



No. 11-161736- -00008-0000

Fecha: 2013-08-20 16:02:58 Dep. 2020 DIR.NUEVASCR
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 523 RESPUESTA Folios: 11



TM TAMAYO
ROYALTIES • PATENTS • TRADEMARKS

Señor

JEFE DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
E. S. D.

REF: EXPEDIENTE: 11-161736

TITULO: "MODULADORES DEL LXR..."

ACTUACIÓN: RESPUESTA A EXAMEN DE PATENTABILIDAD

CARLOS ORLANDO MAYA RODRÍGUEZ, domiciliado en esta ciudad, identificado con la Cédula de Ciudadanía No.17.117.818 expedida en Bogotá, Abogado titulado en ejercicio y portador de la Tarjeta Profesional No. 17.402 del Consejo Superior de la Judicatura, obrando en calidad de apoderado de las sociedades Exelixis Patent Company LLC. y Bristol-Meyers Squibb Company según poderes debidamente conferidos y legalizados, adjunto a las diligencias administrativas de la referencia.

Encontrándome dentro del término legal comparezco para responder el oficio de Requerimiento No. 10005 del Examen de Patentabilidad emanado de esa Oficina, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de 2.000 de C.A.N, damos respuesta en los siguientes términos.

4.- Excepciones de patentabilidad (Art. 20 D 486 Literales (a) – (d))

Tanto el actual pliego reivindicatorio, como el anterior, no contiene reivindicaciones relativas a un uso, se han eliminado las cláusulas 11 a 15 originales, por lo que se salvan las objeciones relacionadas con la patentabilidad de la materia que allí se reivindicaba, de acuerdo a lo establecido por el Artículo 20 de la Decisión 486.

5.- De la solicitud de patente

5.1.- Título:

COLOMBIA:

Carrera 13-A No. 28-38 Bufete 230
Tel (571) 341 9841 / Fax (571) 243 5423
Parque Central Bavaria
Bogotá D.C. / Colombia / Sur América

USA:

COL 12010 TM Tamayo
10000 NW 25 Th St Unit 1 L
33172-2204
MIAMI / FL, U.S.A.

E-mail: consultas@tmtamayo.net
ip@tmtamayo.com

Web: www.tmtamayo.com





TM TAMAYO

ROYALTIES · PATENTS · TRADEMARKS

De acuerdo con lo sugerido por el señor examinador, respecto que el título es muy general y de manera de definir el objeto de la solicitud, se presenta un nuevo título para la solicitud, que en adelante es:

NUEVO TITULO:

"DERIVADOS DE 1-BIFENIL-2-BENCIL-IMIDAZOL, COMO MODULADORES DE LA ACTIVIDAD DE RECEPTORES HEPÁTICOS X (LXR) Y COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS QUE LOS CONTIENEN".

6.. Reivindicaciones

Para atender el requerimiento, según el Artículo 30 de la Decisión 486, del señor Examinador, con respecto a la objeción sobre la memoria descriptiva, el solicitante aclara:

Memoria descriptiva:

Acompañamos una nueva memoria **descriptiva en formato digital**, en reemplazo de la anterior, en la que se ha incorporado el siguiente párrafo en la página 16, entre los párrafos 41 y 42: *"En otra realización, la presente invención proporciona una composición que comprende un compuesto de acuerdo a cualquiera de las realizaciones divulgadas aquí, y uno o más vehículos aceptables para uso farmacéutico."*

Esta enmienda no excede el alcance de la divulgación original, porque describe la composición de la reivindicación original 10, y la reivindicación original 10 fue presentada junto con la memoria, como bien lo señala el Sr. Examinador.

Reivindicaciones:

Acompañamos además un nuevo pliego reivindicatorio con 10 reivindicaciones, en reemplazo del anterior. En formato Digital

COLOMBIA:

Carrera 13-A No. 28-38 Bufete 230
Tel (571) 341 9841 / Fax (571) 243 5423
Parque Central Bavaria
Bogotá D.C. / Colombia / Sur América

USA:

COL 12010 TM Tamayo
10000 NW 25 Th St Unit 1 L
33172-2204
MIAMI / FL, U.S.A.

E-mail: consultas@tmtamayo.net
ip@tmtamayo.com

Web: www.tmtamayo.com





TM TAMAYO

ROYALTIES, PATENTS, TRADEMARKS

En las nuevas reivindicaciones 1 a 4, se ha reemplazado el término "o" por el término "y", en el listado de compuestos.

Las cláusulas 5 a 9 se han enmendado, haciéndolas dependientes de la reivindicación 4, para aportar mayor concisión. Tal como lo señala el Sr. Examinador, la cláusula 4 contiene los compuestos de las reivindicaciones 5 a 9. Por lo tanto, no se ha agregado materia nueva. En cada una de las cláusulas 5 a 9 se ha seleccionado uno de los compuestos de la lista que aparece en la Tabla de la reivindicación 4.

También se ha enmendado la cláusula 10, agregando la expresión "*cualquiera de*" antes de "*las reivindicaciones 1 a 9*". Claramente, no se ha agregado nueva materia con respecto a la divulgación original.

El nuevo pliego reivindicatorio que contiene 10 reivindicaciones, con un contenido que se ajusta a los límites impuestos por la memoria descriptiva original, por lo que no exceden el alcance de la invención.

6.- Determinación del Estado de la técnica:

Nivel Inventivo:

En cuanto a la falta de Nivel Inventivo planteada por el señor. Examinador, con base los documento D1 (WO 2007/002563 y D2 WO 2008/073825, el solicitante manifiesta respetuosamente su desacuerdo con el Sr. Examinador sobre la falta de nivel inventivo de la presente invención, por las siguientes razones:

La presente solicitud contiene 10 reivindicaciones. El examen de patentabilidad cita los documentos **D1 (WO 2007/002563)** y **D2 (WO2008/073825)** como la el arte previo más próximo, que también son las dos referencias citadas en el informe de búsqueda internacional PCT correspondiente a la presente invención. El Sr. Examinador ha objetado las



COLOMBIA:

Carrera 13-A No. 28-38 Bufete 230
Tel (571) 341 9841 / Fax (571) 243 5423
Parque Central Bavaria
Bogotá D.C. / Colombia / Sur América

USA:

COL 12010 TM Tamayo
10000 NW 25 Th St Unit 1 L
33172-2204
MIAMI / FL, U.S.A.

E-mail: consultas@tmtamayo.net
ip@tmtamayo.com

Web: www.tmtamayo.com



TM TAMAYO

ROYALTIES • PATENTS • TRADEMARKS

reivindicaciones argumentando falta de actividad inventiva frente a D1 y D2, debido a que:

(1) D1 describe compuestos que modulan la actividad de los receptores hepáticos X (LXR), en particular, el Compuesto 18 de D1, que supuestamente demuestra la capacidad de modular la actividad de LXR, presentando un valor de EC50 de menos de 1 μ M, y

(2) D2 supuestamente describe compuestos sustituidos de fórmula general (se hace referencia a la página 342, compuesto de la reivindicación 5).

En esencia, la objeción a la reivindicación 1 se basa en la afirmación de que el Compuesto 12 de la reivindicación 1 se diferencia del Compuesto 18 de D1 sólo porque el primero tiene un átomo de flúor en la posición meta del grupo fenilsulfonilo, mientras que el segundo no. El Sr. Examinador concluye que la característica técnica de incluir un átomo de flúor en la posición meta del grupo fenilsulfonilo es la razón por la que el Compuesto 12 de la reivindicación 1 presenta un aumento de la actividad de modulación de LXR. A continuación, basándose en la descripción de una estructura general en D2, en el que la definición de R^k podría incluir hasta 4 radicales, a saber, H, halógeno, OH, y SO₂CH₃, el Sr. Examinador sostiene que la reivindicación 1 es obvia. El Solicitante sostiene respetuosamente que el razonamiento expuesto en el Examen de Patentabilidad es demasiado simplista y la conclusión es de hecho cuestionable. Por el contrario, los compuestos, tal como se los reivindica, son inventivos frente a D1 y D2 por varias razones que detallaremos a continuación.

En primer lugar, D1 no revela ni sugiere la combinación única de las características estructurales que se describen y reivindican en la presente solicitud, y D2 no remedia estas deficiencias. Algunas de estas características estructurales se resumen en la memoria descriptiva, por ejemplo, en las páginas 5-6 del documento WO 2010/138598, que es la publicación de la solicitud PCT N° PCT/US10/36211 presentada



COLOMBIA:

Carrera 13-A No. 28-38 Bufete 230
Tel (571) 341 9841 / Fax (571) 243 5423
Parque Central Bavaria
Bogotá D.C. / Colombia / Sur América

USA:

COL 12010 TM Tamayo
10000 NW 25 Th St Unit 1 L
33172-2204
MIAMI / FL, U.S.A.

E-mail: consultas@tmtamayo.net
ip@tmtamayo.com

Web: www.tmtamayo.com



TM TAMAYO

ROYALTIES - PATENTS - TRADEMARKS

originalmente y correspondiente a la presente invención. Estas características incluyen la combinación de lo siguiente, todo conectado a un núcleo de imidazol:

(1) en la posición 1 del anillo de imidazol, una combinación única de sustituyentes fluoro-, hidroximetil- y metilsulfonil- en las posiciones 3 -, 4 - y 5, respectivamente, del anillo de fenilo del grupo bifenilo distal al núcleo de imidazol.

(2) en la posición 2 del anillo de imidazol, un grupo bencilo en el que el anillo fenilo está predominantemente sustituido con al menos uno de un selecto grupo de sustituyentes, en particular halógeno(s) en la(s) posición(es) orto. En muchos compuestos, el carbono bencílico del grupo bencilo también está sustituido con dos grupos metilo.

(3) en la posición 4 del anillo de imidazol, un sustituyente 2-hydroxyprop-2-ilo.

En ninguna parte de D1 o D2, o ambos combinados, se enseña o sugieren tales combinaciones únicas de características estructurales como las que se describieron anteriormente.

En segundo lugar, los resultados de los estudios comparativos dados a conocer en la presente solicitud han establecido que existe actividad inventiva de la presente invención con respecto a D1. Es notable que los compuestos de la presente reivindicación 1 predominantemente tienen grupos bencilo sustituidos con halógeno, con el o los halógenos ubicados predominantemente en la posición orto, mientras que el Compuesto 18 de D1 lleva un grupo orto-trifluorometil (no un orto-halógeno), además de un meta-cloro, es decir, un grupo (2-trifluorometil-5-cloro) bencilo, que es estructuralmente muy diferente a la mayoría de los compuestos de la presente invención en comparación con el Compuesto 19 de D1, que se utilizó como referencia en el estudio comparativo. Debido a que la mayoría



COLOMBIA:

Carrera 13-A No. 28-38 Bufete 230
Tel (571) 341 9841 / Fax (571) 243 5423
Parque Central Bavaria
Bogotá D.C. / Colombia / Sur América

USA:

COL 12010 TM Tamayo
10000 NW 25 Th St Unit 1 L
33172-2204
MIAMI / FL, U.S.A.

