Figura 1B). El modo de unión a ligando del cortisol y el MF está bien definido por el mapa de densidad electrónica de los ligandos unidos y los restos de bolsillo circundantes (Figura 1C).

Tabla 2: Estadísticas de conjuntos de datos y refinamiento de estructuras.

	GR/Cortisol	GR/Mometasona
Código PDB	4P6X	4P6W
Recogida de datos		
Línea de haz de APS	APS-21ID	APS-21ID
Grupo espacial	P61	P23
Resolución, Å	30-2,5	30-1,95
Parámetros celulares, Å, °	a=b=220,8, c=74,2; $\alpha = \beta = 90$, $\gamma = 120$	a=b=c=130,2; $\alpha = \beta = \gamma = 90$
Reflexiones totales/únicas	650426/71878	545016/53521
Complejidad, %	100 (100)	99,4 (98,0)
I/ σ	19,9 (5,2)	23,5 (2,0)
Redundancia	9,0 (7,6)	10,2 (3,7)
Rsim	0,10 (0,32)	0,128 (0,51)
Determinación de la estructura		
Resolución, Å	40-2,5	30-195
N.º de reflejos	71517	53320
Moléculas de NCS	6	1
N.º de restos	1362	264
N.º de moléculas de disolvente	487	130
N.º de átomos no de H	13695	2315
R _{crist}	24,9 %	20,8 %
R _{libre}	29,2 %	22,7 %
drcm de enlaces, Å	0,004	0,008
drcm de ángulos, °	0,886	1,671
Factor B promedio, Å ²	53,0	33,5
Estadísticas de Ramachandran	Favorecido en un 94,6 %, Permitido en un 4,5 %	Favorecido en un 97,7 %, Permitido en un 2,3 %

Drcm es la raíz de la desviación cuadrática media de la geometría ideal de la proteína.

Ejemplo 9: Potencia, afinidad de cortisol, DEX y MF.

El cambio de estructuras químicas (Figura 2A) del cortisol, la DEX y el MF siluetea la evolución del glucocorticoide: de simple a complejo y de un nivel a múltiples niveles. La estructura del cortisol proporciona una cadena principal de esteroide básica de 4 anillos; después DEX añade doble enlace 1,2, metilación 16 y halogenación 9 α (Figura 2A); y MF clora adicionalmente en 22, y lo que es más importante, añade un grupo éster de furoato lipófilo en 17 α (Figura 2A), reemplazando el grupo hidroxilo de la DEX y el cortisol. Para someter a ensayo los efectos de esos cambios químicos sobre la potencia de los GR, los inventores compararon las actividades, una junto a otra, de MF, DEX y

cortisol, tanto en la transactivación como en la transrepression de GR en el formato de la curva dosis-respuesta completa. Para la transactivación, los inventores usaron un sistema indicador de luciferasa impulsado por MMTV (Figura 2B). El MF y la DEX mostraron casi la misma eficacia (actividad máxima) a la concentración de saturación (1 μ M), mientras que el cortisol a su concentración de saturación (10 μ M) sólo tuvo el 80 % de la eficacia de la DEX.

Con respecto a la DEX, se produjo un gran desplazamiento hacia la izquierda de la curva dosis-respuesta de MF, lo que indica que el MF es 20 veces más potente que la DEX. Por otro lado, la curva de cortisol tenía un gran desplazamiento hacia la derecha, demostrando que es 10 veces menos potente que la DEX. Los valores de CE₅₀ para MF, DEX y cortisol en la transactivación fueron de 0,33 nM, 6,7 nM y 70 nM, respectivamente.

Para la transrepresión, se usó un indicador de luciferasa impulsado por AP1 (Figura 2C). El MF, la DEX y el cortisol mostraron eficacias similares a su concentración de saturación. De nuevo, el MF mostró una potencia mucho mayor (60 veces) que la DEX y el cortisol fue mucho más débil que la DEX; los valores de CE₅₀ para MF, DEX y cortisol en la transrepresión fueron de 0,005 nM, 0,32 nM y 2,7 nM, respectivamente. En consonancia con la frecuente observación de que la inducción requiere una mayor concentración de esteroides, la potencia de inducción fue al menos 10 veces inferior a la potencia de represión para cada compuesto. Esta diferencia proporciona la oportunidad de disociar la transactivación de la transrepresión mediante el uso de dosis muy bajas de glucocorticoides. Por ejemplo, a 0,1 nM, el MF alcanza el 95 % de la eficacia de transrepresión pero sólo el 25 % de la eficacia de transactivación (Figura 2B y 2C).

Generalmente, la potencia elevada viene determinada por una afinidad elevada por el receptor, pero los cofactores celulares también desempeñan papeles importantes. Para someter a ensayo la afinidad del MF por GR, los inventores realizaron ensayos de competencia de unión a ligando de GR *in vitro* para MF, DEX y cortisol (Figura 2D), lo que demostró que el orden de la afinidad de unión de GR era MF > DEX > cortisol. Los valores de K_i para MF, DEX y cortisol fueron de 0,7 nM, 8 nM y 91 nM, respectivamente. Este resultado era coherente con el resultado del inventor para la potencia. Sin embargo, la diferencia en la CI₅₀ de unión *in vitro* entre MF y DEX fue sólo de aproximadamente 10 veces, mientras que la diferencia de potencia era mucho mayor: 20 veces para la inducción y 60 veces para la represión (Figura 2B y 2C). El otro componente de la diferencia en la potencia debe ser aportado por interacciones con factores celulares que reconocen los cambios conformacionales de la superficie provocados por la unión de diferentes ligandos.

Ejemplo 10: La flexibilidad del enlace simple 1,2 se atribuye a la baja afinidad del cortisol al GR.

Para comprender el mecanismo subyacente de la baja afinidad del cortisol, los inventores realizaron una comparación estructural del LBD de GR unido a cortisol y del LBD de GR unido a DEX. La estructura general del LBD de GR unido a cortisol es casi exactamente la misma que la del LBD de GR unido a DEX, no hay cambios notables en la conformación. Después, los inventores estudiaron en detalle la unión del ligando. Como ya se ha mencionado anteriormente, la DEX se diferencia del cortisol sólo a través de: doble enlace 1,2, halogenación 9 α y metilación 16 (Figura 2A). El doble enlace C1-C2 de la DEX provoca que el anillo A del esteroide y el grupo C3-cetona se vuelvan planos, permitiendo de este modo que la C3-cetona interactúe fácilmente con R611 y Q570 (Figura 3A). Por el contrario, debido a la flexibilidad del enlace simple C1-C2 del cortisol, el anillo A del esteroide necesita doblarse para formar un enlace de hidrógeno con R611 y Q570. Además, puesto que el enlace simple C1-C2 del cortisol no unido oscila entre dos conformaciones (por encima y por debajo del plano del anillo A), se necesita una molécula de agua para formar una red de enlaces de hidrógeno que mantenga el ligando en su posición. Estas observaciones explican la afinidad relativamente baja del cortisol al GR. Para confirmar la importancia del doble enlace C1-C2, los presentes inventores midieron la potencia de la prednisolona, que sólo se diferencia del cortisol por la adición del doble enlace C1-C2 (Figura 3B, color pardo), en un ensayo de transactivación. De hecho, el doble enlace C1-C2 de la prednisolona provocó un desplazamiento aproximadamente 5 veces hacia la izquierda de la curva dosis-respuesta del cortisol (Figura 3B) y, por lo tanto, puede explicar más de la mitad del desplazamiento total hacia la izquierda provocado por la DEX. El resto del aumento de potencia se debe probablemente a la halogenación C-9 α y a la metilación C-16, ambos de las cuales aumentan la superficie de interacción dentro del bolsillo receptor (Figuras 11A-B).

Ejemplo 11: El Furoato 17 α determinó la afinidad elevada del MF.

La estructura química de la DEX forma casi una superficie bidimensional plana (Figura 4A), pero en el MF, el éster de furoato 17 α sobresale de esa superficie a casi 90° con respecto al plano del anillo, haciendo del ligando un objeto tridimensional (Figura 4B). En el LBD de GR unido a DEX, hay un espacio vacío encima del anillo D del esteroide, una cavidad hidrófoba formada por la hélice 3, la hélice 5, el giro β 3- β 4 y la hélice 6-7 (Figura 4C). En la estructura de LBD de GR unido a MF, el furoato 17 α que sobresale amplía ligeramente el bolsillo de unión a ligando y ocupa la mayor parte del espacio de esa cavidad. El furoato 17 α lipófilo encaja perfectamente en la cavidad hidrófoba y realiza amplias interacciones hidrófobas con los aminoácidos F623, I629, M639, C643, I559 y L563 circundantes (Figura 4D), asemejándose a una bola firmemente anclada dentro de una articulación de encaje, explicando de este modo por qué el MF tiene una afinidad 10 veces mayor por el GR que la DEX.

Ejemplo 12: Q642 desempeña un papel clave en el reconocimiento de los glucocorticoides de diferente potencia.

Se ha descrito el reconocimiento básico de los glucocorticoides por el LBD de GR (27, 31, 32). Como en el LBD de GR unido a DEX, Q570 y R611 interactúan con el grupo C-3 ceto del anillo A del esteroide, N564 interactúa con el grupo hidroxilo C-11 del anillo C del esteroide y T739 interactúa con el grupo carbonilo C-21 de la cadena lateral (Figura 3A). Estos cuatro pares de enlaces de hidrógeno importantes mantienen la cadena principal del esteroide firmemente en su posición. Con respecto a los LBD de GR unidos a DEX y a cortisol, el grupo furoato C-17 α hacia dentro del MF sólo provoca un gran cambio dentro del bolsillo de unión a ligando, que es el movimiento de Q642 en la hélice 7 (Figura 5A). En la estructura de LBD de GR unido a DEX, Q642 es perpendicular al eje de la hélice 7 y forma enlaces de hidrógeno con el grupo hidroxilo C-17 α de la DEX. Tras la unión de MF, el grupo furoato C-17 α aleja a Q642, doblándolo casi 90° en una posición paralela al eje de la hélice 7 (Figura 5A).

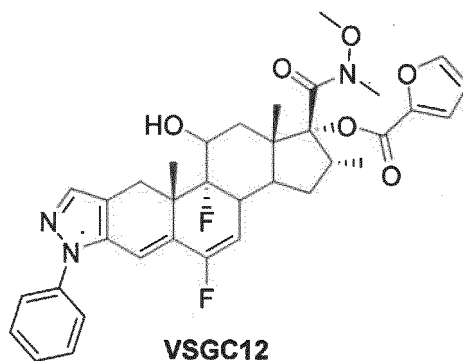
Puesto que la orientación de Q642 es el único cambio importante en el bolsillo de unión a ligando tras la unión de MF, los inventores mutaron Q642 para hacerlo más pequeño (Q642A), más grande (Q642F), hidrófobo (Q642L) o cargado (Q642E, Q642K), o para hacer sólo un ligero cambio (Q642N). Los presentes inventores sometieron a ensayo esas mutaciones usando MF o DEX a una concentración subsaturada (MF, 1 nM; DEX, 10 nM). De manera interesante, para una mutación (Q642N), la actividad de DEX estaba casi anulada, mientras que la actividad de MF seguía siendo máxima (Figura 5B). Por lo tanto, una única mutación podría separar totalmente la actividad del MF de la de la DEX. Otras mutaciones provocaron la pérdida de la mayor parte de la actividad tanto para la DEX como para el MF; la excepción, Q642L, tenía la mitad de actividad con el MF pero ninguna o muy baja actividad con la DEX. El furoato 17 α del MF también modificó ligeramente la conformación alrededor de M560 y M639, pero las mutaciones en esos restos no tuvieron el mismo efecto que la mutación Q642N (Figura 12).