E-mail: consultas@tmtamayo.net
ip@tmtamayo.com

Web: www.tmtamayo.com



TM TAMAYO

ROYALTIES · PATENTS · TRADEMARKS

de los compuestos reivindicados en la presente invención comparten esta característica estructural con el Compuesto 19 de D1, el último es un análogo cercano a la mayoría de los compuestos de las presentes reivindicaciones. Además, debido a que muchos compuestos de la presente invención contienen dos sustituyentes metilo en la posición bencílica, igual que en el Compuesto 19, este factor demuestra aún más que el Compuesto 19 fue seleccionado adecuadamente como un análogo cercano para el estudio comparativo que conduce a la presente invención. Las propiedades superiores inesperadas de los compuestos de la reivindicación 1 en comparación con el Compuesto 19 de D1 han demostrado que los compuestos de la reivindicación 1 poseen actividad inventiva sobre D1.

En tercer lugar, la comparación del Compuesto 12 de la reivindicación 1 con el Compuesto 18 de D1 no es probatorio en la determinación de la actividad inventiva de los compuestos actualmente reivindicados, en general, sobre lo divulgado en D1. Como se explicó anteriormente, en la mayoría de los compuestos de la reivindicación 1, el anillo fenilo del grupo 2-bencilo contiene uno o dos átomos de halógeno en la posición orto, de hecho, con la única excepción de los compuestos 12 y 17. En el examen de patentabilidad, de manera interesante, el Sr. Examinador seleccionó el Compuesto 12 de la reivindicación 1 para compararlo con el Compuesto 18 de D1, debido a que ambos compuestos tienen un grupo trifluorometilo en la posición orto del anillo fenilo del grupo bencilo. Debido a que el compuesto 12 es el único de los dos compuestos, entre los 21 compuestos de la reivindicación 1, que no contienen halógeno en el anillo fenilo del grupo bencilo, el Compuesto 12 de la reivindicación 1 no es un ejemplo representativo de los compuestos reivindicados. Por lo tanto, la comparación del Compuesto 12 de la reivindicación 1 con el Compuesto 18 de D1 no proporcionaría implicaciones significativas sobre la cuestión de la actividad inventiva.

En cuarto lugar, aun suponiendo que la comparación del Compuesto 12 de la reivindicación 1 con el Compuesto 18 de D1 tiene valor probatorio para



COLOMBIA:

Carrera 13-A No. 28-38 Bufete 230
Tel (571) 341 9841 / Fax (571) 243 5423
Parque Central Bavaria
Bogotá D.C. / Colombia / Sur América

USA:

COL 12010 TM Tamayo
10000 NW 25 Th St Unit 1 L
33172-2204
MIAMI / FL, U.S.A.

E-mail: consultas@tmtamayo.net
ip@tmtamayo.com

Web: www.tmtamayo.com



TM TAMAYO

ROYALTIES · PATENTS · TRADEMARKS

determinar la cuestión de la actividad inventiva, la comparación simplificada que se indica en el examen de patentabilidad no es suficiente para establecer la obviedad de la invención reivindicada. El compuesto 12 de la reivindicación 1 se diferencia del Compuesto 18 de D1 no sólo en la diferencia de un grupo meta-fluoro en el anillo fenilo del grupo bifenilo, sino también en el patrón de sustitución del anillo fenilo directamente conectada a la posición 1 del anillo imidazol y el anillo fenilo en el grupo bencilo en la posición 2 del anillo imidazol. En concreto, el Compuesto 12 de la reivindicación 1 contiene un grupo fluoro en el anillo fenilo directamente conectado al anillo imidazol, mientras que el Compuesto 18 de D1 no; por el contrario, el Compuesto 18 de D1 contiene un sustituyente cloro en el anillo fenilo del grupo bencilo, mientras que el Compuesto 12 de la reivindicación 1 no lo contiene. Por lo tanto, el Solicitante sostiene respetuosamente que la comparación hecha entre el Compuesto 12 de la reivindicación 1 y el Compuesto 18 de D1 es poco útil, induciendo de hecho a error, en la determinación de la cuestión de la actividad inventiva.

En quinto lugar, contrariamente a la afirmación del Sr. Examinador, D2 no enseña ni sugiere el patrón de sustitución única en el anillo fenilo del grupo bifenilo distal al núcleo de imidazol. El Sr. Examinador se refiere a la reivindicación 44 de D1, manifestando: "Rk = halógeno, OR¹¹⁰, -SO₂R¹¹⁰ (página 350, línea 4), preferentemente: halógeno = flúor (página 106, línea 10), R¹¹⁰ = hidrógeno (página 343, línea 28) "(véase el informe del examen, Tabla), afirmando que la divulgación enseña la característica estructural única en el anillo fenilo del grupo bifenilo distal al anillo de imidazol, pero de hecho, un vistazo más detallado de la reivindicación 44 de D1 revelaría que no es así. Por ejemplo, en primer lugar, la reivindicación 44 de D1 define "x" como 0 o 1, lo que significa que sólo pueden existir dos sustituyentes en el anillo fenilo distal al anillo de imidazol; en segundo lugar, cuando R^k se define como OR¹¹⁰ y R¹¹⁰ es hidrógeno, como indica el Sr. Examinador, sólo revela que uno de los sustituyentes en el anillo fenilo puede ser hidroxilo (OH), pero en la presente solicitud, todos los compuestos reivindicados contienen un grupo hidroximetilo (-CH₂OH). Por lo tanto, D2 no enseña ni



COLOMBIA:

Carrera 13-A No. 28-38 Bufete 230
Tel (571) 341 9841 / Fax (571) 243 5423
Parque Central Bavaria
Bogotá D.C. / Colombia / Sur América

USA:

COL 12010 TM Tamayo
10000 NW 25 Th St Unit 1 L
33172-2204
MIAMI / FL, U.S.A.

E-mail: consultas@tmtamayo.net
ip@tmtamayo.com

Web: www.tmtamayo.com



TM TAMAYO

ROYALTIES · PATENTS · TRADEMARKS

sugiere el patrón de sustitución única 3-fluoro-4-hidroximetil-5-metilsulfonilo en el anillo fenilo del grupo bifenilo.

Para ser breve, ninguna parte de D1 o D2, o ambos combinados, motivaría a una persona experta en la técnica a investigar los compuestos específicos que se reivindican en la presente invención, a pesar de la divulgación de compuestos tales como los compuestos 19 y 18, y la divulgación general de D2 como señala el Sr. Examinador; las propiedades inesperadas de los compuestos actualmente reivindicados como consecuencia de sus características estructurales únicas han demostrado claramente la actividad inventiva de la presente invención.

En sexto lugar, el Sr. Examinador afirma que el compuesto 12 de la reivindicación 1 tiene una actividad comparable con la del Compuesto 18 de D1, pero de hecho, el primero es 10 veces ($\leq 0,1 \mu\text{M}$) más activo que el segundo ($<1 \mu\text{M}$). Una diferencia de 10 veces no puede considerarse "comparable". Más importante aún, debido a las características estructurales únicas, los compuestos de la presente invención poseen propiedades superiores inesperadas frente a las descritas en D1, es decir, la combinación deseada de propiedades LXR α y LXR β y la potencia tal como se obtiene a partir de los ensayos en sangre humana. A diferencia de la caracterización del Sr. Examinador que señala que la presente invención simplemente propone "la manera de proporcionar compuestos que permiten el aumento de la actividad de los receptores X del hígado (LRX)", la presente invención trató de identificar compuestos que poseen propiedades únicas. Como se describe en la memoria en la página 54 de publicación internacional WO 2010/138598, los compuestos de la presente invención tienen las propiedades deseables de baja actividad LXR α (eficacia menor o igual a 25% del compuesto de control) y alta actividad LXR β (eficacia mayor o igual a 30% del compuesto de control), en comparación con el compuesto de referencia en D1, es decir, el Compuesto 19. Estas propiedades únicas no se revelan ni enseñan en D1 o D2, o ambos combinados. Como se resume en el párrafo [00217] de la publicación WO 2010/138598, "los



COLOMBIA:

Carrera 13-A No. 28-38 Bufete 230
Tel (571) 341 9841 / Fax (571) 243 5423
Parque Central Bavaria
Bogotá D.C. / Colombia / Sur América

USA:

COL 12010 TM Tamayo
10000 NW 25 Th St Unit 1 L
33172-2204
MIAMI / FL, U.S.A.

E-mail: consultas@tmtamayo.net
ip@tmtamayo.com

Web: www.tmtamayo.com



TM TAMAYO

ROYALTIES · PATENTS · TRADEMARKS

anteriores datos representativos ilustran un carácter agonista LXR parcial inesperado y deseable, un aumento de potencia en la sangre humana, bajo eficacia LXR α y estabilidad metabólica en un ensayo microsomal de hígado humano de los compuestos de la presente invención en comparación con compuestos previamente descritos en la técnica, tales como los descritos en la publicación WO 2007/002563 [es decir, D1]. "(Memoria descriptiva párrafo [00217].)

Para abordar más a fondo las consideraciones del Sr. Examinador, el solicitante proporciona los datos obtenidos a partir de estudio del Compuesto 18 de D1 en comparación con el Compuesto 12 de la presente reivindicación 1 en la siguiente Tabla:

Estructura	Compuesto	LXR α EC50 (nM)	LXR α Eff (%)	hWBA hABCA1 L30 EC50 (nM)	hWBA hABCA1 L30 Max P (%)	% Microsoma Humano Remanente
	Compuesto N° 18 de WO 2007/002563	C	--	No ensayado		No ensayado
	Compuesto 12 de la Reiv. 1	A	13	A	32	>80%

El Compuesto 18 de D1 no cumplió con el nivel de eficacia establecido en la presente solicitud para LXR β , que requiere una eficacia mayor o igual a 30% del compuesto de control. Dado que se observó que el Compuesto 18 tenía sólo el 25% de eficacia para LXR β , no se probó en el ensayo de sangre humana (hWBA) o estudio de microsomas. Por lo tanto, incluso suponiendo que la comparación del Compuesto 12 de la presente reivindicación 1 con el compuesto 18 de D1 tenía valor probatorio para decidir sobre la cuestión de la actividad inventiva, los



COLOMBIA:

Carrera 13-A No. 28-38 Bufete 230
Tel (571) 341 9841 / Fax (571) 243 5423
Parque Central Bavaria
Bogotá D.C. / Colombia / Sur América

USA:

COL 12010 TM Tamayo
10000 NW 25 Th St Unit 1 L
33172-2204
MIAMI / FL, U.S.A.

E-mail: consultas@tmtamayo.net
ip@tmtamayo.com

Web: www.tmtamayo.com



TM TAMAYO

ROYALTIES · PATENTS · TRADEMARKS

datos adicionales de la comparación de los dos compuestos han demostrado claramente que la presente invención, es decir, los compuestos 1-21 que se reivindican, posee actividad inventiva frente a D1 y D2.

Por último, el solicitante solicita la atención del Sr. Examinador sobre el hecho de que aunque ambos documentos D1 y D2 fueron citados en el Informe de Búsqueda Internacional de la correspondiente solicitud PCT N° PCT/US2010/036211, el informe preliminar internacional sobre la patentabilidad (IPRP) ha reconocido la patentabilidad de los compuestos actualmente reivindicados, que establece: "las reivindicaciones 1-15 cumplen con los criterios establecidos por el PCT, artículo 33 (2)-(3), ya que el estado de la técnica no enseña ni sugiere el compuesto, isótopo o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, reivindicado en la reivindicación 1." IPRP, 8 de febrero de 2012. Por las mismas razones, el solicitante cree que también poseen actividad inventiva según Reglamentación Colombiana en materia de patentes.