Para analizar el papel destacado de Q642 en el reconocimiento de ligandos de diferente potencia, los inventores determinaron curvas dosis-respuesta completas para el MF, la DEX y el cortisol representando una potencia elevada, media y baja, respectivamente, en la unión a Q642N en un ensayo de transactivación de GR (Figura 5C). Para el MF, la curva dosis-respuesta de Q642N era indistinguible de la del tipo silvestre. Para la DEX con respecto al tipo silvestre, Q642N provocó un gran desplazamiento de la curva hacia la derecha, cambiando la CE50 de 7,5 nM a 40 nM, una potencia 5 veces menor. Para el cortisol, la variante del receptor Q642N era inactiva, incluso a la concentración de saturación. Por lo tanto, la única mutación Q642N tiene la capacidad de separar totalmente ligandos de potencia elevada, media y baja, lo que sugiere que Q642 actúa como un sensor que reconoce ligandos de diferente potencia. Cuando se une un glucocorticoide de potencia media o baja (por ejemplo, DEX o cortisol), Q642 forma un enlace de hidrógeno con el grupo hidroxilo 17 α para conectar el ligando unido en su posición dentro del bolsillo de unión a ligando. Cuando se une a un ligando muy potente tal como el MF, Q642 es empujado por el grupo lipófilo 17 α . Este cambio, coordinado con otros pequeños cambios provocados por la unión del ligando, perturba las hélices 6, 6 y 7, conduciendo a la expansión del bucle entre la hélice 5 y la hélice 6 y cambiando la orientación del extremo C de la hélice AF2 (Figura 1B), dando como resultado las características de potencia elevada.

Para investigar el papel exacto de Q642 en la unión de diferentes ligandos, los presentes inventores han sometido a ensayo la capacidad de unión a ligando de Q642A de GR, para el que la DEX casi no tiene actividad transactivadora en una única concentración insaturada (Figura 5B). En un ensayo de unión *in vitro* usando el citosol de células AD293 que expresaban GR de tipo silvestre o Q642A de GR, la Q642A mutante mostró una pérdida sustancial de afinidad de unión a DEX en comparación con el GR de tipo silvestre (K_d (Q642A) = 22,3 nM frente a K_d (TS) = 5,2 nM), pero aún conservaba cierta afinidad a concentraciones de ligando elevadas (Figura 13A). Por otro lado, Q642A mostró una actividad de transactivación casi nula, incluso a una concentración de saturación de la DEX, en un ensayo de indicador (Figura 13B). Estos datos muestran que la falta de transactivación por DEX de la Q642A de GR se debe tanto a una disminución de la afinidad por el ligando como a un cambio de conformación que inhibe la activación de GR. Al contrario que con la DEX y el cortisol, Q642 no forma un enlace de hidrógeno con MF. Para determinar si Q642A todavía tiene la capacidad de unirse a MF, los presentes inventores realizaron un experimento de unión por competencia usando la proteína mutante Q642A de GR (Figura 13C). Tanto el MF como el cortisol fueron capaces de competir con la unión de ^3H -DEX a Q642A de GR, pero con una gran disminución de la afinidad (las K_i para MF y cortisol fueron de 9 nM y 250 nM, respectivamente, en comparación con el GR de tipo silvestre a 0,7 nM y 91 nM, respectivamente). En conjunto, estos resultados sugieren que Q642 actúa como pilar para sostener la cresta de la hélice 7 formando un enlace de hidrógeno con ligandos que contienen el grupo hidroxilo C-17 α , mientras que aleja los ligandos con un grupo furoato C-17 α . La sustitución de Q642 con un resto pequeño como la alanina puede conducir al colapso de la cresta de la hélice 7 y, por lo tanto, a la pérdida de toda transactivación.

Ejemplo 13: Determinación de la actividad de inducción.

Se transfectaron células AD293 con 0,1 ng de pRShGR, 100 ng de indicador MMTV-Luc y 10 ng de control interno TK-Renilla por pocillo en una placa de 24 pocillos. Un día después de la transfección, las células se indujeron mediante compuestos candidatos a una concentración de 10 nM o 1 μM (véase la Figura 14). Las células se recogieron y se midió la actividad de la luciferasa mediante el kit Promega Dual Luciferase. El compuesto 1 muestra una actividad inductora mucho menor en comparación con todos los demás compuestos candidatos, así como VSGC12, a la concentración de 10 nM. Como se publica en Yuanzheng He, Jingjing Shi, Wei Yi, *et al.* Discovery of a highly potent glucocorticoid for asthma treatment, Cell Discovery (2015) 1, 15035, VSGC12 tiene la siguiente estructura química:



Ejemplo 14: Determinación del efecto antiinflamatorio.

5 Se usó un modelo de asma en ratón inducida por OVA para examinar el efecto antiinflamatorio de los compuestos candidatos. Se inmunizaron de forma primaria ratones Balb/c de 7-9 semanas de edad con OVA (ovoalbúmina). Tres semanas después de la primera inmunización, se expuso a los ratones a OVA intranasal y mientras tanto recibieron diferentes tratamientos (administración de etanol o 10 nM o 1000 nM de uno de los siguientes: DEX, compuesto 1 (Referencia), compuesto 2 (Referencia), compuesto 3 (Referencia), compuesto 4, compuesto 5, compuesto 6 (Referencia), VSGC12 o FF). Se midió la función pulmonar relacionada (PR) en respuesta a la acetilcolina mediante las técnicas de oscilación forzada con el sistema FlexiVent (SCIREQ). La Figura 15, una comparación lado a lado de FF con el Compuesto 4 (marcado como COMP. 4) muestra que el Compuesto 4 es mucho más potente en la represión de la inflamación pulmonar en el modelo de asma en ratón.

Ejemplo 15: Determinación de la potencia y represión de la inflamación pulmonar.

Para evaluar la potencia de los compuestos candidatos en un sistema indicador, se usó un indicador MMTV-luciferasa. La potencia se midió mediante una curva dosis-respuesta completa de los compuestos candidatos a diversas dosis de 0,01 nM a 1000 nM, como se indica en la Figura 16A (ULR: unidad de luciferasa relativa). El Compuesto 4 muestra una mayor potencia que VSGC12 y DEX.

Para evaluar el efecto de los compuestos candidatos en la represión de la inflamación pulmonar, se usó un modelo de asma en ratón inducida por OVA (PR: función pulmonar relativa). A la misma dosis baja de 0,125 mg/kg, el Compuesto 4 muestra una actividad represora de la inflamación pulmonar muy superior a la de VSGC12, como se proporciona en la Figura 16B.

Tabla 3: Normalización de la transfección transitoria - Actividad de LUC en respuesta a diferentes concentraciones de esteroides (ilustrada en la Figura 14).

Esteroides	Conc. (nM)	Renilla	ULR	ULR/Renilla	Media	D.T. media	Factor de inducción de esteroides	Factor de D.T.	% a la inducción de Dex	D. T.
EtOH	\	190.000	11280	0,059						
		218.400	8680	0,040	0,049	0,010	1,000	0,199	3,43854525	0,68501624
		208.200	10160	0,049						
DEX	10nM	222.600	151.280	0,680						
		177.880	136.440	0,767	0,757	0,073	15,360	1,487	52,816423	5,11416278
		197.360	162.880	0,825						
COMP. 1 (Referencia)	10nM	187.480	21.720	0,116						
		184.080	17.200	0,093	0,119	0,028	2,421	0,566	8,32635767	1,94486975
		163.360	24.320	0,149						
COMP. 2 (Referencia)	10nM	168.480	221.760	1,316						
		144.240	206.200	1,430	1,328	0,096	26,932	1,956	92,6078642	6,72417244
		153.920	190.520	1,238						
COMP. 3 (Referencia)	10nM	196.240	295.280	1,505						
		227.320	295.520	1,300	1,462	0,145	29,644	2,939	101,933403	10,1053848
		189.440	299.320	1,580						
COMP. 4	10nM	189.960	288.320	1,518						
		198.040	249.160	1,258	1,332	0,162	27,026	3,276	92,9308062	11,264279
		200.040	244.360	1,222						
COMP. 5	10nM	201.160	298.760	1,485						
		185.000	265.160	1,433	1,444	0,037	29,284	0,755	100,695284	2,59661376
		176.760	249.760	1,413						
COMP. 6 (Referencia)	10nM	274.080	353.720	1,291						
		256.280	347.400	1,356	1,417	0,166	28,743	3,370	98,8348855	11,5892314
		235.840	378.600	1,605						

(continuación)

Esteroides	Conc. (nM)	Renilla	ULR	ULR/Renilla	Media	D.T. media	Factor de inducción de esteroides	Factor de D.T.	% a la inducción de Dex	D.T.
VSGC 12	10nM	197.840	316.240	1,598	1,402	0,277	28,433	5,622	97,767568	19,3299835
		196.160	298.600	1,522						
		266.840	289.480	1,085						
FF	10nM	218.040	291.040	1,335	1,367	0,162	27,730	3,294	95,3491839	11,3271978
		200.560	245.360	1,223						
		183.240	282.800	1,543						
DEX	1000nM	184.520	252.200	1,367	1,434	0,104	29,082	2,103	100	7,23156381
		164.400	255.360	1,553						
		184.120	254.360	1,381						
COMP. 1 (Referencia)	1000nM	290.600	186.480	0,642	0,806	0,159	16,351	3,225	56,2243432	11,0897089
		221.200	180.880	0,818						
		228.840	219.480	0,959						
COMP. 2 (Referencia)	1000nM	217.320	296.680	1,365	1,311	0,050	26,600	1,007	91,465635	3,46419573
		233.560	295.960	1,267						
		248.520	323.600	1,302						
COMP. 3 (Referencia)	1000nM	217.960	249.160	1,143	1,219	0,100	24,716	2,022	84,9885239	6,95223394
		209.640	279.160	1,332						
		215.160	254.120	1,181						
COMP. 4	1000nM	189.200	222.960	1,178	1,153	0,023	23,385	0,466	80,4091951	1,60118417
		198.680	225.280	1,134						
		197.360	226.280	1,147						
COMP. 5	1000nM	312.720	346.400	1,108	1,235	0,132	25,047	2,670	86,1254818	9,17959091
		285.560	350.240	1,227						
		252.280	345.760	1,371						

(continuación)

Esteroides	Conc. (nM)	Renilla	ULR	ULR/Renilla	Media	D.T. media	Factor de inducción de esteroides	Factor de D.T.	% a la inducción de Dex	D.T.
COMP. 6 (Referencia)	1000nM	227.800	385.840	1,694	1,614	0,109	32,739	2,215	112,573819	7,61748494
		194.760	290.120	1,490						
		199.320	330.680	1,659						
VSGC 12	1000nM	187.600	331.400	1,767	1,682	0,146	34,106	2,961	117,275785	10,1823745
		175.120	309.120	1,765						
		206.480	312.400	1,513						
FF	1000nM	292.000	404.480	1,385	1,450	0,067	29,409	1,359	101,125138	4,67332455
		259.720	394.520	1,519						
		240.680	347.960	1,446						

Referencias

1. Barnes PJ (1998) Anti-inflammatory actions of glucocorticoids: molecular mechanisms. *Clin Sci (Lond)* 94 (6):557-572.
- 5 2. De Bosscher K, Vanden Berghe W, Haegeman G (2003) The interplay between the glucocorticoid receptor and nuclear factor-kappaB or activator protein-1: molecular mechanisms for gene repression. *Endocr Rev* 24 (4):488-522.
3. Lefstin JA, Yamamoto KR (1998) Allosteric effects of DNA on transcriptional regulators. *Nature* 392 (6679):885-888.
- 10 4. Heck S, *et al.* (1994) A distinct modulating domain in glucocorticoid receptor monomers in the repression of activity of the transcription factor AP-1. *EMBO J* 13 (17):4087-4095.
5. Reichardt HM, *et al.* (1998) DNA binding of the glucocorticoid receptor is not essential for survival. *Cell* 93 (4):531-541.
- 15 6. Rosen J, Miner JN (2005) The search for safer glucocorticoid receptor ligands. *Endocr Rev* 26 (3):452-464.
7. Schacke H, Docke WD, Asadullah K (2002) Mechanisms involved in the side effects of glucocorticoids. *Pharmacol Ther* 96 (1):23-43.
8. Stanbury RM, Graham EM (1998) Systemic corticosteroid therapy--side effects and their management. *Br J Ophthalmol* 82 (6):704-708.
- 20 9. Nakae J, Kitamura T, Silver DL, Accili D (2001) The forkhead transcription factor Foxo1 (Fkhr) confers insulin sensitivity onto glucose-6-phosphatase expression. *J Clin Invest* 108 (9):1359-1367.
10. Opherck C, *et al.* (2004) Inactivation of the glucocorticoid receptor in hepatocytes leads to fasting hypoglycemia and ameliorates hyperglycemia in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Mol Endocrinol* 18 (6):1346-1353.
11. Pinzone JJ, *et al.* (2009) The role of Dickkopf-1 in bone development, homeostasis, and disease. *Blood* 113 (3):517-525.
- 25 12. Hoes JN, *et al.* (2009) Adverse events of low to medium-dose oral glucocorticoids in inflammatory diseases: a meta-analysis. *Ann Rheum Dis* 68 (12):1833-1838.
13. Spies CM, *et al.* (2011) Glucocorticoids. *Best Pract Res Clin Rh* 25 (6):891-900.
14. Hoes JN, Jacobs JW, Buttgereit F, Bijlsma JW (2010) Current view of glucocorticoid co-therapy with DMARDs in rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 6 (12):693-702.
- 30 15. Frey FJ, Odermatt A, Frey BM (2004) Glucocorticoid-mediated mineralocorticoid receptor activation and hypertension. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 13 (4):451-458.
16. Simons SS, Jr. (2008) What goes on behind closed doors: physiological versus pharmacological steroid hormone actions. *Bioessays* 30 (8):744-756.
- 35 17. Wei P, *et al.* (1998) Modulation of hormone-dependent glucocorticoid receptor function using a tetracyclineregulated expression system. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* 64 (1-2):1-12.
18. Adcock IM, Nasuhara Y, Stevens DA, Barnes PJ (1999) Ligand-induced differentiation of glucocorticoid receptor (GR) trans-repression and transactivation: preferential targeting of NF-kappaB and lack of I-kappaB involvement. *Br J Pharmacol* 127 (4):1003-1011.
- 40 19. Barnes PJ, Adcock IM (2009) Glucocorticoid resistance in inflammatory diseases. *Lancet* 373 (9678):1905-1917.
20. Kaspers GJ, *et al.* (1994) Glucocorticoid resistance in childhood leukemia. *Leuk Lymphoma* 13 (3-4):187-201.
21. Haarman EG, Kaspers GJL, Veerman AJP (2003) Glucocorticoid resistance in childhood leukaemia: Mechanisms and modulation. *Brit J Haematol* 120 (6):919-929.
22. Gaynon PS, Carrel AL (1999) Glucocorticosteroid therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Adv Exp Med Biol* 457:593-605.
- 45 23. Baxter JD (1976) Glucocorticoid hormone action. *Pharmacol Ther B* 2 (3):605-669.
24. Onrust SV, Lamb HM (1998) Mometasone furoate. A review of its intranasal use in allergic rhinitis. *Drugs* 56 (4):725-745.
- 50 25. McCormack PL, Plosker GL (2006) Inhaled mometasone furoate: A review of its use in persistent asthma in adults and adolescents. *Drugs* 66 (8):1151-1168.
26. Crim C, Pierre LN, Daley-Yates PT (2001) A review of the pharmacology and pharmacokinetics of inhaled fluticasone propionate and mometasone furoate. *Clin Ther* 23 (9):1339-1354.
27. Bledsoe RK, *et al.* (2002) Crystal structure of the glucocorticoid receptor ligand binding domain reveals a novel mode of receptor dimerization and coactivator recognition. *Cell* 110 (1):93-105.
- 55 28. Willians SP, Sigler PB (1998) Atomic structure of progesterone complexed with its receptor. *Nature* 393 (6683):392-396.
29. Simons SS (2003) The importance of being varied in steroid receptor transactivation. *Trends in Pharmacological Sciences* 24 (5):253-259.
30. Simons SS, Jr. (2006) How much is enough? Modulation of dose-response curve for steroid receptor-regulated gene expression by changing concentrations of transcription factor. *Curr Top Med Chem* 6 (3):271-285.
- 60 31. Kauppi B, Jakob C, Farnegardh M, *et al.* The three-dimensional structures of antagonistic and agonistic forms of the glucocorticoid receptor ligand-binding domain: RU-486 induces a transconformation that leads to active antagonism. *J. Biol Chem* 2003; 278:22748-22754.
32. Suino-Powell K, *et al.* (2008) Doubling the size of the glucocorticoid receptor ligand binding pocket by deacylcortivazol. *Mol Cell Biol* 28 (6):1915-1923.
- 65 33. Harmon JM, Schmidt TJ, Thompson EB (1982) Non-glucocorticoid receptor-mediated effects of the potent

glucocorticoid deacylcortivazol. *Cancer Res* 42 (6):2110-2114.

34. Valotis A, Hogger P (2007) Human receptor kinetics and lung tissue retention of the enhanced-affinity glucocorticoid fluticasone furoate. *Respir Res* 8:54.

5 35. Biggadike K, *et al.* (2008) X-ray crystal structure of the novel enhanced-affinity glucocorticoid agonist fluticasone furoate in the glucocorticoid receptor-ligand binding domain. *J Med Chem* 51 (12):3349-3352.

36. Bailey S (1994) The Ccp4 Suite - Programs for Protein Crystallography. *Acta Crystallogr D* 50:760-763,

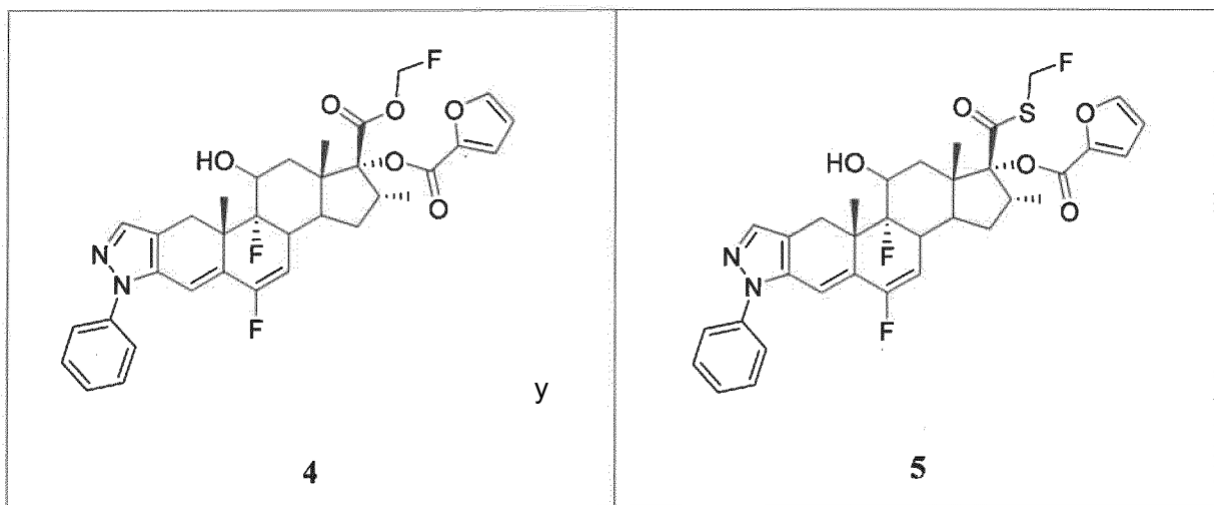
37. Brunger AT, *et al.* (1998) Crystallography & NMR system: A new software suite for macromolecular structure determination. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 54 (Pt 5):905-921.

10 38. Murshudov GN, Vagin AA, Dodson EJ (1997) Refinement of macromolecular structures by the maximum-likelihood method. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 53 (Pt 3):240-255.

39. He Y, *et al.* (2011) Identification of a lysosomal pathway that modulates glucocorticoid signaling and the inflammatory response. *Sci Signal* 4 (180):ra44.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto seleccionado entre:



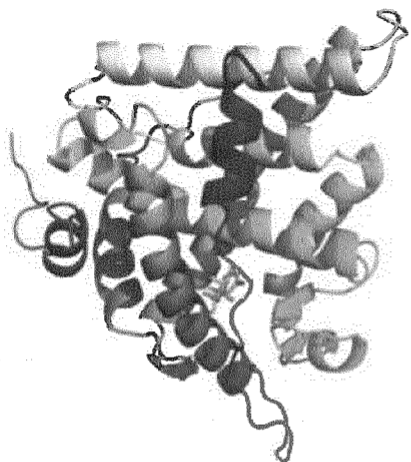
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Una composición farmacéutica que comprende el compuesto de la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un portador o un adyuvante farmacéuticamente aceptable.

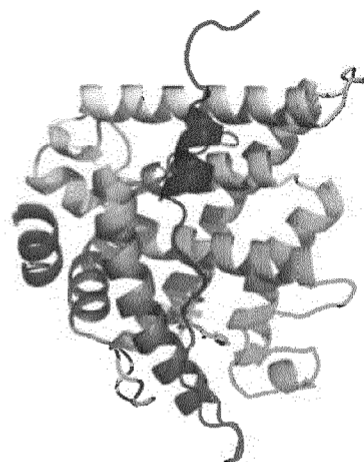
3. Un método no terapéutico para modular la actividad de un receptor de glucocorticoides en una muestra biológica, que comprende la etapa de poner en contacto el receptor de glucocorticoides con un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, una sal farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 2 para su uso en un método de tratamiento o de disminución de la gravedad de una enfermedad inflamatoria en un paciente, preferentemente en donde la enfermedad se selecciona de entre asma, artritis, lupus, enfermedad de Crohn, enfermedades inflamatorias intestinales, enfermedad celíaca, glomerulonefritis, acné vulgar, leucemia y cáncer de páncreas, más preferentemente en donde la enfermedad se selecciona de entre asma y artritis.

FIG. 1A

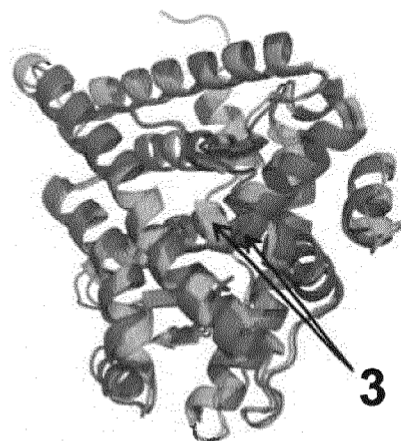
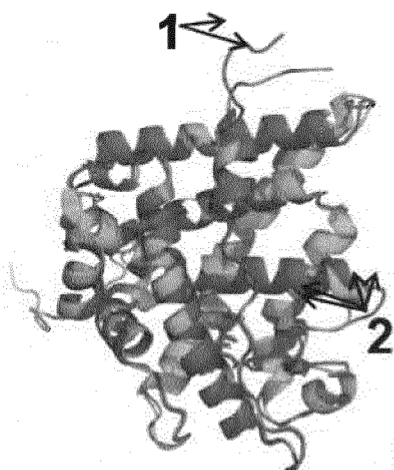


LBD de GR unido a cortisol



LBD de GR unido a MF

FIG. 1B





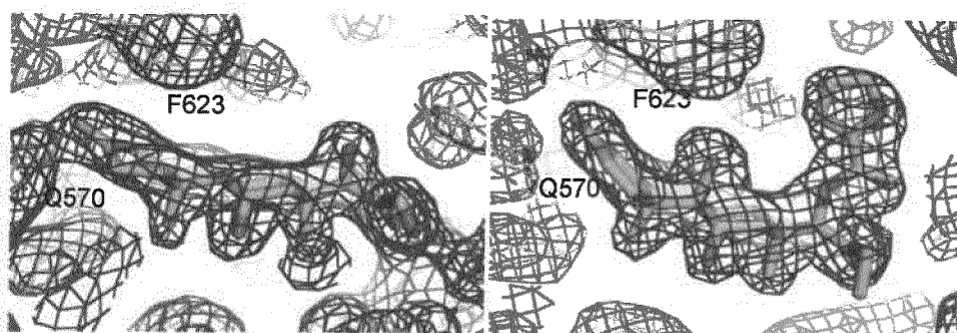
 LBD de GR unido a DEX
 LBD de GR unido a MF

FIG. 1C



Cortisol

MF

FIG. 2A

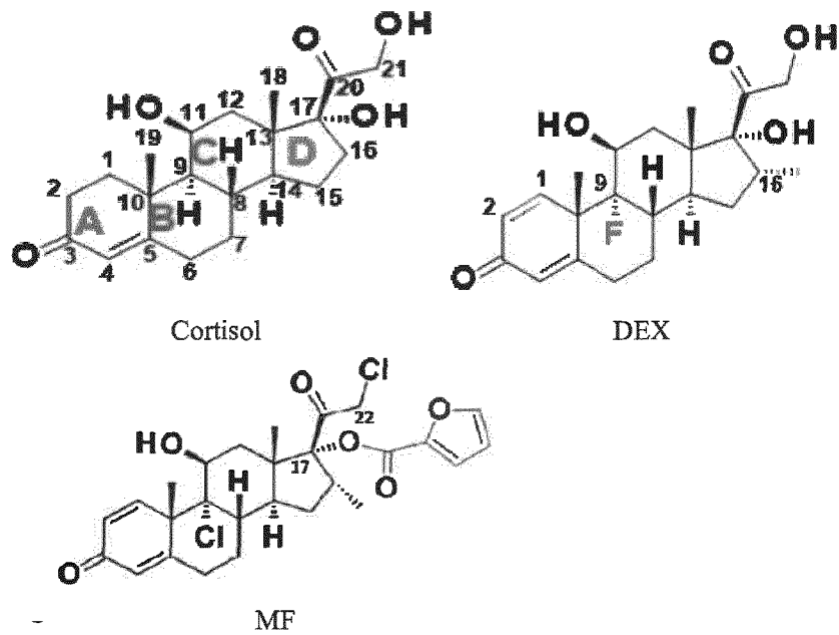


FIG. 2B

Inducción (*MMTV-Luc*)