En consecuencia, el Solicitante solicita respetuosamente que se retiren la objeciones formuladas en el Examen de Patentabilidad. Debido a las reivindicaciones 2-9 son todas dependientes de la reivindicación 1, estos compuestos específicamente mencionados también son patentables frente a D1 y D2.

De acuerdo con el nuevo pliego reivindicatorio anexo, la presente invención cumple con los requisitos de patentabilidad exigidos en el Art. 14 de la Decisión 486/2000 de la C.A.N, en el sentido de Novedad, Nivel inventivo y Aplicación Industrial.

Por lo antes expuesto, ruego a usted dar por subsanado dicho requerimiento, sin perjuicio de lo cual desde ya nos acogemos a lo dispuesto por el inciso segundo del artículo 45 de la decisión 486 de la Comunidad Andina de Naciones que a la letra dice: "(...) Cuando la oficina nacional competente estimare que ello es necesario para los fines del examen de patentabilidad, podrá notificar al solicitante dos o más veces (...)" (Subrayado para destacar).



COLOMBIA:

Carrera 13-A No. 28-38 Bufete 230
Tel (571) 341 9841 / Fax (571) 243 5423
Parque Central Bavaria
Bogotá D.C. / Colombia / Sur América

USA:

COL 12010 TM Tamayo
10000 NW 25 Th St Unit 1 L
33172-2204
MIAMI / FL, U.S.A.

E-mail: consultas@tmtamayo.net
ip@tmtamayo.com

Web: www.tmtamayo.com



TM TAMAYO
ROYALTIES • PATENTS • TRADEMARKS

NOTIFICACIONES

Mi poderdante y yo recibiremos notificaciones en la Secretaría de su Despacho o en mi Oficina de Abogado ubicada en la Carrera 13A No. 28-38 Ofc. 230 MZ. 2 Parque Central Bavaria de la ciudad de Bogotá D.C.

Del señor Jefe,

CARLOS ORLANDO MAYA RODRÍGUEZ

No. 17.117.818 expedida en Bogotá,

T.P No. 17.402 del C.S.J.



COLOMBIA:

Carrera 13-A No. 28-38 Bufete 230
Tel (571) 341 9841 / Fax (571) 243 5423
Parque Central Bavaria
Bogotá D.C. / Colombia / Sur América

USA:

COL 12010 TM Tamayo
10000 NW 25 Th St Unit 1 L
33172-2204
MIAMI / FL, U.S.A.

E-mail: consultas@tmtamayo.net
ip@tmtamayo.com

Web: www.tmtamayo.com

 Industria y Comercio SUPERINTENDENCIA		PLANILLA DE RADICACIÓN - DIGITALIZACIÓN DIARIA RELACIÓN DE ANEXOS	
Dependencia: 2020		Fecha: <u>13</u> / <u>08</u> / <u>20</u> AAAA MM DD	
		Recorrido: 3	
Tipo de Radicación: Entrada: ☒ Salida: ☐ Traslado: ☐ Convenio: ☐			
Radicador:		Planilla:	

ID	No. Radicación	Consecutivo	Item
1	11-161736	8	7
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			
15			
16			
17			

Item	Unidad de Conservación
1	Bolsa
2	Caja
3	Libro
4	Sobre
5	Tomo
6	Otro
Item	Soporte Documental
7	CD
8	Disquete
9	DVD
10	Folleto
11	Foto
12	Periódico
13	Plano
14	Publicación Periódica
15	USB
16	Otro

Observaciones: El CD ANEXO Contien un total de 3 archivos: 3 archivos PDF (se encuentra en una carpeta llamada 535 Respuesta Examen) el cual fueron procesados Yeance
--

MODULADORES DE LXR

Antecedentes de la invención

Campo de la invención

[0001] Esta invención se refiere a compuestos que modulan la actividad de los receptores hepáticos X (LXR). La invención también provee composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la invención y métodos para utilizar tales composiciones para modular la actividad de los receptores hepáticos X. En particular, se proveen isómeros de imidazol y derivados para modular la actividad de los LXR.

Receptores nucleares

[0002] Los receptores nucleares son una superfamilia de proteínas reguladoras que están estructural y funcionalmente relacionadas y que son receptores para, por ej., esteroides, retinoides, vitamina D y hormonas tiroideas (véase, por ej., Evans (1988) *Science* 240:889-895). Estas proteínas se unen a elementos de acción *cis* en los promotores de sus genes blanco y modulan la expresión génica en respuesta a ligandos para los receptores.

[0003] Los receptores nucleares pueden clasificarse en base a sus propiedades de unión a ADN (véase, por ej., Evans, *supra* y Glass (1994) *Endocr. Rev.* 15:391-407). Por ejemplo, una clase de receptores nucleares incluye los receptores de glucocorticoides, estrógenos, andrógenos, progestinas y mineralocorticoides que se unen como homodímeros a elementos de respuesta a hormonas (HRE) organizados como repeticiones invertidas (véase, por ej.,

Glass, *supra*). Una segunda clase de receptores, que incluye los activados por ácido retinoico, hormona tiroide, vitamina D₃, ácidos grasos/proliferadores de peroxisoma (es decir, receptores activados por proliferadores de peroxisoma o PPAR) y ecdisona, se une a HRE como heterodímeros con un patrón común, los receptores retinoides X (es decir, RXR, también conocidos como receptores del ácido 9-*cis* retinoico; véase, por ej., Levin *et al.* (1992) *Nature* 355:359-361 y Heyman *et al.* (1992) *Cell* 68:397-406).

[0004] Los RXR son únicos entre los receptores nucleares dado que se unen a ADN como un homodímero y son requeridos como un patrón heterodimérico para que un número de receptores nucleares adicionales nuclear se unan a ADN (véase, por ej., Mangelsdorf *et al.* (1995) *Cell* 83:841-850). Los últimos receptores, denominados subfamilia de receptores nucleares de clase II, incluyen muchos que están establecidos o implicados como reguladores importantes de la expresión génica.

[0005] Existen tres genes RXR (véase, por ej., Mangelsdorf *et al.* (1992) *Genes Dev.* 6:329-344), que codifican RXR α , β , y γ , donde todos son capaces de heterodimerización con cualquiera de los receptores de clase II, si bien aparentemente existen preferencias por distintos subtipos de RXR para receptores compañeros *in vivo* (véase, por ej., Chiba *et al.* (1997) *Mol. Cell. Biol.* 17:3013-3020). En hígados adultos, el RXR α es el más abundante de los tres RXR (véase, por ej., Mangelsdorf *et al.* (1992) *Genes Dev.* 6:329-344), lo que sugiere que puede tener un rol prominente en las funciones hepáticas que

incluyen la regulación por medio de receptores nucleares de clase II. También véase, Wan et al. (2000) *Mol. Cell. Biol.* 20:4436-4444.

LXR α y LXR β

[0006] El LXR α se halla predominantemente en el hígado, con niveles inferiores hallándose en el riñón, intestino, bazo y tejido adrenal (véase, por ej., Willy, et al. (1995) *Gene Dev.* 9(9):1033-1045). El LXR β tiene gran presencia en mamíferos y se ha hallado en casi todos los tejidos examinados. Los LXR se activan por medio de ciertos derivados oxidados naturales de colesterol (véase, por ej., Lehmann, et al. (1997) *J. Biol. Chem.* 272(6):3137-3140). El LXR α se activa por medio de oxicoolesterol y promueve el metabolismo del colesterol (Peet et al. (1998) *Cell* 93:693-704). Así, aparentemente, los LXR juegan un rol en, por ej., el metabolismo del colesterol metabolism (véase, por ej., Janowski, et al. (1996) *Nature* 383:728-731).

[0007] El receptor nuclear LXR juega un rol crítico en el control coordinado del ácido biliar, colesterol, y metabolismo de triglicéridos para mantener la homeostasis de los lípidos. Los LXR y los genes regulados por ácido biliar/oxisterol son blancos potenciales para el desarrollo de terapias con fármacos para reducir el colesterol en suero y tratar enfermedades cardiovasculares y hepáticas. Los compuestos con actividad en LXR pueden tener efectos profundos sobre la homeostasis de los lípidos, y pueden controlar en forma más efectiva las enfermedades o trastornos en que esté implicado el LXR. Esto se logra a través de la regulación de genes múltiples involucrados en la homeostasis del colesterol que incluyen Cyp7a1, un

miembro de la familia citocromo p450 de enzimas y el paso de limitación de la velocidad en la síntesis de ácidos biliares, así como los transportadores de membrana ABC ABCA1, ABCG1, ABCG5, y ABCG8. El ABCA1 es crítico en el eflujo de colesterol y fosfolípidos a lipoproteínas escasas de lípidos tales como ApoA-I, contribuyendo así a un aumento en los niveles de HDL en plasma. Además, aparentemente ABCG5 y ABCG8 median la absorción intestinal disminuida de colesterol y facilitan el eflujo de colesterol desde células hepáticas hacia la bilis. Desafortunadamente, además de los efectos antiaterogénicos de los agonistas de LXR, los estudios en los sistemas de cultivo celular y modelo animal han demostrado que los agonistas de LXR aumentan los niveles de triglicéridos en plasma y la lipogénesis hepática y promueven la producción aumentada de partículas de lipoproteína VLDL. Schultz et al., *Genes & Development* 14:2831-2838 (2000); Repa et al. *Genes & Development* 14:28119-2830 (2000). Las estrategias para minimizar los efectos no deseables en lípidos incluyen identificar compuestos selectivos de LXR β que también sean agonistas parciales. Los agonistas parciales pueden mostrar activación o represión de tejido específico de receptores nucleares, como fue demostrada para el tamoxifen antiestrógenos, que funciona como un antagonista de la señalización de estrógenos en el tejido mamario y un agonista en el útero. La caracterización de LXR de ratones nulos de isoformas específicos indican que el LXR α es el mediador predominante de la actividad de LXR en el hígado. Sin embargo, en los macrófagos, LXR β solo es suficiente para mediar los efectos de los ligandos de LXR sobre la

expresión del gen blanco. Por lo tanto, los compuestos con actividad LXR α limitada deben tener actividad antiaterogénica mientras limitan los efectos hepáticos no deseados.

Síntesis de la invención

[0008] Así, se ha reconocido que existe una necesidad por compuestos, composiciones y métodos para modular la actividad de los receptores LXR nucleares en formas que separen los efectos deseables sobre el metabolismo del colesterol y aterogénesis de niveles aumentados de triglicéridos en plasma y un aumento en la lipogénesis hepática. Si bien agonistas completos de LXR causan tanto los efectos deseables como los no deseables, la presente invención describe compuestos que tienen una separación beneficiosa entre los dos, y así tienen un índice terapéutico mejorado entre el aumento del transporte reverso del colesterol y los efectos perjudiciales sobre los triglicéridos en plasma y el colesterol LDL.

[0009] En un aspecto, la presente invención comprende compuestos o un isómero individual o mezcla de isómeros, un isótopo o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos, que son útiles como moduladores de la actividad de los receptores hepáticos X (LXR).

[0010] Se proveen compuestos para uso en composiciones y métodos para modular la actividad de los receptores nucleares. En particular, compuestos de la invención que son útiles para modular los receptores hepáticos, LXR α y LXR β , y en particular, LXR β .

[0011] En un aspecto, los compuestos provistos en la presente son agonistas de LXR. En otro aspecto, los compuestos provistos en la presente son antagonistas de LXR. Los agonistas que exhiben poca eficacia son, en ciertos aspectos, antagonistas.

[0012] Otro aspecto de esta invención se dirige a métodos para tratar, inhibir, o mejorar los síntomas de una enfermedad o trastorno que es modulada o de otra forma afectada por la actividad de LXR o donde está implicada la actividad de LXR, que comprende administrar a un sujeto necesitado de dicho tratamiento una cantidad efectiva para uso terapéutico de un compuesto de la presente invención o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos.

[0013] Otro aspecto de esta invención se dirige a métodos para modular el metabolismo del colesterol a un sujeto necesitado de dicho tratamiento, que comprende administrar una cantidad moduladora del metabolismo del colesterol efectiva de un compuesto de la presente invención o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos.

[0014] Otro aspecto de esta invención se dirige a métodos para prevenir o tratar la aterosclerosis en un sujeto necesitado de dicho tratamiento, que comprende administrar una cantidad reductora del nivel de colesterol efectiva de un compuesto de la presente invención o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos.

[0015] Otro aspecto de esta invención se dirige a métodos para modular la actividad de LXR a un sujeto

necesitado de dicho tratamiento, que comprende contactar el receptor nuclear con compuesto de la presente invención o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos.

[0016] Otro aspecto de esta invención se dirige a métodos para tratar, inhibir o mejorar uno o más síntomas de hipocolesterolemia en un sujeto necesitado de dicho tratamiento, que comprende administrar una cantidad efectiva para uso terapéutico de un compuesto de la presente invención o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos.

[0017] Otro aspecto de esta invención se dirige a métodos para aumentar el eflujo de colesterol desde células de un sujeto necesitado de dicho tratamiento, que comprende administrar una cantidad aumentadora del eflujo de colesterol efectiva de un compuesto de la presente invención o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos.

[0018] Otro aspecto de esta invención se dirige a métodos para aumentar la expresión del Cassette A1 de unión a ATP (ABCA1) y Cassette G1 de unión a ATP (ABCG1) en las células de un sujeto necesitado de dicho tratamiento, que comprende administrar una cantidad aumentadora de la expresión de ABCA1 y ABCG1 efectiva de un compuesto de la presente invención o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos.

[0019] Otro aspecto de esta invención se dirige a métodos para tratar, inhibir, o mejorar uno o más síntomas

de una enfermedad o trastorno que es afectada por los niveles de colesterol o ácido biliar, que comprende administrar a un sujeto necesitado de dicho tratamiento una cantidad efectiva para uso terapéutico de un compuesto de la presente invención o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos.

[0020] Otro aspecto de esta invención se dirige a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la presente invención o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos y al menos un vehículo o excipiente aceptable para uso farmacéutico.

[0021] Otro aspecto de esta invención se dirige a la regulación del transporte reverso de colesterol y de las vías de señalización inflamatorias que están implicados en patologías de enfermedades humanas que incluyen aterosclerosis y enfermedades asociadas tales como infarto de miocardio y apoplejía isquémica en un sujeto necesitado de dicho tratamiento, que comprende administrar una cantidad reguladora del transporte reverso de colesterol y de las vías de señalización inflamatorias efectiva de un compuesto de la presente invención o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos.

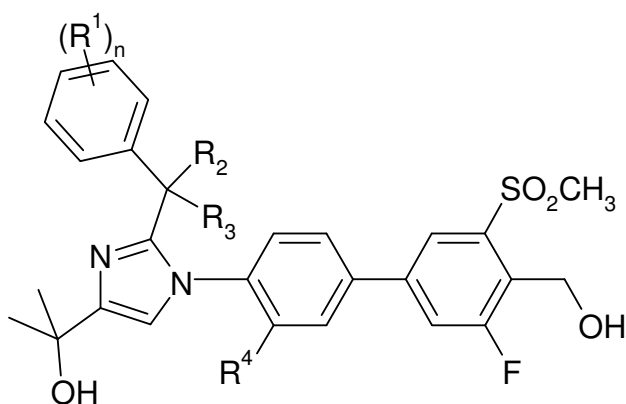
[0022] Otro aspecto de esta invención se dirige al tratamiento del síndrome metabólico que comprende una constelación de trastornos del metabolismo del cuerpo que incluyen obesidad, hipertensión, resistencia a insulina, y diabetes que incluyen el tratamiento de enfermedades que

resultan de metabolismos comprometidos e inmunidad, que incluyen aterosclerosis y diabetes así como también trastornos y enfermedades autoinmunes en un sujeto necesitado de dicho tratamiento, que comprende administrar una cantidad efectiva para uso terapéutico de un compuesto de la presente invención o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos.

[0023] Otro aspecto de esta invención se dirige al tratamiento de la aterosclerosis, resistencia a insulina, osteoartritis, apoplejía, hiperglicemia, dislipidemia, psoriasis, arrugamiento de la piel relacionado con la edad y la exposición a rayos UV, diabetes, cáncer, enfermedad de Alzheimer, inflamación, trastornos inmunológicos, trastornos de los lípidos, obesidad, degeneración macular, afecciones caracterizadas por una función de barrera epidérmica perturbada, afecciones de diferenciación perturbada o proliferación en exceso de la epidermis o membrana mucosa, o trastornos cardiovasculares en un sujeto necesitado de dicho tratamiento, que comprende administrar una cantidad efectiva para uso terapéutico de un compuesto de la presente invención o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos.

Descripción detallada de la invención

[0024] En un aspecto, la presente invención comprende un compuesto de la Fórmula I,



I

o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, donde:

R^1 es cloro, fluoro, metilo o trifluorometilo;

R^2 es H o metilo;

R^3 es H o metilo;

R^4 es H, cloro, fluoro, o metilo; y

n es 1, o 2.

[0025] En algunas realizaciones, el compuesto de la Fórmula I es aquel donde R^2 y R^3 son metilo.

[0026] En algunas realizaciones, el compuesto de la Fórmula I es aquel donde R^1 es cloro o fluoro. En algunas tales realizaciones, R^2 y R^3 son metilo.

[0027] En algunas realizaciones, el compuesto de la Fórmula I es aquel donde R^4 es fluoro. En algunas tales realizaciones, R^1 es cloro o fluoro y R^2 y R^3 son metilo.

[0028] En algunas realizaciones, el compuesto de la Fórmula I es aquel donde R^2 y R^3 son H. En algunas tales realizaciones, R^1 es cloro o fluoro.

[0029] En algunas realizaciones, el compuesto de la Fórmula I es aquel donde R^2 es metilo y R^3 es H. En algunas tales realizaciones, n es 2, R^1 es cloro, y R^4 es fluoro.

[0030] En otro aspecto, la invención comprende un compuesto de la Fórmula estructural I de acuerdo con cualquiera de las realizaciones precedentes junto con uno o más vehículos, excipientes, o diluyentes aceptables para uso farmacéutico.

[0031] En otro aspecto, la invención comprende un método para tratar una enfermedad o trastorno que comprende administrar a un sujeto necesitado de dicho tratamiento una cantidad efectiva para uso terapéutico de (a) un compuesto de la Fórmula estructural I de acuerdo con cualquiera de las realizaciones precedentes o (b) una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la Fórmula estructural I de acuerdo con cualquiera de las realizaciones precedentes junto con uno o más vehículos, excipientes, o diluyentes aceptables para uso farmacéutico, donde la enfermedad o trastorno es aterosclerosis, hipercolesterolemia, hiperlipoproteinemia, hipertrigliceridemia, lipodistrofia, hiperglicemia, diabetes mellitus, dislipidemia, aterosclerosis, enfermedad de la vesícula biliar, acné vulgaris, afecciones dérmicas acneiformes, diabetes, enfermedad de Parkinson, cáncer, enfermedad de Alzheimer, inflamación, trastornos inmunológicos, trastornos de los lípidos, obesidad, afecciones caracterizadas por una función de barrera epidérmica perturbada, afecciones de diferenciación perturbada o proliferación en exceso de la epidermis o membrana mucosa, o trastornos cardiovasculares.

[0032] En algunas realizaciones, la enfermedad o trastorno para tratamiento es hipercolesterolemia, hiperlipoproteinemia, hipertrigliceridemia, lipodistrofia,

hiperglicemia, aterosclerosis, diabetes mellitus, o dislipidemia.

[0033] En otra realización, la presente invención comprende un compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, seleccionado de:

Nº	Nombre
1	2-(1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2-fluorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
2	2-(2-(2-(2-cloro-6-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-3-metil-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
3	2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
4	2-(2-(2-(2-cloro-3-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
5	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
6	2-(2-(2-(2-Cloro-fenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-hidroximetil-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)-propan-2-ol;
7	2-(2-(2-(2-cloro-6-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
8	2-{1-(3,3'-Difluoro-4'-hidroximetil-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-2-[2-(2-fluorofenil)propan-2-il]-1H-imidazol-4-il}-propan-2-ol;
9	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
10	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)[(¹³ CD ₃) ₂]propan-2-ol;
11	2-(2-(2-(2,4-diclorobencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;

12	2-(1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(trifluorometil)bencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
13	2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-cloro-4-fluorobencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
14	2-(2-(2-cloro-4-fluorobencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
15	2-(2-(2,4-diclorobencil)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
16	2-(1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-fluorobencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
17	2-(1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-metilbencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
18	2-(2-(2,6-diclorobencil)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
19	2-[2-(2-Cloro-5-fluoro-bencil)-1-(3'-fluoro-4'-hidroximetil-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il]-propan-2-ol;
20	2-[2-(2-Cloro-bencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-hidroximetil-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il]-propan-2-ol;
21	2-{2-[1-(2,6-diclorofenil)etil]-1-[3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il]-1H-imidazol-4-il}propan-2-ol.

[0034] En otra realización, la presente invención comprende un compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, seleccionado de:

Nº	Nombre
1	2-(1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2-fluorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
2	2-(2-(2-(2-cloro-6-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-3-metil-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;

3	2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
4	2-(2-(2-(2-cloro-3-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
5	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
6	2-(2-(2-(2-Cloro-fenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-hidroximetil-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)-propan-2-ol;
7	2-(2-(2-(2-cloro-6-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
8	2-{1-(3,3'-Difluoro-4'-hidroximetil-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-2-[2-(2-fluorofenil)propan-2-il]-1H-imidazol-4-il}-propan-2-ol;
9	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
21	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)[(¹³ CD ₃) ₂]propan-2-ol; o

[0035] En otra realización, la presente invención comprende un compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, seleccionado de:

Nº	Nombre
11	2-(2-(2,4-diclorobencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
12	2-(1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(trifluorometil)bencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
13	2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-cloro-4-fluorobencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
14	2-(2-(2-cloro-4-fluorobencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;

15	2-(2-(2,4-diclorobencil)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
16	2-(1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-fluorobencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
17	2-(1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-metilbencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
18	2-(2-(2,6-diclorobencil)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
19	2-[2-(2-Cloro-5-fluoro-bencil)-1-(3'-fluoro-4'-hidroximetil-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il]-propan-2-ol; o
20	2-[2-(2-Cloro-bencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-hidroximetil-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il]-propan-2-ol.

[0036] En otra realización, la presente invención comprende un compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, seleccionado de:

Nº	Nombre
3	2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
4	2-(2-(2-(2-cloro-3-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
5	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
9	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
21	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)[(¹³ CD ₃) ₂]propan-2-ol; o

[0037] En otra realización, la presente invención comprende un compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, que es 2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-

(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol.