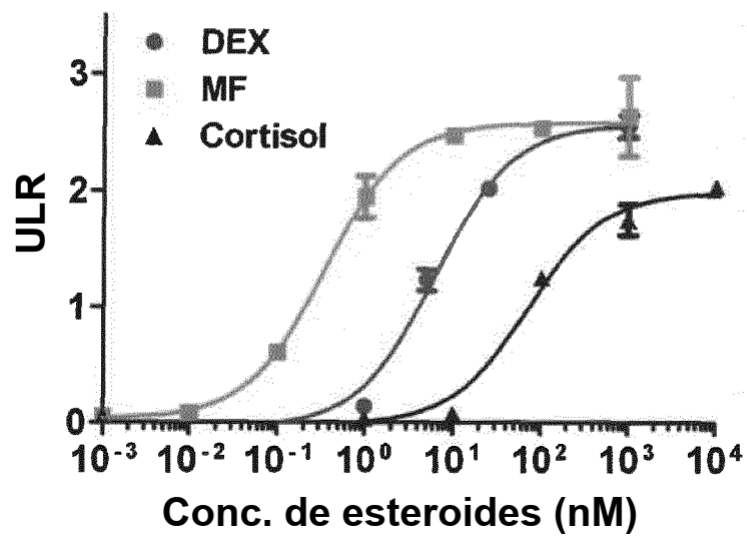


FIG. 2C (CONTINUACIÓN)

Represión (*AP1-Luc*)

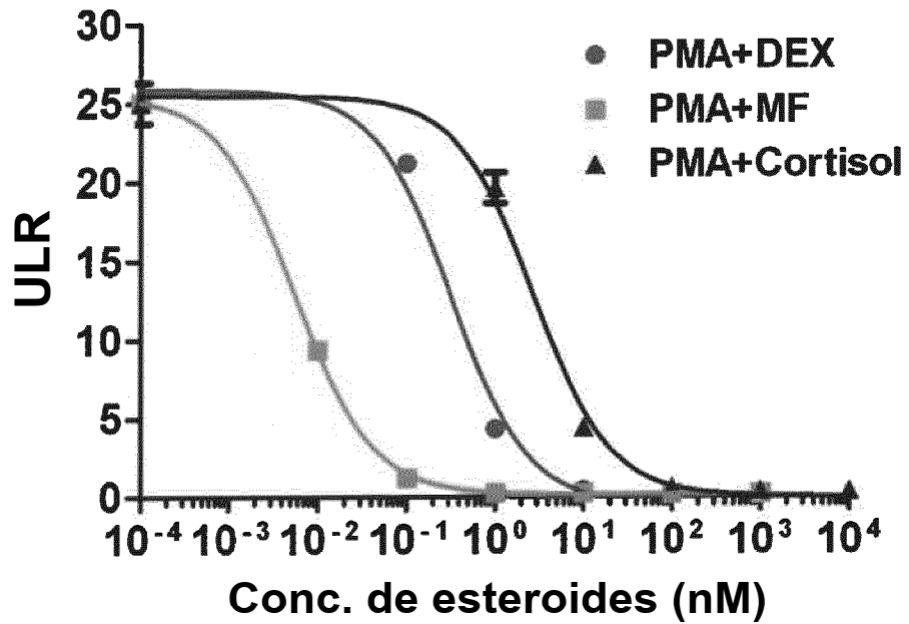


FIG. 2D

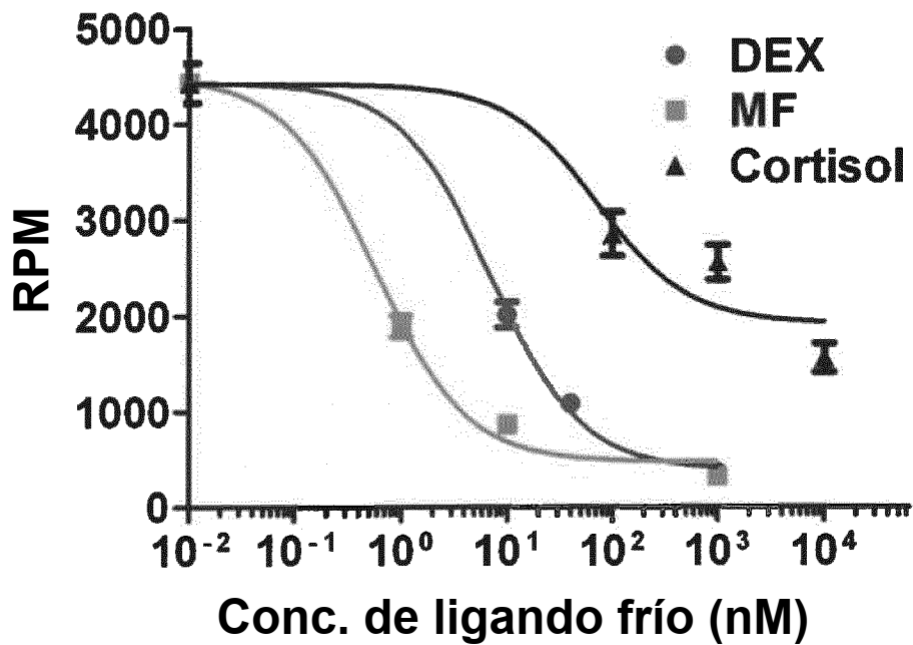


FIG. 3A

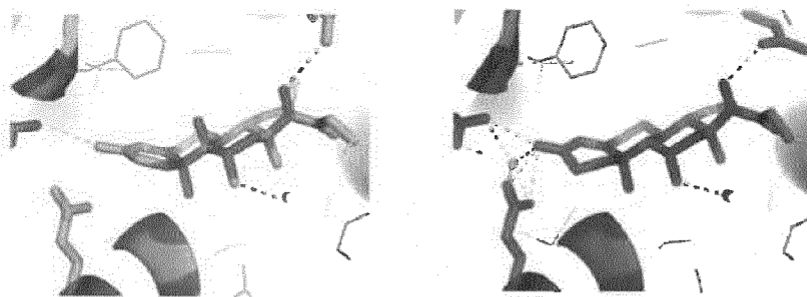
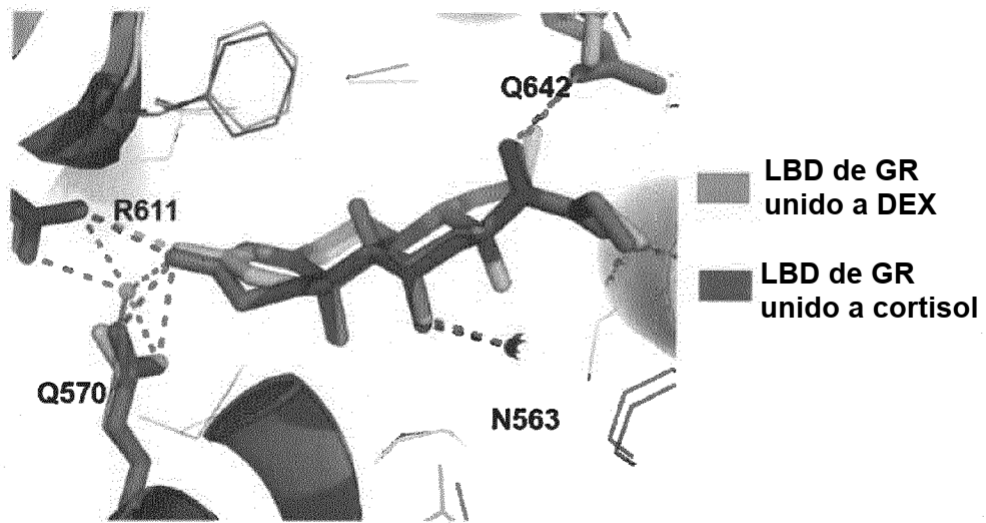