[0038] En otra realización, la presente invención comprende un compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, que es 2-(2-(2-(2-cloro-3-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol.

[0039] En otra realización, la presente invención comprende un compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, que es 2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol.

[0040] En otra realización, la presente invención comprende un compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, que es 2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol..

[0041] En otra realización, la presente invención comprende un compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, que es 2-{2-[1-(2,6-diclorofenil)etil]-1-[3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il]-1H-imidazol-4-il}propan-2-ol.

En otra realización, la presente invención proporciona una composición que comprende un compuesto de acuerdo a cualquiera de las realizaciones divulgadas aquí, y uno o más vehículos aceptables para uso farmacéutico.

[0042] Los diversos compuestos descriptos en la presente, o sus sales aceptables para uso farmacéutico,

pueden contener uno o más centros asimétricos y pueden así generar isómeros, tales como enantiómeros, diastereómeros, y otras formas estereoisoméricas. Tales formas pueden definirse, en términos de estereoquímica absoluta, como (R)- o (S)-, o como (D)- o (L)- para aminoácidos. La presente invención pretende incluir todos los estereoisómeros individuales y mezclas de los mismos posibles, que incluyen sus formas enantioméricas o diastereoméricas racémicas y ópticamente puras. Normalmente, los compuestos se preparan como racematos y, por conveniencia, pueden utilizarse así, o pueden prepararse isómeros (+) y (-), (R)- y (S)-, o (D)- y (L)- ópticamente activos o diastereómeros correspondientes utilizando sintones quierales o reactivos quirales, o pueden resolverse a partir de mezclas racémicas utilizando técnicas convencionales, tales como cromatografía quiral o HPLC de fase reversa. Cuando los compuestos descritos en la presente contienen enlaces dobles u otros centros de asimetría geométrica, y a menos que se especifique lo contrario, se pretende que los compuestos incluyan isómeros geométricos *E* y *Z*.

[0043] La invención también incluye compuestos isotópicamente marcados de la invención, donde uno o más átomos están reemplazados por un átomo que tiene el mismo número atómico, pero una masa atómica o número de masa diferente de la masa atómica o número de masa normalmente halladas en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos adecuados para inclusión en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, tales como ^2H o D y ^3H o T, carbono tal como ^{11}C , ^{13}C , y ^{14}C , cloro, tal como ^{36}Cl , fluoro

^{18}F , yodo, tal como ^{123}I y ^{125}I , nitrógeno, tal como ^{13}N y ^{15}N , oxígeno, tal como ^{15}O , ^{17}O , y ^{18}O , fósforo, tal como ^{32}P , y azufre, tal como ^{35}S . Ciertos compuestos isotópicamente marcados de la invención, por ejemplo, aquellos que incorporan un isótopo radioactivo, son útiles en los estudios de fármacos y/o de distribución del sustrato en tejido. Los isótopos radioactivos tritio, ^3H , y carbono 14, ^{14}C , son particularmente útiles para este propósito en vista de su facilidad de incorporación y formas listas de detección. La sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio, ^2H o D, puede lograr ciertas ventajas terapéuticas que resultan de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo, aumento de la vida media *in vivo* o reducción de los requerimientos de dosificación, y, por lo tanto, pueden preferirse en algunas circunstancias. La sustitución con isótopos emisores de positrones, tales como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O , y ^{13}N , pueden ser útiles en los estudios de Topografía por Emisión de Positrones (PET) para examinar la ocupancia del sustrato del receptor.

[0044] En general, los compuestos isotópicamente marcados de la invención pueden prepararse por medio de técnicas convencionales conocidas por aquellos con experiencia en la técnica o por procesos análogos a los descritos en la presente, utilizando un reactivo isotópicamente marcado adecuado en lugar del reactivo no marcado utilizado en contrario.

Definiciones

[0045] Los siguientes términos y expresiones utilizados en la presente tienen los significados indicados.

[0046] "Receptor nuclear" se refiere a un receptor que activa o reprime la transcripción de uno o más genes en el núcleo (pero que también puede tener acciones de señalización del segundo mensajero), típicamente junto con otros factores de transcripción. El receptor nuclear es activado por el ligando natural cognado para el receptor. Normalmente, los receptores nucleares se hallan en el citoplasma o núcleo, más que estar presentes unidos a membranas. Un receptor nuclear es un miembro de una superfamilia de proteínas reguladoras que son receptores para diversas moléculas endógenas pequeñas, por ej., esteroides, retinoides, vitamina D y hormonas tiroideas. Estas proteínas se unen a elementos de acción cis en los promotores de sus genes blanco y modulan la expresión génica en respuesta a un ligando. Los receptores nucleares pueden clasificarse en base a sus propiedades de unión a ADN. Por ejemplo, una clase de receptores nucleares incluye los receptores de glucocorticoides, estrógenos, andrógenos, progestinas y mineralocorticoides que se unen como homodímeros a elementos de respuesta a hormonas (HRE) organizados como repeticiones invertidas. Otro ejemplo son receptores, que incluye los activados por ácido retinoico, hormona tiroide, vitamina D₃, ácidos grasos/proliferadores de peroxisoma y ecdisona, que se unen a HRE como heterodímeros con un patrón común, el receptore retinoide X (RXR). Entre los últimos receptores está LXR.

[0047] "El receptor hepático X" o "LXR" se refiere a un receptor nuclear implicado en la biosíntesis del colesterol. De acuerdo con lo utilizado en la presente, el término LXR se refiere a LXR_α y LXR_β, dos forms de la

proteína halladas en mamíferos. El receptor hepático X α o LXR α se refiere al receptor descrito en las Patentes de los Estados Unidos N° 5.571.696, 5.696.233 y 5.710.004, y Willy et al. (1995) Gene Dev. 9(9):1033-1045. El receptor hepático X β o LXR β se refiere al receptor descrito en Peet et al. (1998) Curr. Opin. Genet. Dev. 8(5):571-575; Song et al. (1995) Ann. N.Y. Acad. Sci. 761:38-49; Alberti et al. (2000) Gene 243(1-2):93-103; y en las referencias allí citadas; y en las Patentes de los Estados Unidos N° 5.571.696, 5.696.233 y 5.710.004.

[0048] "Aceptable para uso farmacéutico" se refiere a aquellos compuestos, materiales, composiciones, y/o formas de dosificación que son, dentro del alcance del juicio médico, adecuados para contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin toxicidad, irritación, respuesta alérgica excesivas, u otros problemas o complicaciones conmensuradas con una relación razonable de beneficio/riesgo o que por el contrario hayan sido aprobados por United States Food and Drug Administration (Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos) como aceptables para uso en humanos o animales domésticos.

[0049] "Sal aceptable para uso farmacéutico" se refiere a sales con adición de ácido y base.

[0050] "Sal con adición de ácido aceptable para uso farmacéutico" se refiere a aquellas sales que retienen la efectividad y propiedades biológicas de las bases libres, que no son biológicamente o de otra manera indeseables, y que se forman con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido

nítrico, ácido fosfórico y similares, y ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido trifluoroacético, ácido, propionico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido cinnámico, ácido mandélico, ácido metansulfónico, ácido etansulfónico, ácido p-toluensulfónico, ácido salicílico y similares.

[0051] "Sal con adición de base" se refiere a aquellas sales que retienen la efectividad y propiedades biológicas de las bases libres, que no son biológicamente o de otra manera indeseables. Estas sales se preparan a partir de la adición de una base inorgánica o una base orgánica al ácido libre. Las sales derivadas a partir de bases inorgánicas incluyen, pero sin limitación, las sales de sodio, potasio, litio, amonio, calcio, magnesio, hierro, zinc, cobre, manganeso, aluminio y similares. Las sales inorgánicas preferidas son las sales de amonio, sodio, potasio, calcio, y magnesio. Las sales derivadas de bases orgánicas incluyen, pero sin limitación, sales de aminas primarias, secundarias, y terciarias, aminas sustituidas que incluyen aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio iónico, tales como resinas de isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2-dimetilaminoetanol, 2-dietilaminoetanol, diciclohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaina, hidrabamina, colina, betaina, etilenediamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, purinas, piperazina, piperidina, N-etilpiperidina, poliamina y similares. Las bases orgánicas

particularmente preferidas son isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetilamina, diciclohexilamina, colina y cafeína.

[0052] "Cantidad efectiva para uso terapéutico" se refiere a una cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto, es suficiente para llevar a cabo un tratamiento para una enfermedad o trastorno descrita en la presente. La cantidad de un compuesto que constituye una "cantidad efectiva para uso terapéutico" variará dependiendo del compuesto, el trastorno y su severidad, y la edad del sujeto a tratar, pero puede ser determinada rutinariamente por aquellos con experiencia en la técnica.

[0053] "Modulando" o "modular" se refiere al tratamiento, prevención, supresión, mejora o inducción de una función, afección o trastorno. Por ejemplo, se presume que los compuestos de la presente invención pueden modular la aterosclerosis estimulando la eliminación del colesterol a partir de lesiones ateroscleróticas en un humano.

[0054] "Tratando" o "tratamiento" de acuerdo con lo utilizado en la presente cubre el tratamiento de una enfermedad o trastorno descrito en la presente, en un sujeto, con preferencia un humano, e incluye:

- i. inhibir una enfermedad o trastorno, es decir, detener su desarrollo; o
- ii. mitigar una enfermedad o trastorno, es decir, causar la regresión del trastorno.

[0055] "Sujeto" se refiere a un animal de sangre caliente tal como un mamífero, con preferencia un humano, o un niño humano, que está aquejado por, o que tiene el

potencial de estar aquejado por una o más enfermedades y trastornos descritos en la presente.

[0056] "Aterosclerosis" se refiere a un proceso a través del que se forman placas ateroscleróticas dentro del forro interno de la pared arterial que deriva en enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas. Las enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas pueden ser reconocidas y comprendidas por médicos practicantes en los campos relevantes de la medicina, e incluyen, sin limitación, restenosis, enfermedad cardíaca coronaria (también conocida como enfermedad arterio coronaria o enfermedad cardíaca isquémica), enfermedad cerebrovascular que incluye apoplejía isquémica, demencia por infarto múltiple, y enfermedad periférica del bazo, que incluye claudicación intermitente, y disfunción eréctil.

[0057] "Dislipidemia" se refiere a niveles anormales de lipoproteínas en plasma sanguíneo que incluyen niveles deprimidos y/o elevados de lipoproteínas (por ej., niveles elevados de Lipoproteína de Baja Densidad, (LDL), Lipoproteína de Muy Baja Densidad (VLDL) y niveles deprimidos de Lipoproteína de Alta Densidad (HDL).

[0058] "EC₅₀" se refiere a una dosis, concentración o cantidad de un compuesto de ensayo particular que logra una respuesta dependiente de una dosis en un 50% de expresión máxima de una respuesta particular que es inducida, provocada o potenciada por el compuesto de ensayo particular.

[0059] "Colesterol" se refiere a un alcohol esteroide que es un componente esencial de membranas celulares y vainas de mielina y, de acuerdo con lo utilizado en la

presente, incorpora su uso común. El colesterol también sirve como un precursor para las hormonas esteroideas y ácidos biliares.