FIG. 3B

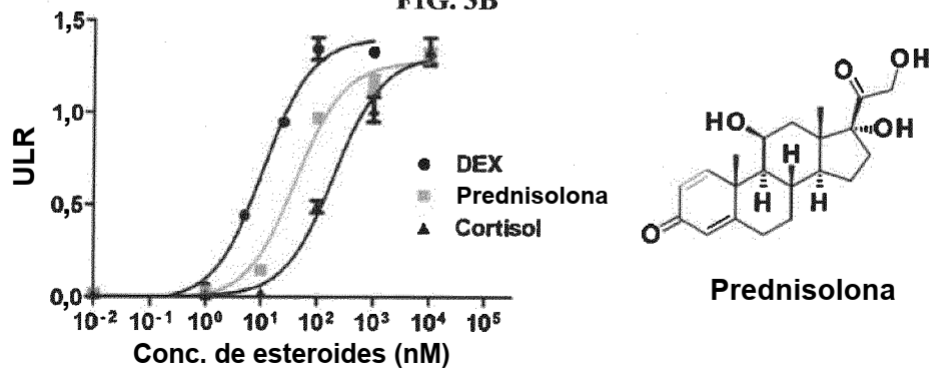


FIG. 4A

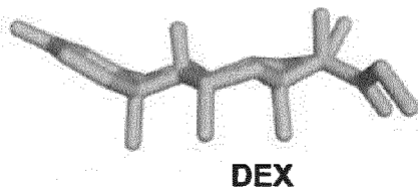


FIG. 4B

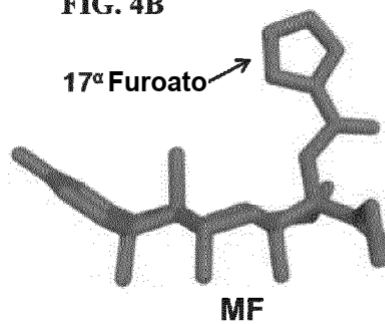


FIG. 4C

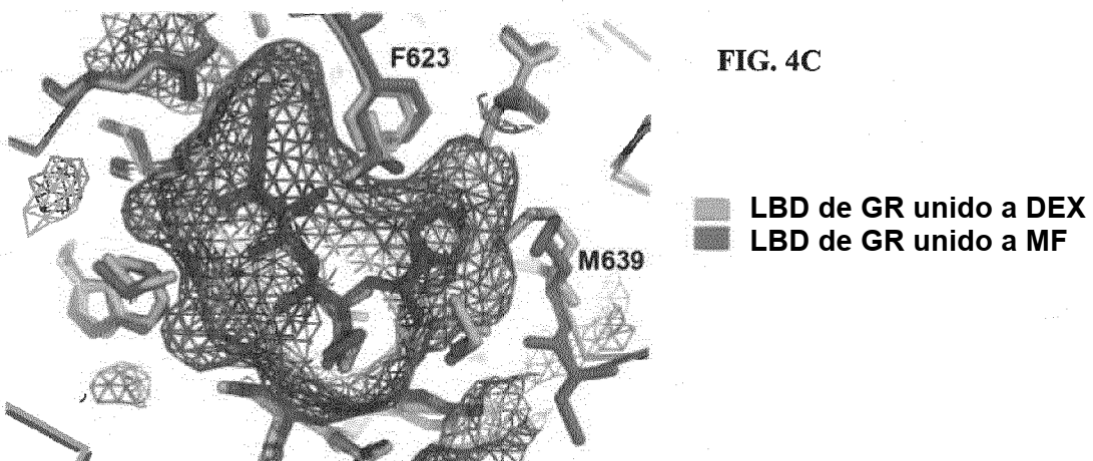


FIG. 4D

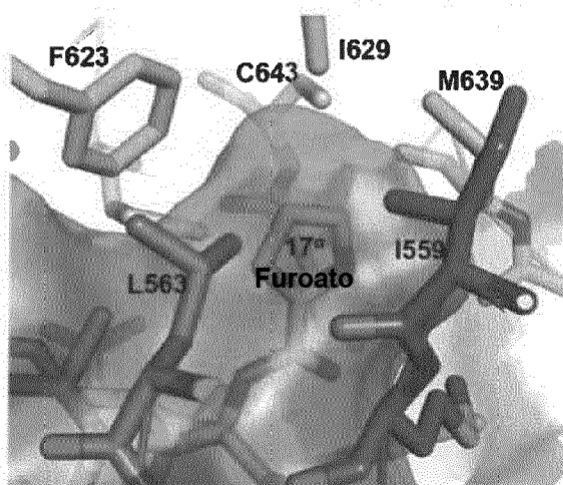


FIG. 5A

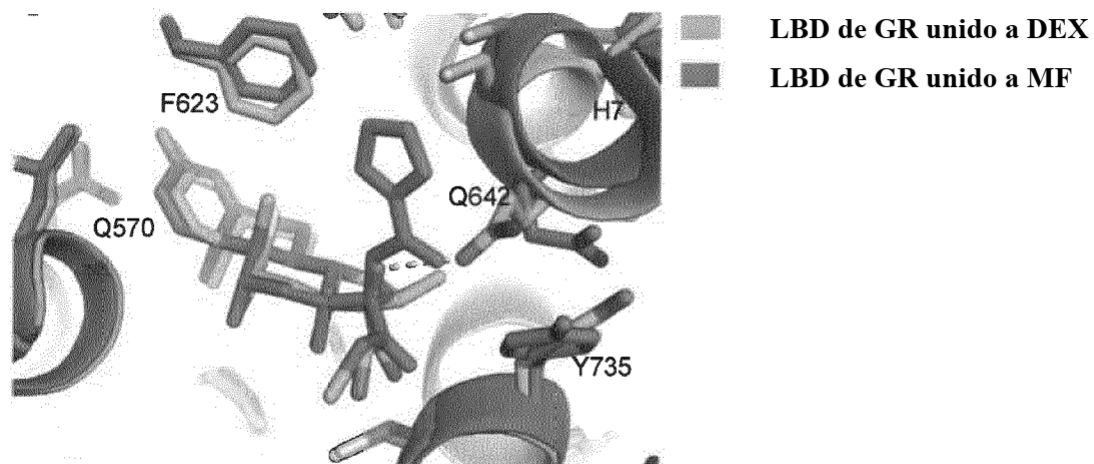


FIG. 5B

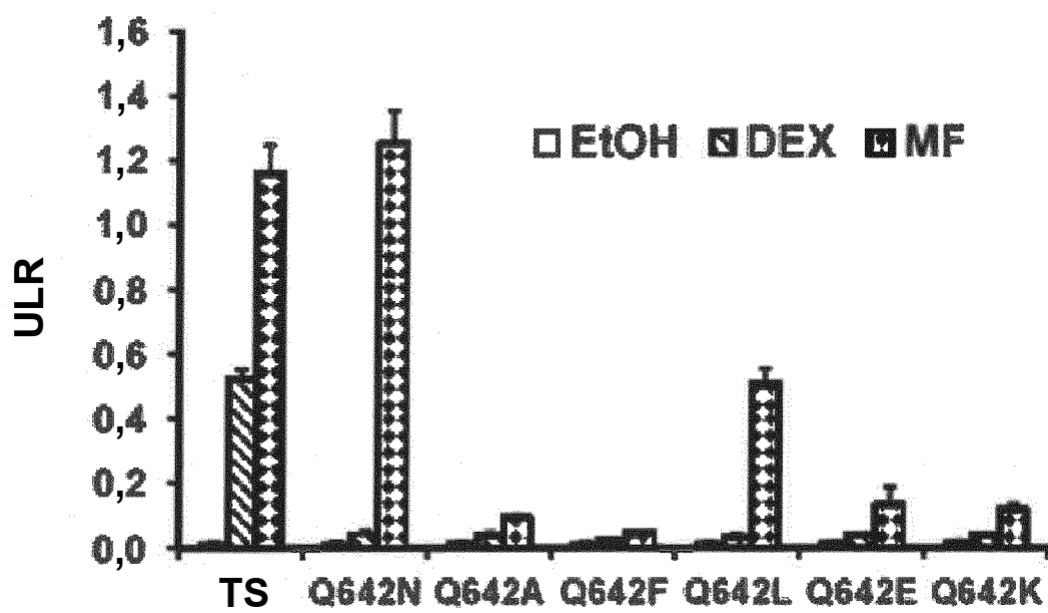


FIG. 5C

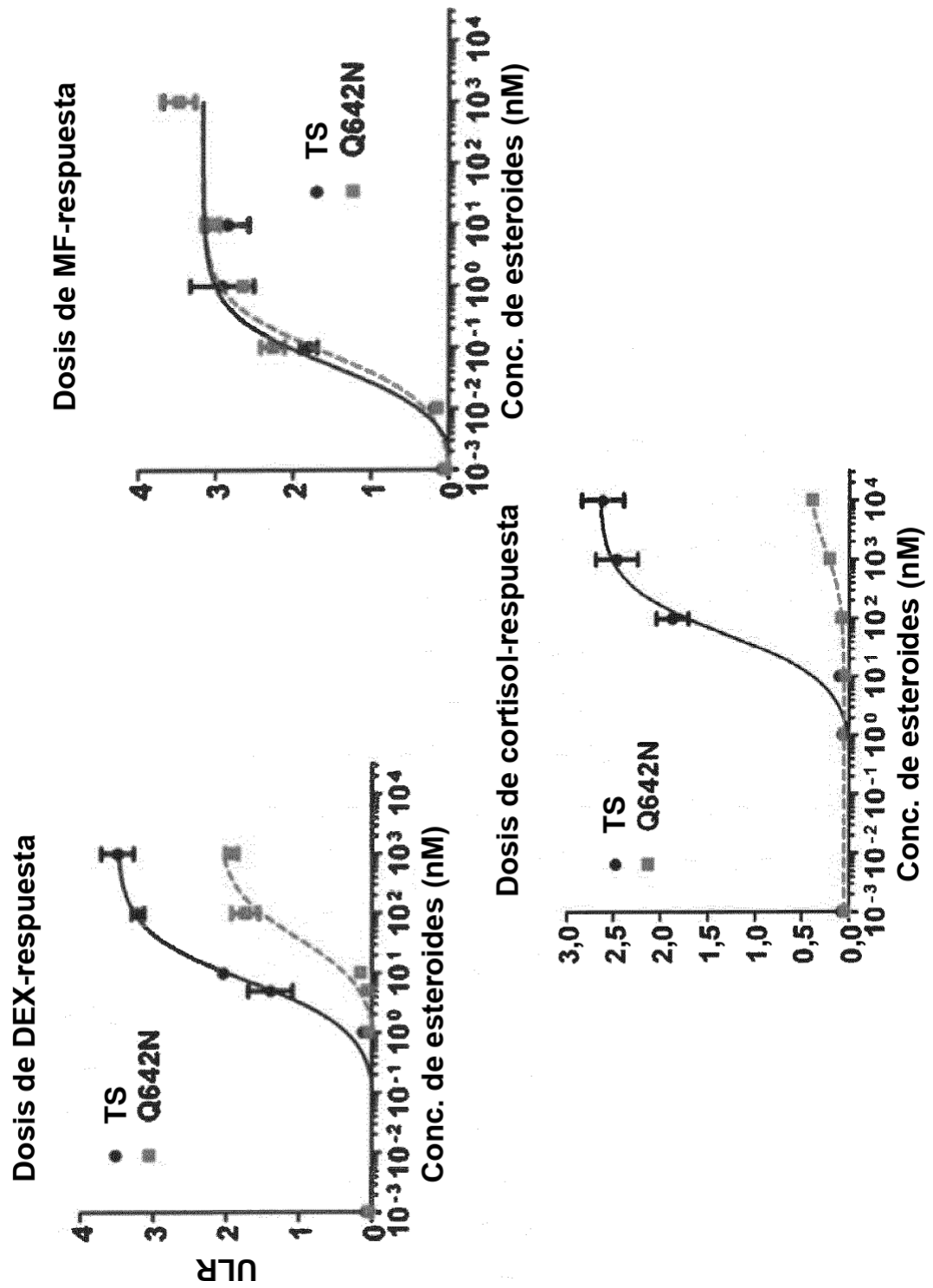


FIG. 6

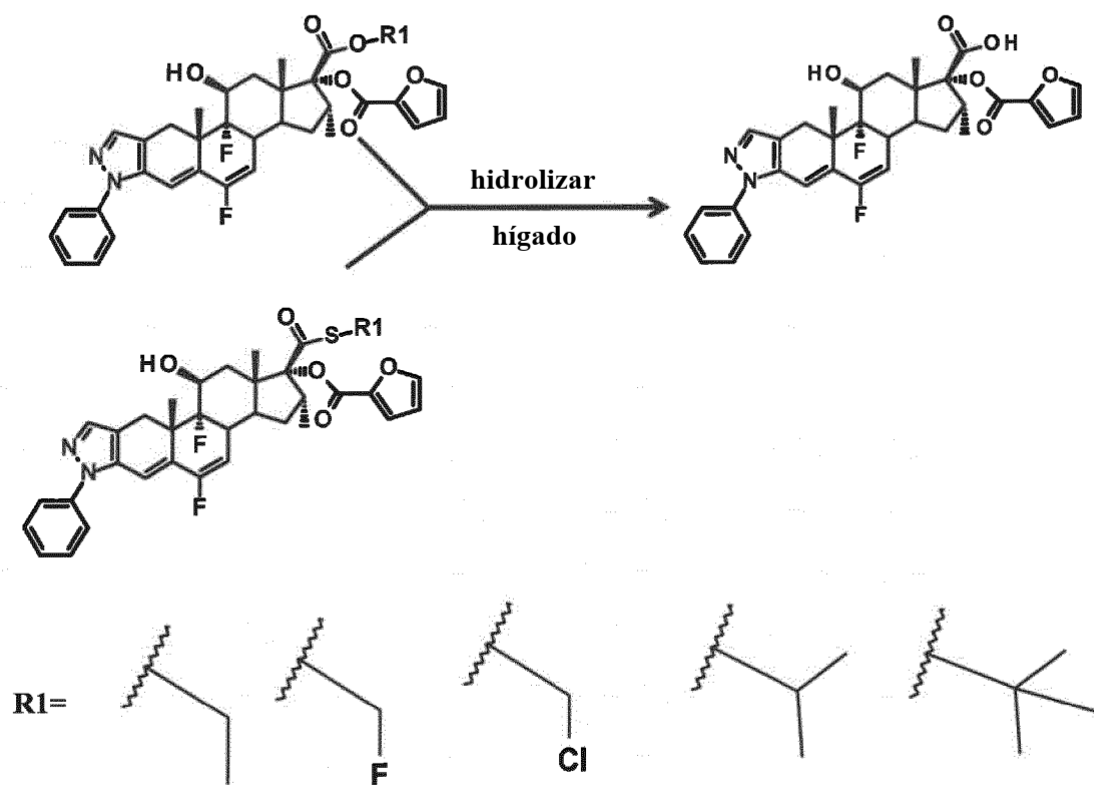


FIG. 6 (continuación)