[0060] "Triglicéridos" o "TG" se refiere a tres moléculas de ácidos grasos esterificadas a una molécula de glicerol y que sirven para almacenar ácidos grasos que son utilizados por células musculares para la producción de energía o que se toman y almacenan en el tejido adiposo.

[0061] "IC₅₀" se refiere a una cantidad, concentración o dosis de un compuesto de ensayo particular que logra una inhibición del 50% de una respuesta máxima, tal como modulación de un receptor nuclear, que incluye la actividad de LXR_α o LXR_β, en un ensayo que mide tal respuesta.

[0062] "LXR" o "LXRs" se refiere a LXR_α y LXR_β.

[0063] "LXR_α" (LXR alfa) se refiere a todas las formas mamíferas de tal receptor que incluyen, por ejemplo, isoformas de empalme alternativo e isoformas naturales. Las especies de LXR_α representativas incluyen, sin limitación las formas de rata (Número de Acceso al GenBank NM_031627), ratón (Número de Acceso al GenBank BC012646), y humano (Número de Acceso al GenBank No. U22662) del receptor.

[0064] "LXR_β" (LXR beta) se refiere a todas las formas mamíferas de tal receptor que incluyen, por ejemplo, isoformas de empalme alternativo e isoformas naturales. Las especies de LXR_α representativas incluyen, sin limitación las formas de rata (Número de Acceso al GenBank NM_031626), ratón (Número de Acceso al GenBank NM_009473), y humano (Número de Acceso al GenBank No. U07132) del receptor.

[0065] "Obeso" y "obesidad" se refieren a un Índice de Masa Corporal (BMI) mayor que 27,8 kg/m² para hombres y

27,3 kg/m² para mujeres (BMI equivale a peso (kg)/(altura)²(m²)).

Utilidad

[0066] Los compuestos de la invención exhiben propiedades farmacológicas valiosas y son particularmente útiles como agonistas de LXR, antagonistas, agonistas inversos, agonistas parciales y antagonistas, o son selectivos a LXR_α o a LXR_β. Los compuestos de la invención son útiles para el tratamiento de enfermedades o trastornos descriptos en la presente, tales como los asociados con, o que tienen síntomas que surgen de las complicaciones del, transporte alterado de colesterol, transporte reverso de colesterol, metabolismo de ácidos grasos, absorción de colesterol, reabsorción de colesterol, secreción de colesterol, excreción de colesterol, o metabolismo de colesterol.

[0067] Estas enfermedades incluyen, por ejemplo, aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares ateroscleróticas, (véase, por ej., Publicaciones de Solicitud de Patente Internacional N° WO 00/57915 y WO 00/37077), dislipidemia, hiperglicemia, resistencia a insulina, diabetes, obesidad, síndrome X (Publicaciones de Solicitud de Patente de los Estados Unidos N° 20030073614, Publicación de Solicitud de Patente Internacional N° WO 01/82917), deposición excesiva de lípidos en tejidos periféricos tales como piel (xantomas) (véase, por ej., Patentes de los Estados Unidos N° 6.184.215 y 6.187.814), apoplejía, enfermedad periférica oclusiva, pérdida de la memoria (*Brain Research* (1997), Vol. 752, pp. 189–196),

patologías del nervio óptico y retinales (es decir, degeneración macular, retinitis pigmentosa), reparación del daño traumático al sistema nervioso central o periférico (*Trends in Neurosciences* (1994), Vol. 17, pp. 525-530), prevención del proceso degenerativo causado por el envejecimiento (*American Journal of Pathology* (1997), Vol. 151, pp. 1371-1377), o enfermedad de Alzheimer (véase, por ej., Publicación de Solicitud de Patente Internacional N° WO 00/17334; *Trends in Neurosciences* (1994), Vol. 17, pp. 525-530), prevención de neuropatías degenerativas que ocurren en enfermedades tales como neuropatías diabéticas (véase, por ej., Publicación de Solicitud de Patente Internacional N° WO 01/82917), esclerosis múltiple (*Annals of Clinical Biochem.* (1996), Vol. 33, No. 2, pp. 148-150), y enfermedades autoinmunes (*J. Lipid Res.* (1998), Vol. 39, pp. 1740-1743).

[0068] También se proveen métodos para aumentar la expresión del Cassette de Unión a ATP (ABCA1), (véase, por ej., Publicación de Solicitud de Patente Internacional N° WO 00/78972) aumentado así el transporte reverso de colesterol en células mamíferas utilizando los compuestos y composiciones reivindicadas.

[0069] Por consiguiente, en otro aspecto, la invención también incluye métodos para eliminar colesterol de depósitos de tejido tales como placas ateroscleróticas o xantomas en un sujeto con aterosclerosis o enfermedad cardiovascular aterosclerótica manifiesta por signos clínicos de tal enfermedad, donde los métodos comprenden administrar al sujeto una cantidad efectiva para uso terapéutico de un compuesto o composición de la presente

invención. Además, la presente invención también provee un método para prevenir o reducir el riesgo de una primera o posterior aparición de un evento de una enfermedad cardiovascular aterosclerótica que incluye enfermedad cardíaca isquémica, apoplejía isquémica, demencia por infarto múltiple, y claudicación intermitente que comprende la administración de una cantidad efectiva para uso profiláctico de un compuesto o composición de la presente invención a un sujeto en riesgo de un evento tal.

[0070] Los compuestos de la presente invención también pueden utilizarse en métodos para disminuir la hiperglicemia y resistencia a insulina, es decir, en métodos para tratar la diabetes (Publicación de Solicitud de Patente Internacional N° WO 01/82917), y en métodos de tratamiento, prevención, o mejora de trastornos relacionados con, o que se surgen como complicaciones de diabetes, hiperglicemia o resistencia a insulina que incluyen el grupo de estados patológicos, condiciones o trastornos que forman el "Síndrome X" (Véase Solicitud de Patente de los Estados Unidos 20030073614) que comprende la administración de una cantidad efectiva para uso terapéutico de un compuesto o composición de la presente invención a un sujeto necesitado de dicho tratamiento. Además, la presente invención también provee un método para prevenir o reducir el riesgo de desarrollar hiperglicemia, resistencia a insulina, diabetes o síndrome X en un sujeto, que comprende la administración de una cantidad efectiva para uso profiláctico de un compuesto o composición de la presente invención a un sujeto en riesgo de un evento tal.

[0071] Diabetes mellitus, comúnmente denominada diabetes, se refiere a un proceso patológico derivado de múltiples factores causativos y caracterizado por niveles elevados de glucosa en plasma, denominado hiperglicemia. Véase, por ej., LeRoith, D. et al., (eds.), DIABETES MELLITUS (Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, Pa. U.S.A. 1996). La hiperglicemia no controlada está asociada con una mortalidad aumentada y prematura causada por un riesgo aumentado de enfermedades macrovasculares, que incluyen nefropatía, neuropatía, retinopatía, hipertensión, enfermedad cerebrovascular y enfermedad cardíaca coronaria. Por lo tanto, el control de la homeostasis de la glucosa es un enfoque críticamente importante para el tratamiento de la diabetes.

[0072] Existen dos formas principales de diabetes: diabetes de tipo 1 (anteriormente denominada diabetes dependiente de insulina o IDDM); diabetes de tipo 2 (anteriormente denominada diabetes no dependiente de insulina o NIDDM). La diabetes de tipo 2 es una enfermedad caracterizada por la resistencia a insulina acompañada por una deficiencia de insulina relativa, más que absoluta. La diabetes de tipo 2 puede oscilar de resistencia a insulina predominante con deficiencia de insulina relativa a deficiencia de insulina predominante con cierta resistencia a insulina. La resistencia a insulina es la capacidad disminuida de la insulina para lograr su acción biológica a través de un amplio rango de concentraciones. En individuos resistentes a insulina, el cuerpo segrega cantidades anormalmente altas de insulina para compensar este defecto. Cuando se presentan cantidades inadecuadas de

insulina para compensar la resistencia a insulina y un control adecuado de glucosa, se desarrolla un estado de tolerancia a glucosa deficiente. En un número significativo de individuos, la secreción de insulina declina en mayor medida y se eleva el nivel de glucosa en plasma, dando lugar al estado clínico de la diabetes. La diabetes de tipo 2 puede deberse a una profunda resistencia a insulina que estimule los efectos regulatorios sobre la glucosa y el metabolismo de los lípidos en los tejidos sensibles a insulina principales: el tejido muscular, hepático y adiposo. Esta resistencia a la responsividad a insulina en la activación de insulina insuficiente de la captación de glucosa, oxidación y almacenamiento en los músculos y represión inadecuada de insulina de lipólisis en tejido adiposo y de la producción y secreción de glucosa en el hígado. En la diabetes de tipo 2, los niveles de ácidos grasos libres están a menudo elevados en sujetos obesos y en algunos no obesos y la oxidación de lípidos está aumentada.

[0073] El desarrollo prematuro de la aterosclerosis y un índice aumentado de enfermedades cardiovasculares y vasculares periféricas son rasgos característicos de sujetos con diabetes. La hiperlipidemia es un factor precipitante importante para estas enfermedades. La hiperlipidemia es un trastorno generalmente caracterizado por un aumento anormal en los lípidos en suero, por ej., colesterol y triglicéridos, en el torrente sanguíneo y es un factor de riesgo importante en la aterosclerosis y enfermedades cardíacas en desarrollo. Para una revisión de trastornos del metabolismo de los lípidos, véase, por ej.,

Wilson, J. et al., (ed.), Disorders of Lipid Metabolism, Chapter 23, Textbook of Endocrinology, 9th Edition, (W. B. Sanders Company, Philadelphia, Pa. U.S.A. 1998). La hiperlipidemia normalmente se clasifica como hiperlipidemia primaria o secundaria. La hiperlipidemia primaria generalmente es causada por defectos genéticos, mientras que la hiperlipidemia secundaria generalmente es causada por otros factores, tales como diversos estados patológicos, fármacos, y factores dietarios. Alternativamente, la hiperlipidemia puede resultar de una combinación de causas primarias y secundarias de hiperlipidemia. Los niveles de colesterol elevados están asociados con un número de estados patológicos, que incluyen enfermedad arterial coronaria, angina pectoris, enfermedad arterial carotídea, apoplejías, arteriosclerosis cerebral, y xantoma.

[0074] La dislipidemia, o niveles anormales de lipoproteínas en plasma sanguíneo, es frecuente entre los diabéticos, y se ha demostrado que es uno de los contribuyentes principales del aumento de la incidencia de los eventos coronarios y muertes entre los sujetos diabéticos (véase, por ej., Joslin, E. Ann. Chim. Med. (1927), Vol. 5, pp. 1061-1079). Los estudios epidemiológicos posteriores han confirmado la asociación y han demostrado un aumento de varias veces las muertes coronarias entre los sujetos diabéticos en comparación con sujetos diabéticos (véase, por ej., Garcia, M. J. et al., Diabetes (1974), Vol. 23, pp. 105-11 (1974); y Laakso, M. and Lehto, S., Diabetes Reviews (1997), Vol. 5, No. 4, pp. 294-315). Se han descripto diversas anormalidades de

lipoproteínas entre sujetos diabéticos (Howard B., et al., Arteriosclerosis (1978), Vol. 30, pp. 153-162).

[0075] También se proveen en esta invención métodos para utilizar los compuestos de la invención para tratar la obesidad, así como las complicaciones de la obesidad. La obesidad está vinculada a una variedad de trastornos médicos que incluyen diabetes e hiperlipidemia. La obesidad también es un factor de riesgo conocido para el desarrollo de la diabetes de tipo 2 (Véase, por ej., Barrett-Conner, E., Epidemiol. Rev. (1989), Vol. 11, pp. 172-181; y Knowler, et al., Am. J Clin. Nutr. (1991), Vol. 53, pp. 1543-1551).

Administración y formulación

[0076] Un compuesto de la invención puede administrarse a un sujeto necesitado de dicho tratamiento por medio de cualquier vía de administración aceptada. Las vías de administración aceptables incluyen, pero sin limitación, bucal, cutánea, endocervical, endosinusal, endotraqueal, enteral, epidural, intersitital, intraabdominal, intraarterial, intrabronquial, intrabursal, intracerebral, intracisternal, intracoronaria, intradérmica, intraductal, intraduodenal, intradural, intraepidérmica, intraesofágica, intragástrica, intragingival, intraílea, intralinfática, intramedular, intrameningea, intramuscular, intraovárica, intraperitoneal, intraprostática, intrapulmonar, intrasinal, intraespinal, intrasinovial, intratesticular, intratecal, intratubular, intratumoral, intrauterina, intravascular, intravenosa, nasal, nasogástrica, oral, parenteral, percutánea, peridural, rectal, respiratoria (inhalación), subcutánea, sublingual, submucosal, tópica,

transdérmica, transmucosal, transtraqueal, ureteral, uretral y vaginal.

[0077] Un compuesto de la invención puede administrarse en cualquier forma de dosificación sólida, semi-sólida, líquida o gaseosa aceptable. Las formas de dosificación aceptables incluyen, pero sin limitación, aerosoles, cápsulas, cremas, emulsiones, gases, geles, granos, linimentos, lociones, ungüentos, pastas, polvos, soluciones, suspensiones, jarabes y comprimidos. Los sistemas de administración aceptables incluyen, pero sin limitación, implantes biodegradables (por ej., poli(DL-lactida), copolímeros de lactida/glicólido y copolímeros de lactida/caprolactona), cápsulas, duchas vaginales, enemas, inhaladores, dispositivos intrauterinos, nebulizadores, parches, bombas y supositorios.

[0078] Una forma de dosificación de la invención puede comprender únicamente un compuesto de la invención o el compuesto de la invención puede formularse junto con excipientes, vehículos farmacéuticos, adyuvantes convencionales, y/u otros agentes medicinales o farmacéuticos. Los excipientes aceptables incluyen, pero sin limitación, (a) antiadherentes, tales como croscarmelosa sódica, crospovidona, glicolato de almidón sódico, microcristalina celulosa, almidón y talco; (b) aglutinantes, tales como celulosa, gelatina, hidroxipropil celulosa, lactosa, manitol, polietilen glicol, polivinil pirrolidona, sorbitol, almidón, azúcar, sacarosa y xilitol; (c) recubrimientos, tales como celulosa, laca, zeína y agentes entéricos; (d) desintegrantes, tales como celulosa, polivinil

pirrolidona reticulada, carboximetil celulosa sódica, metilcelulosa, celulosa microcristalina, glicolato de almidón sódico y almidón; (e) agentes rellenos, tales como carbonato de calcio, celulosa, fosfato de calcio dibásico, glucosa, lactosa, manitol, sorbitol y sacarosa; (f) agentes saborizantes; (g) agentes colorantes; (h) deslizantes, tales como estearato de calcio, dióxido de silicona coloidal, behenato de glicerilo, monoestearato de glicerilo, palmitoestearato de glicerilo, aceite vegetal hidrogenado, estearato de magnesio, trisilicato de magnesio, aceite mineral, polietilen glicoles, dióxido de silicona, almidón, estearato, ácido esteárico, talco, estearil fumarato de sodio, benzoato de sodio y zinc; (i) lubricantes, tales como estearato de calcio, aceites vegetales hidrogenados, estearato de magnesio, aceite mineral, polietilen glicol, estearil fumarato de sodio, estearina, ácido esteárico y talco; y (j) conservantes, tales como clorobutanol, ácido cítrico, cisteína, metionina, metil parabeno, fenol, propil parabeno, palmitato de retinilo, selenio, citrato de sodio, ácido sórbico, vitamina A, vitamina C y vitamina E. Las cápsulas pueden contener cualquier de los excipientes mencionados con anterioridad, y pueden además contener un vehículo semi-sólido o líquido, tal como un polietilen glicol o aceites de base vegetal. Los vehículos farmacéuticos incluyen polímeros solubles, micropartículas hechas de polímeros insolubles o polímeros biodegradables naturales y sintéticos, microcápsulas o microesferas, lipoproteínas, liposomas y micelas.

[0079] La composición farmacéutica puede estar en la forma de un líquido, por ej., un elíxir, jarabe, solución, emulsión, suspensión, u otras formas similares o puede estar presente como un producto seco para reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso. Las preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como (a) diluyentes líquidos, tales como agua, salina fisiológica, solución de Ringer, aceites fijos tales como mono o diglicéridos sintéticos, o polietilen glicoles, glicerina, propilen glicol u otros solventes; (b) tensioactivos, agentes suspendentes, o agentes emulsionantes, tales como ésteres de ácidos grasos de polioxietilen sorbitán, glicéridos poliglicolizados saturados, monoglicéridos, ésteres de ácidos grasos, copolímeros de bloqueo de etilen óxido y propilen óxido, estearatos de polioxilo, aceites de castor etoxilados, y ácidos hidroxisteáricos etoxilados; (c) tampones, tales como acetatos, citratos o fosfatos; (d) agentes quelantes, tales como ácido etilendiamintetraacético; (e) agentes antibacterianos, tales como alcohol bencílico o metil parabeno; (f) antioxidantes, tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; (g) agentes isotónicos, cloruro de sodio o dextrosa; así como agentes edulcorantes y saborizantes, tintes y conservantes.

[0080] Una composición farmacéutica de la invención contendrá una cantidad efectiva para uso terapéutico de un compuesto de la invención, como un estereoisómero individual o mezcla de estereoisómeros, o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, con el resto de la composición farmacéutica comprendida por uno o más

excipientes aceptables para uso farmacéutico. En general, para administración oral, un compuesto de la invención, como un estereoisómero individual o mezcla de estereoisómeros, o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo comprenderá de 1% a 99% en peso de una composición aceptable para uso farmacéutico, con el resto de la composición comprendida por uno o más excipientes aceptables para uso farmacéutico. Típicamente, un compuesto de la invención, como un estereoisómero individual o mezcla de estereoisómeros, o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo comprenderá de 5% a 75% en peso de una composición aceptable para uso farmacéutico, con el resto de la composición comprendida por uno o más excipientes aceptables para uso farmacéutico. Para administración parenteral, un compuesto de la invención, como un estereoisómero individual o mezcla de estereoisómeros, o una sal aceptable para uso farmacéutico del mismo comprenderá de 0,01% a 1% en peso de una composición aceptable para uso farmacéutico. Los métodos para preparar las formas de dosificación son conocidos, o serán aparentes, para aquellos con experiencia en la técnica; por ejemplo, véase Remington's Pharmaceutical Sciences, 18th Ed., (Mack Publishing Company, Easton, Pa., 1990).

[0081] Una cantidad efectiva para uso terapéutico de un compuesto de la invención variará dependiendo de diversos factores que incluyen la actividad, estabilidad metabólica, velocidad de excreción y duración de la acción del compuesto, la edad, peso, estado de salud general, sexo, dieta y especie del sujeto, el modo y tiempo de

administración del compuesto, la presencia de adyuvantes o ingredientes terapéuticamente activos en una composición, y la severidad de la enfermedad para cual la se busca el efecto terapéutico.

[0082] Los compuestos de la invención pueden administrarse a sujetos humanos en niveles de dosificación en el rango de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10.000 mg por día. A un adulto normal que tiene un peso corporal de aproximadamente 70 kilogramos puede administrársele una dosis en el rango de aproximadamente 0,15 μ g a aproximadamente 150 mg por kilogramo de peso corporal por día. Típicamente, a un adulto normal se le administrarán de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 25 mg, o 0,5 mg a aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal por día. Los compuestos de la invención pueden administrarse en una o más formas de dosificación unitarias. Las dosis unitarias pueden administrarse una a cuatro veces al día, o dos veces al día, o una vez al día. En un método alternativo para describir una dosis efectiva, una dosis oral unitaria es aquella necesaria para lograr un nivel de suero en sangre de aproximadamente 0,05 a 20 μ g/ml o de aproximadamente 1 a 20 μ g/ml en un sujeto. La dosis óptima de un compuesto de la invención para un sujeto particular puede ser determinada por aquellos con experiencia en la técnica.

[0083] Los compuestos de la invención, o un isómero individual o mezcla de isómeros o una sal aceptable para uso farmacéutico de los mismos, también pueden administrarse en forma simultánea con, previo a, o luego de la administración de uno o más de los agentes terapéuticos

descriptos a continuación. Tal terapia combinada incluye la administración de una dosis farmacéutica única que contiene un compuesto de la invención y uno o más agentes activos adicionales, así como la administración del compuesto de la invención y cada agente activo en su propia formulación de dosis farmacéutica separada. Por ejemplo, un compuesto de la invención y un inhibidor de la HMG-CoA reductasa pueden administrarse al sujeto en conjunto en una composición de dosificación oral única tal como un comprimido o cápsula, o cada agente puede administrarse en composiciones de dosificación oral separadas. Donde se utilizan formulaciones de dosificación separadas, los compuestos de la invención y uno o más agentes activos adicionales pueden administrarse en esencialmente el mismo momento, es decir, en forma concurrente, o en momentos escalonados separados, es decir, en forma secuencial; por terapia combinada debe comprenderse la inclusión de estos regímenes.

[0084] En una realización, los compuestos de la invención se utilizan en combinación con uno o más de los siguientes agentes terapéuticos en el tratamiento de la aterosclerosis: agentes antihiperlipidémicos, agentes de aumento de HDL en plasma HDL, agentes antihipercolesterolémicos, inhibidores de la biosíntesis de colesterol (tales como inhibidores de la HMG CoA reductasa, tales como lovastatina, simvastatina, pravastatina, fluvastatina, atorvastatina y rivastatina), inhibidores de la acil-coenzima A:colesterol aciltransferasa (ACAT), probucol, raloxifeno, ácido nicotínico, niacinamida, inhibidores de la absorción de colesterol, sequestrantes del ácido biliar (tales como resinas de intercambio

aniónico, o aminas cuaternarias (por ej., colestiramina o colestipol)), inductores del receptor de lipoproteína de baja densidad, clofibrato, fenofibrato, benzofibrato, cipofibrato, gemfibrizol, vitamina B₆, vitamina B₁₂, vintaminas antioxidantes, bloqueadores β , agentes antidiabetes, antagonistas de la angiotensina II, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, inhibidores de la agregación plaquetaria, antagonistas del receptor del fibrinógeno, aspirina o derivados del ácido fíbrico.