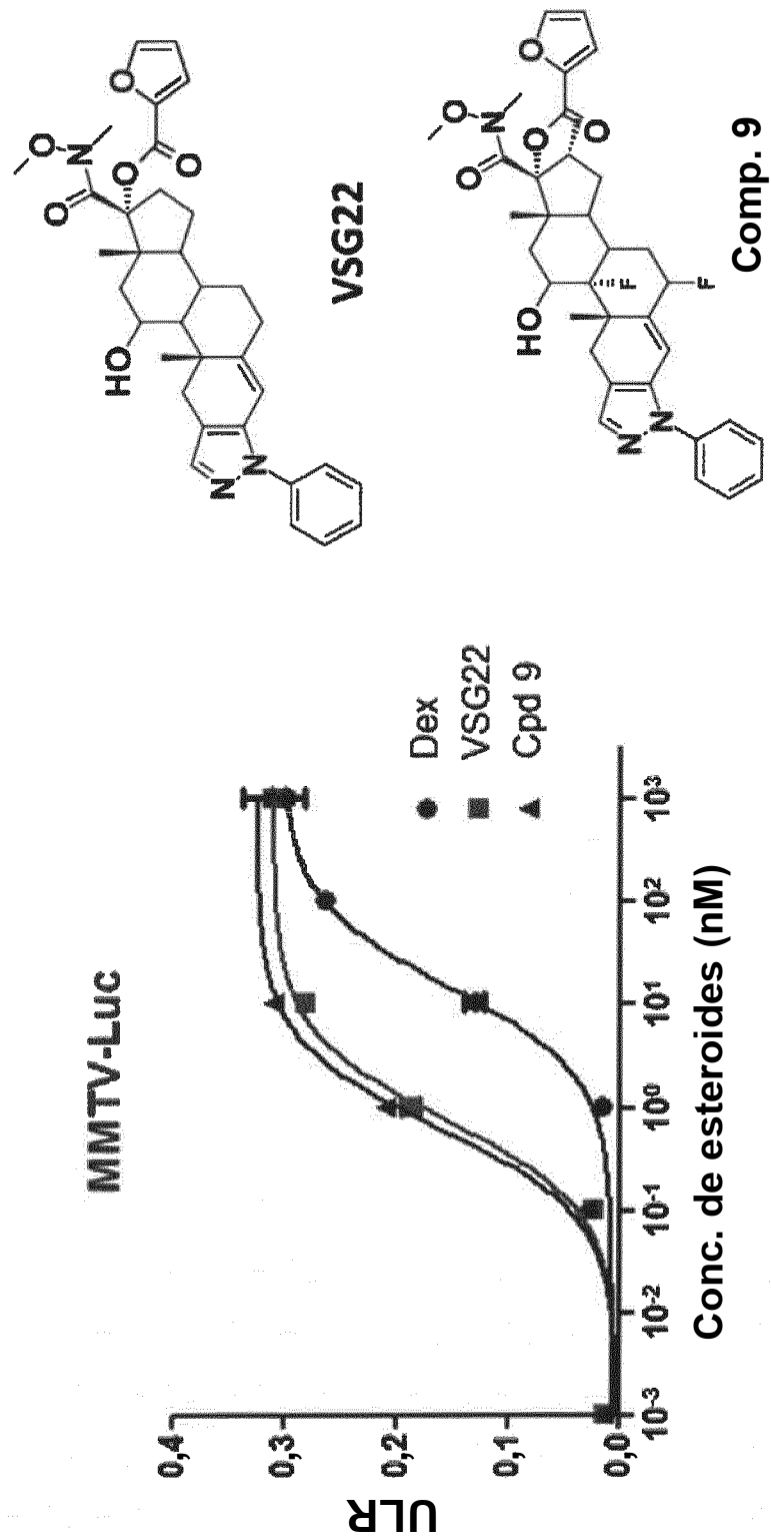


FIG. 7

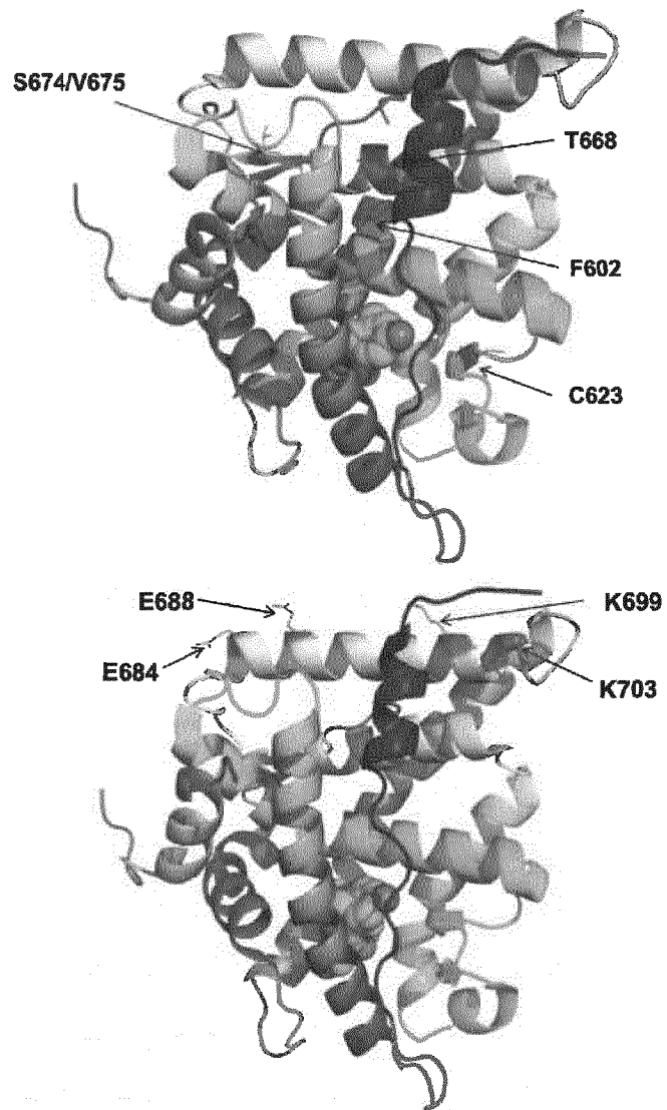


FIG. 8

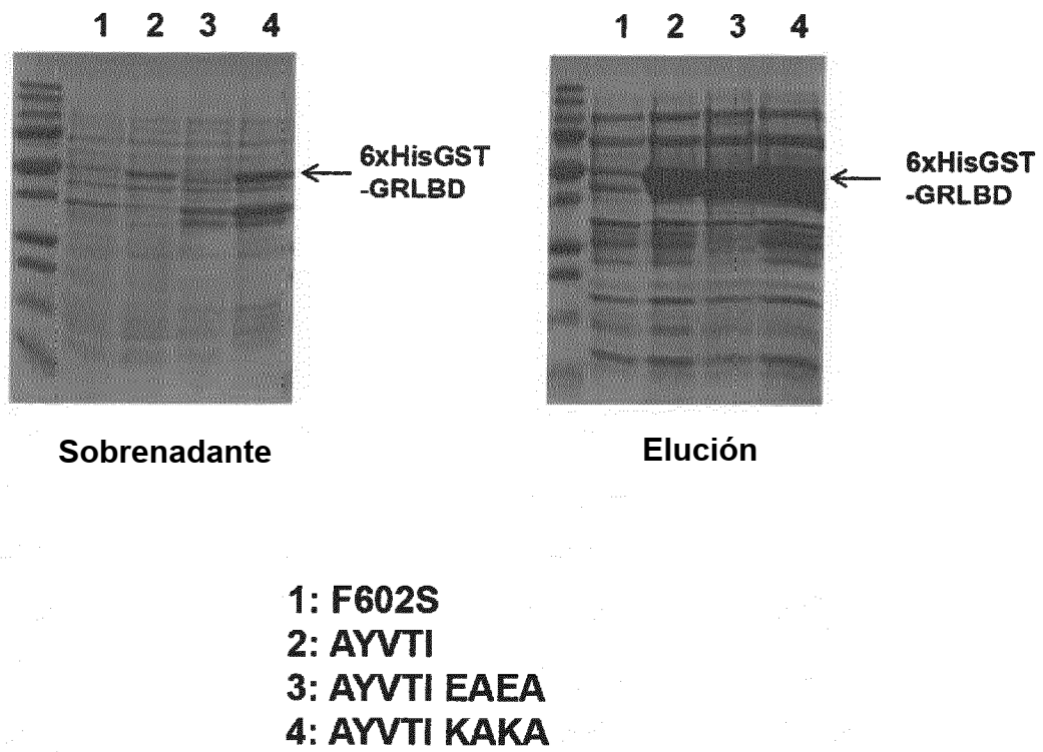
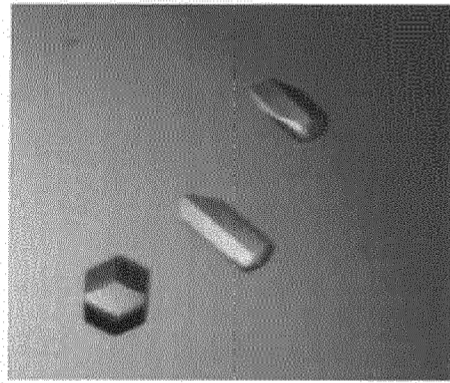


FIG. 9A



LBD de GR unido a cortisol

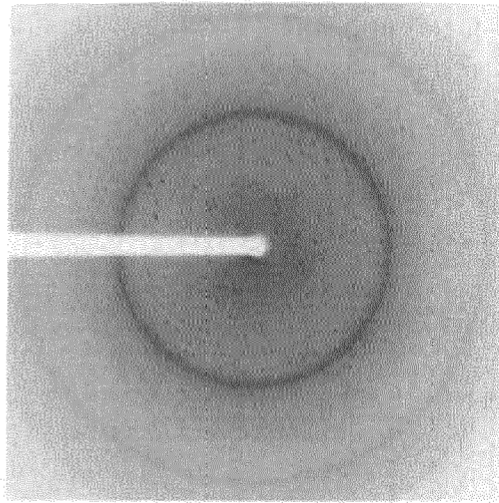


FIG. 9B



LBD de GR unido a MF

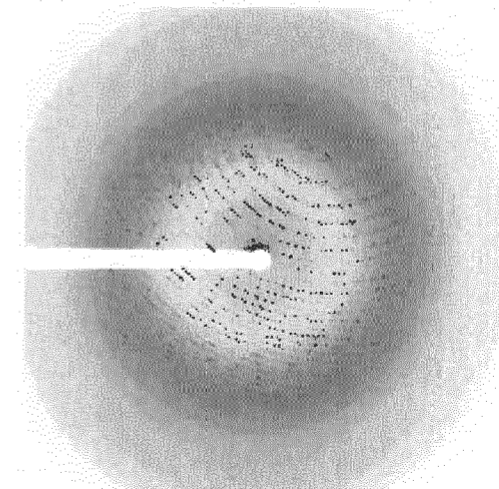


FIG. 10A

Inducción (MMTV-Luc)

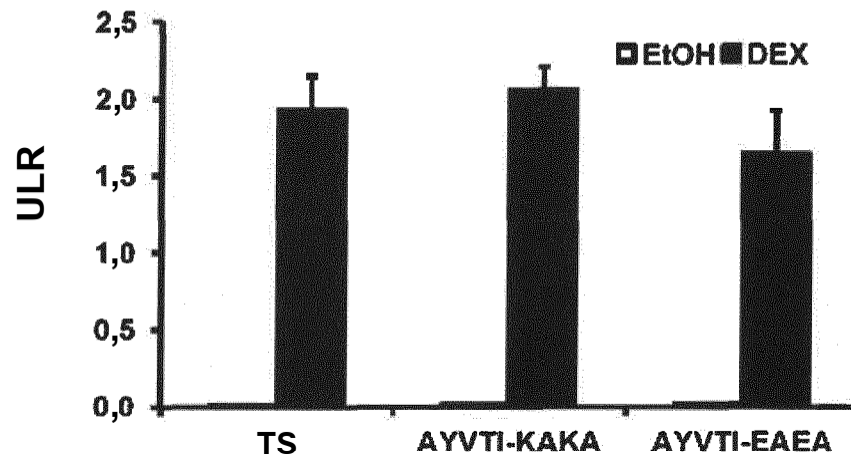


FIG. 10B

Represión (MMTV-Luc)

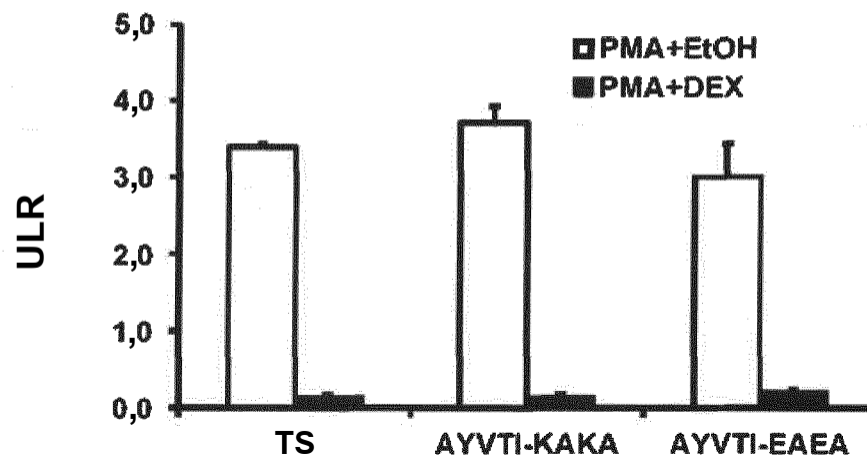
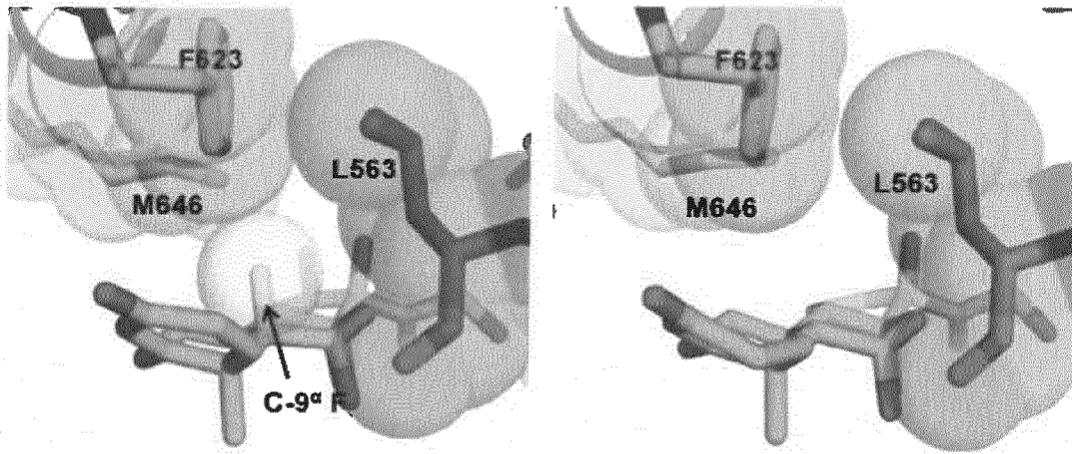


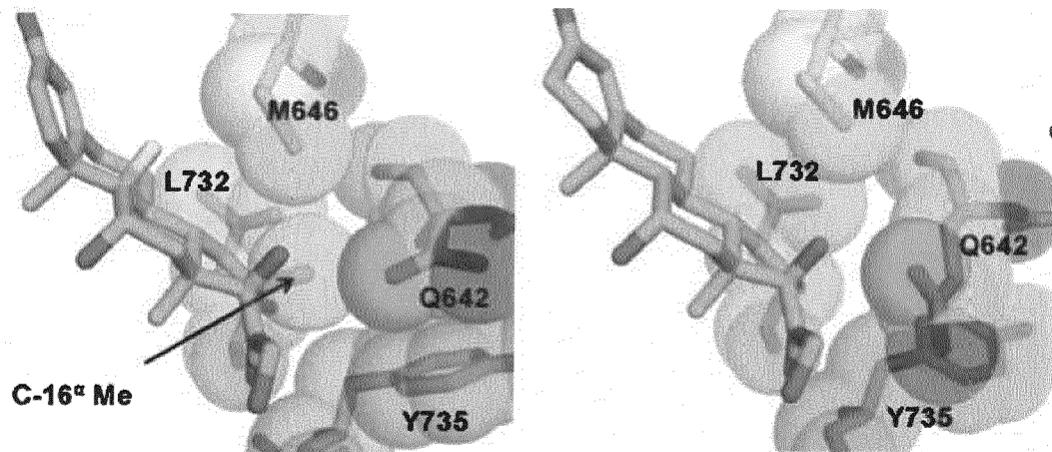
FIG. 11A



LBD de GR unido a DEX

LBD de GR unido a cortisol

FIG. 11B



LBD de GR unido a DEX

LBD de GR unido a cortisol

FIG. 12A

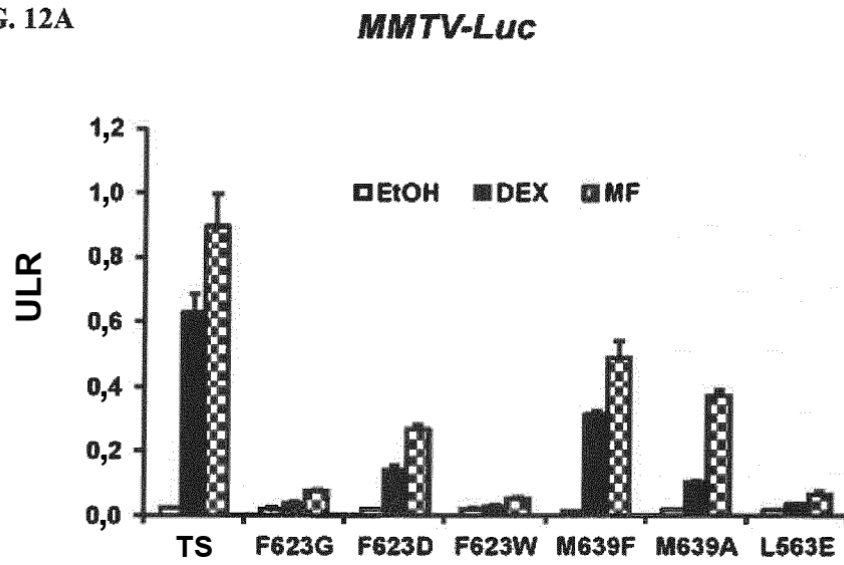


FIG. 12B

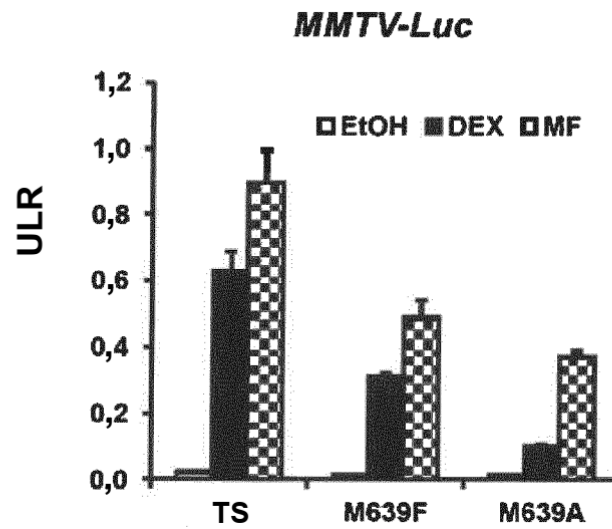


FIG. 13A

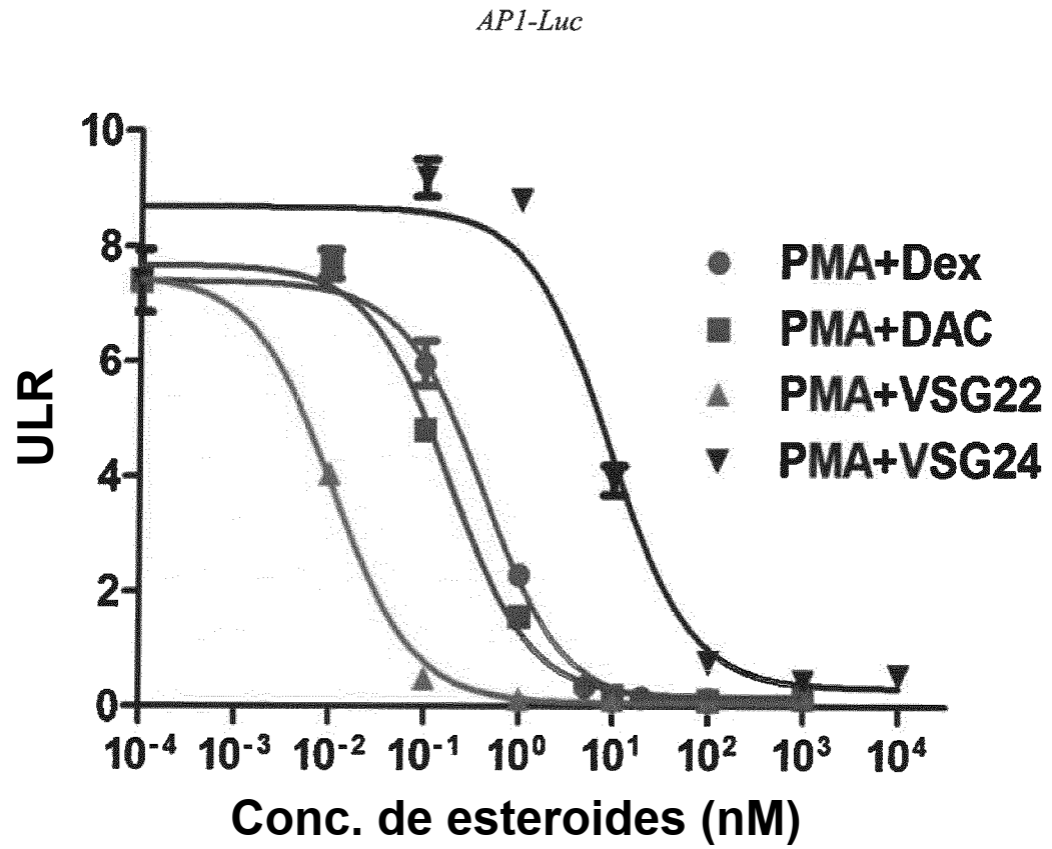


FIG. 13B

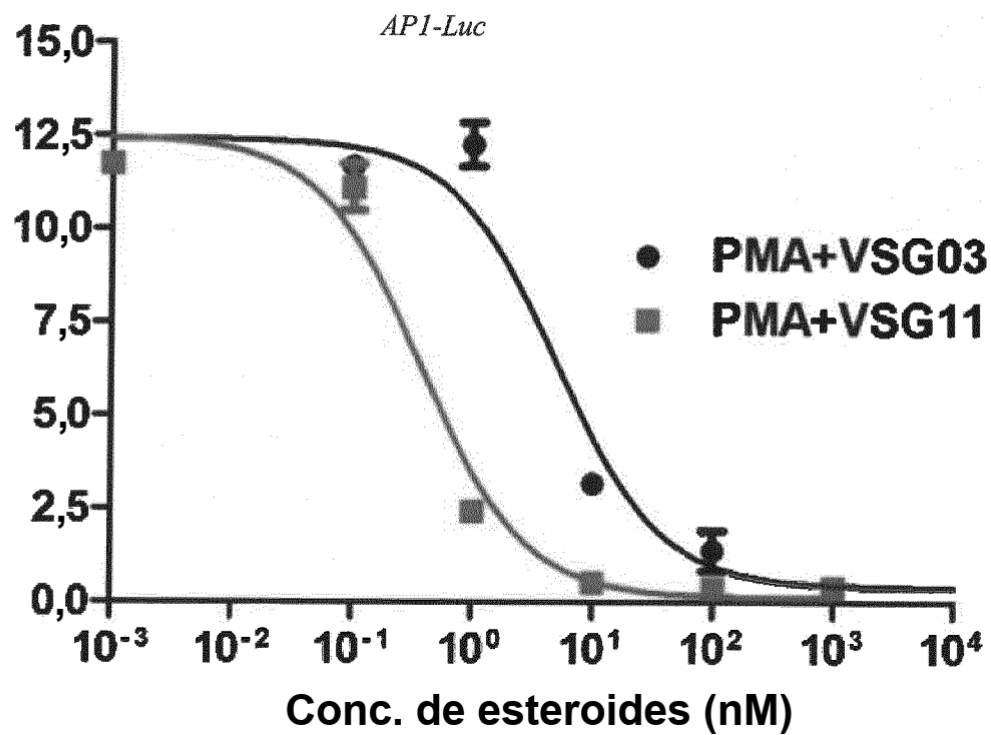
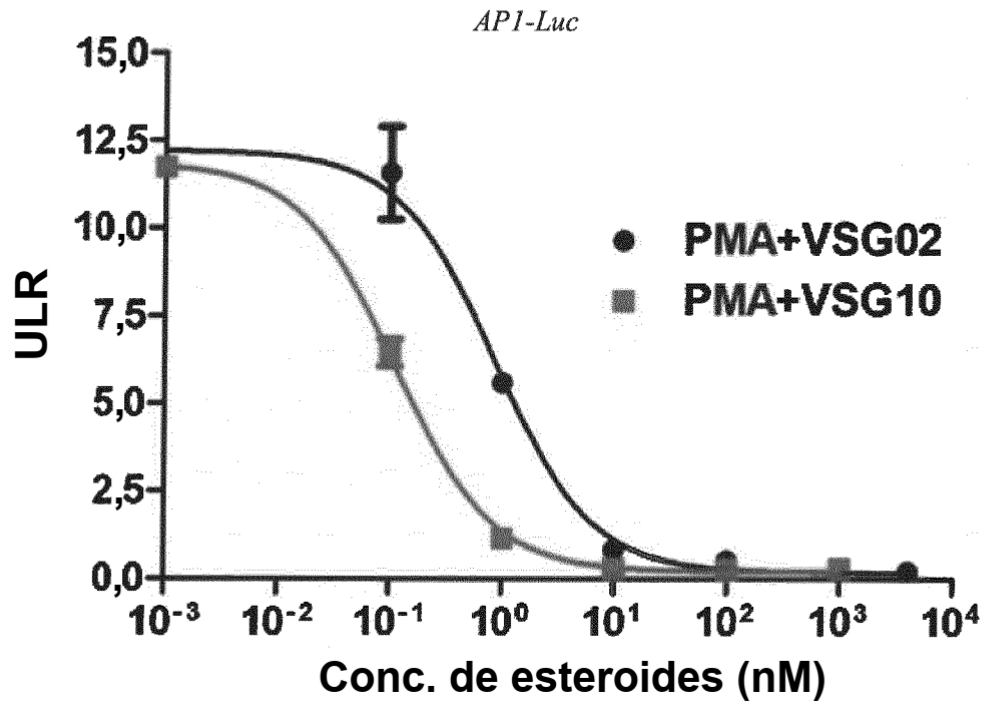


FIG. 13B (CONTINUACIÓN)

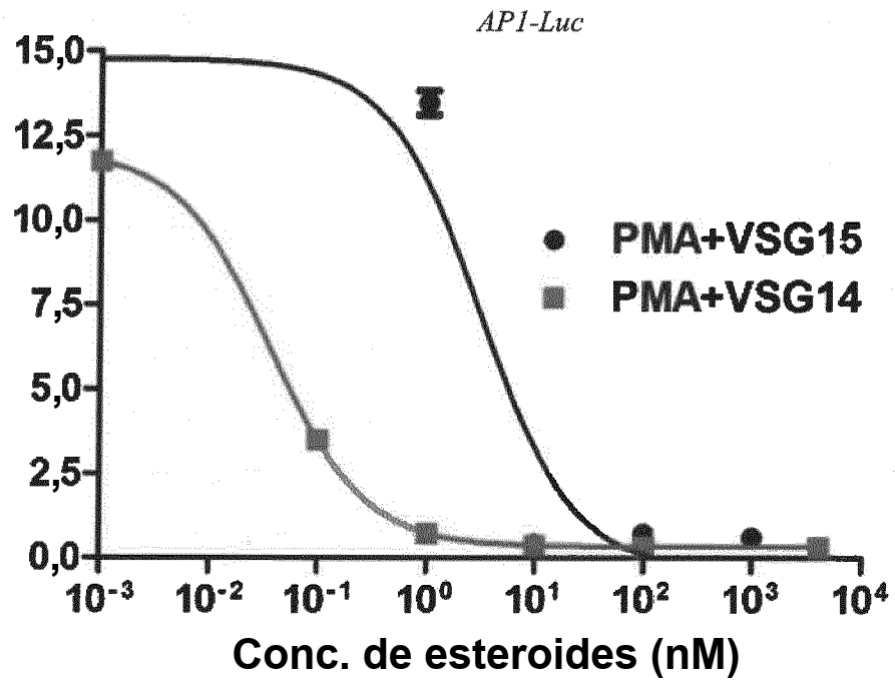


FIG. 14

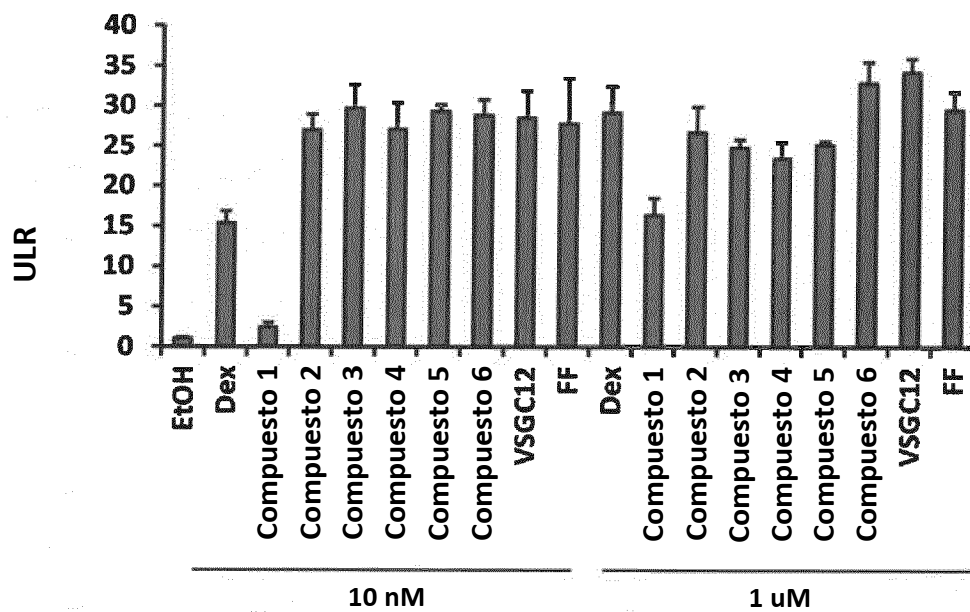


FIG. 15

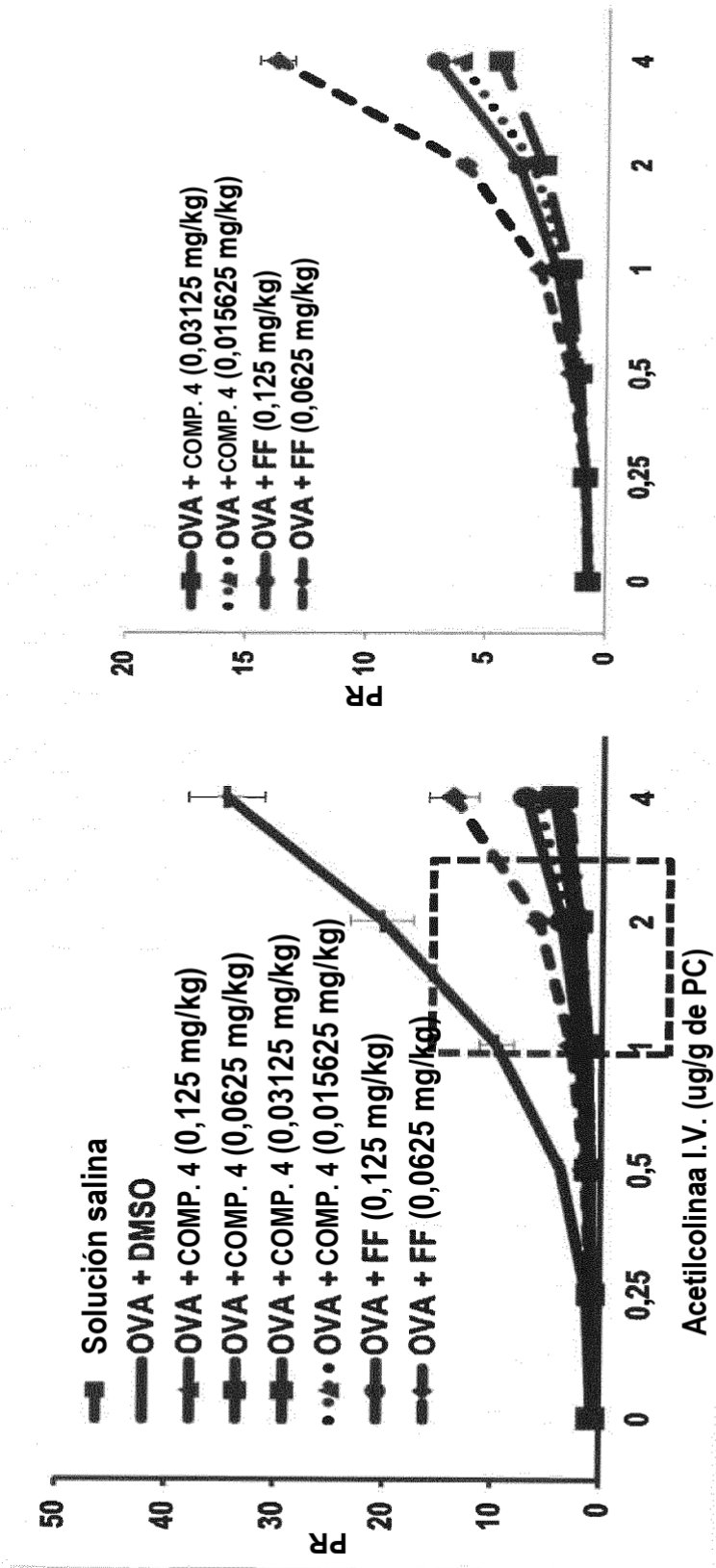
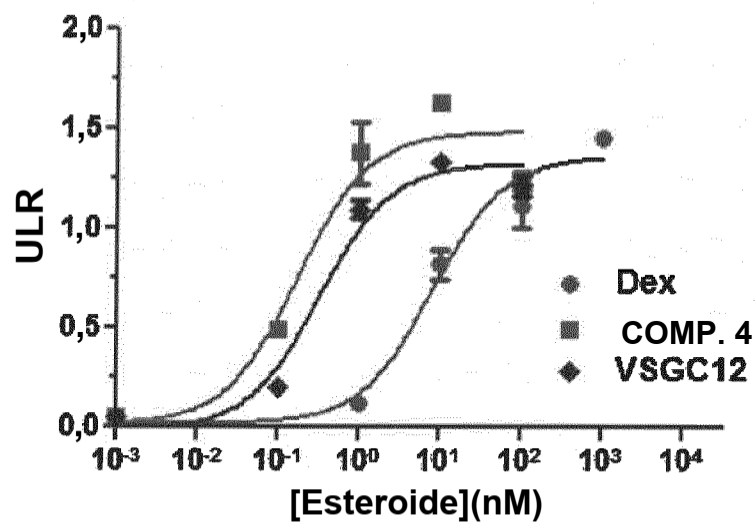


FIG. 16A

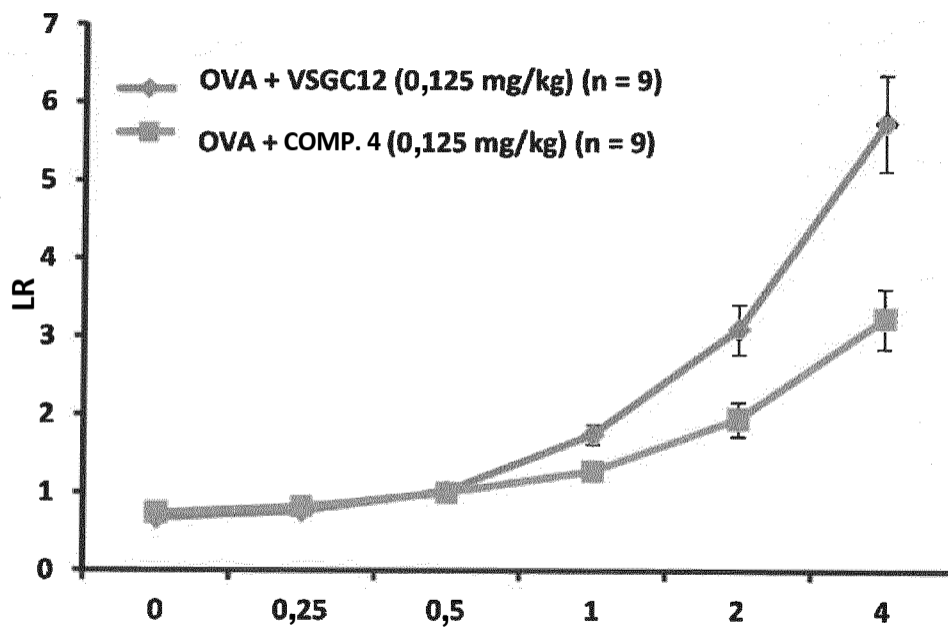
MMTV-Luc



Ensayo de indicador in vitro

FIG. 16B

Modelo de asma en ratón inducida por OVA



Modelo en animal in vivo