[0085] En otra realización, los compuestos de la invención se utilizan en combinación con uno o más de los siguientes agentes terapéuticos en el tratamiento con el inhibidor de la biosíntesis de colesterol, en particular un inhibidor de la HMG-CoA reductasa. Con el término inhibidor de la HMG-CoA reductasa se pretende incluir todas las formas de sal aceptable para uso farmacéutico, éster, ácido libre y lactona de compuestos que tienen actividad inhibitoria de la HMG-CoA reductasa y, por lo tanto, el uso de tales formas de sales, ésteres, ácidos libres y lactona se incluye dentro del alcance de esta invención. Los compuestos que tienen actividad inhibitoria para la HMG-CoA reductasa pueden identificarse fácilmente utilizando ensayos bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, se describen o revelan ensayos adecuados en la Patente de los Estados Unidos N° 4.231.938 y WO 84/02131. Los ejemplos de inhibidores de la HMG-CoA reductasa adecuados incluyen, pero sin limitación, lovastatina (MEVACOR®; véase, Patente de los Estados Unidos N° 4.231.938); simvastatina (ZOCOR®; véase, Patente de los Estados Unidos N° 4.444.784);

pravastatina de sodio (PRAVACHOL®; véase, Patente de los Estados Unidos N° 4.346.227); fluvastatina de sodio (LESCOL®; véase, Patente de los Estados Unidos N° 5.354.772); atorvastatina de calcio (LIPITOR®; véase, Patente de los Estados Unidos N° 5.273.995) y rivastatina (también conocida como cerivastatina; véase, Patente de los Estados Unidos N° 5.177.080). Las fórmulas estructurales de estos inhibidores y de inhibidores adicionales de la HMG-CoA reductasa que pueden utilizarse en combinación con los compuestos de la invención se describen en la página 87 de M. Yalpani, "Cholesterol Lowering Drugs," *Chemistry & Industry*, pp. 85-89 (5 February 1996). En realizaciones actualmente preferidas, el inhibidor de la HMG-CoA reductasa se selecciona de lovastatina y simvastatina.

[0086] En una realización adicional, los compuestos de la invención se utilizan en combinación con uno o más de los siguientes agentes terapéuticos en el tratamiento con uno o más agentes de diabetes activos adicionales dependiendo de la terapia blanco deseada (véase, por ej., Turner, N. et al., *Prog. Drug Res.* (1998), Vol. 51, pp. 33-94; Haffner, S., *Diabetes Care* (1998), Vol. 21, pp. 160-178; and DeFronzo, R. et al. (eds.), *Diabetes Reviews* (1997), Vol. 5, No. 4). En numerosos estudios se han investigado los beneficios de las terapias combinadas con agentes orales (véase, por ej., Mahler, R., *J. Clin. Endocrinol. Metab.* (1999), Vol. 84, pp. 1165-71; United Kingdom Prospective Diabetes Study Group: UKPDS 28, *Diabetes Care* (1998), Vol. 21, pp. 87-92; Bardin, C. W.(ed.), *Current Therapy In Endocrinology And Metabolism*, 6th Edition (Mosby--Year Book, Inc., St. Louis, Mo. 1997);

Chiasson, J. et al., *Ann. Intern. Med.* (1994), Vol. 121, pp. 928-935; Coniff, R. et al., *Clin. Ther.* (1997), Vol. 19, pp. 16-26; Coniff, R. et al., *Am. J. Med.* (1995), Vol. 98, pp. 443-451; Iwamoto, Y. et al., *Diabet. Med.* (1996), Vol. 13, pp. 365-370; Kwiterovich, P., *Am. J. Cardiol* (1998), Vol. 82 (12A), pp. 3U-17U). Estos estudios indican que la modulación de la diabetes e hiperlipidemia puede mejorarse por medio de la adición de un segundo agente al régimen terapéutico.

[0087] En una realización adicional, los compuestos de la invención se utilizan en combinación con uno o más de los siguientes agentes terapéuticos en el tratamiento de la diabetes: sulfonilureas (tales como clorpropamida, tolbutamida, acetohexamida, tolazamida, gliburida, gliclazida, glinasa, glimepirida, y glipizida), biguanidas (tales como metformina), tiazolidinedionas (tales como ciglitazona, pioglitazona, troglitazona, y rosiglitazona), y sensibilizadores de insulina relacionados, tales como activadores selectivos y no selectivos de PPAR α , PPAR β y PPAR γ ; dehidroepiandrosterona (también denominada DHEA o su éster de sulfato conjugado, DHEA-SO₄); antiglucocorticoides; inhibidores de TNF α ; inhibidores de la α -glucosidasa (tales como acarbosa, miglitol, y voglibosa), pramlintida (un análogo sintético de la amilina de la hormona humana), otras secretogogas de insulina (tales como repaglinida, gliquidona, y nateglinida), insulina, así como los agentes terapéuticos discutidos con anterioridad para tratar la aterosclerosis.

[0088] En aún otra realización, los compuestos de la invención se utilizan en combinación con uno o más de los

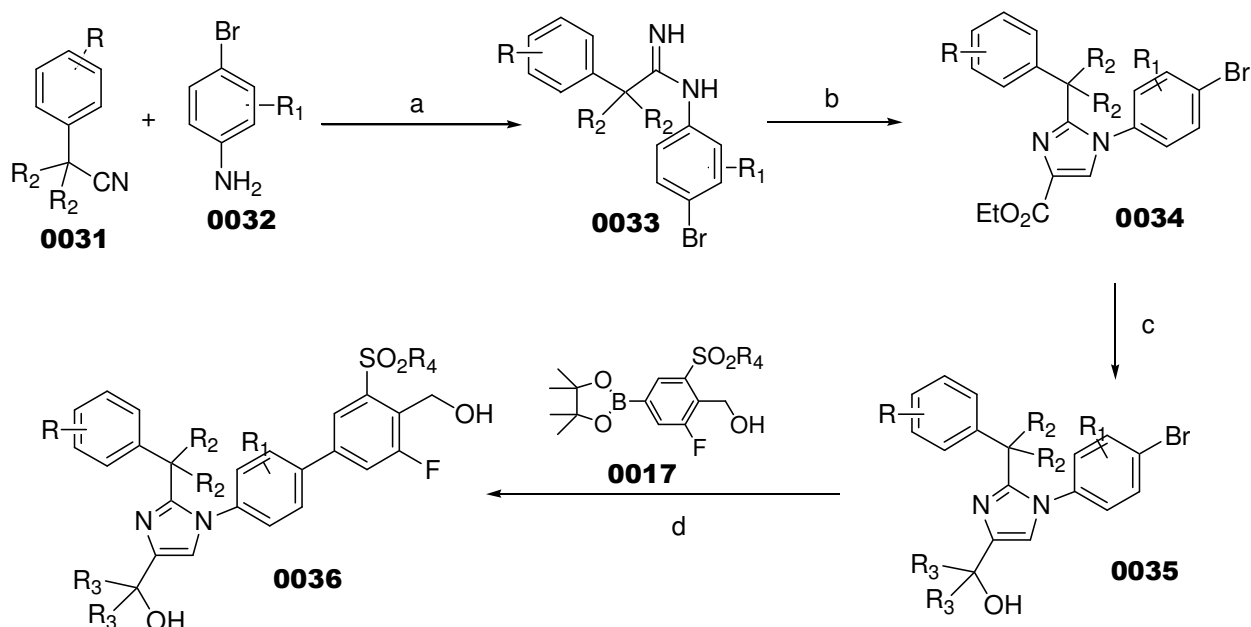
siguientes agentes terapéuticos en el tratamiento de la obesidad o trastornos relacionados con la obesidad. Tales agentes, incluyen, pero sin limitación, fenilpropanolamina, fentermina, dietilpropiona, mazindol, fenfluramina, dexfenfluramina, fentiramina, agentes agonistas del adrenoceptor β_3 ; sibutramina, inhibidores de la lipasa gastrointestinal (tales como orlistat), y leptinas. Otros agentes utilizados en el tratamiento de la obesidad o trastornos relacionados con la obesidad incluyen neuropéptido Y, enterostatina, colecitoquinina, bombesina, amilina, receptores de la histamina H_3 , moduladores del receptor de la dopamina D_2 , hormona estimulante del melanocito, factor de liberación de la corticotrofina, galanina y ácido gamma aminobutírico (GABA).

Síntesis

[0089] Los compuestos de la presente invención pueden prepararse en un número de métodos bien conocidos por aquellos con experiencia en la técnica, que incluyen, pero sin limitación los descritos a continuación, o a través de modificaciones de estos métodos aplicando técnicas estándares conocidas por aquellos con experiencia en la técnica de la síntesis orgánica. Los compuestos se nombraron utilizando ChemDraw Ultra 9.0 o 10.0 (CambridgeSoft). Los reactivos y materiales de inicio están comercialmente disponibles, o se sintetizan fácilmente por medio de técnicas bien conocidas por aquellos con experiencia en la técnica. Se comprende que en la siguiente descripción, las combinaciones de sustituyentes y/o variables de las fórmulas representadas son permisibles

sólo si dichas contribuciones dan lugar a compuestos estables. A menos que se indique lo contrario, todos los compuestos asociados con datos de RMN y/o espectros de masa se prepararon y se midieron el RMN y los espectros de masa.

Esquema 1

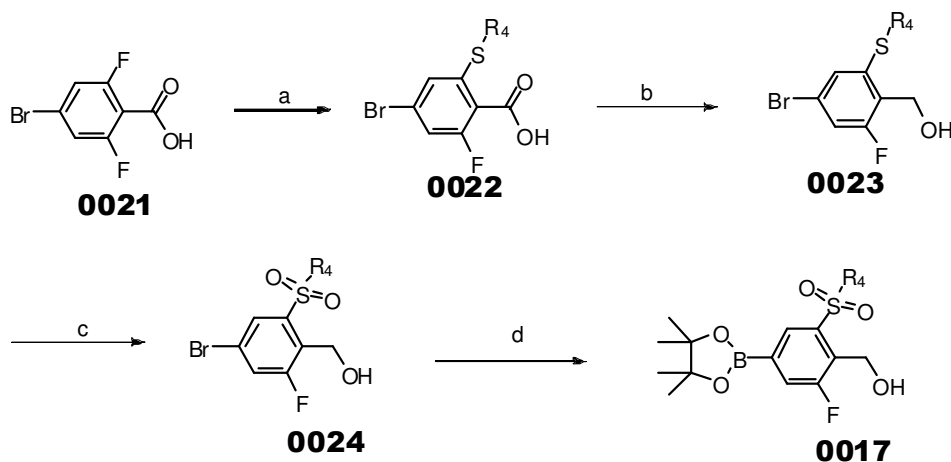


(a) Me_3Al , Tolueno, 0°C – 80°C ; (b) i. Bromopiruvato de etilo, NaHCO_3 , THF, 70 – 80°C ; ii. AcOH, tolueno o TFA, EtOH, 80°C ; (c) R_3MgBr , THF o THF/ CH_2Cl_2 , 0°C –ta; (d) K_2CO_3 , $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$, DME/ H_2O , 80°C .

[0090] En general, los compuestos de la fórmula (**0036**) se preparan haciendo reaccionar en primer lugar anilina de la fórmula (**0032**) con 2-(fenil)-2-metilpropannitrilo (**0031**) en presencia de trimetilaluminio para dar compuestos de la Fórmula (**0033**) luego de procedimientos de aislamiento estándares (Esquema 1). En un paso posterior, la exposición de amidina (**0033**) a un haloéster, tal como α -bromopiruvato de etilo, bajo condiciones básicas a

temperatura elevada seguido por condiciones de deshidratación tales como ácido trifluoroacético en etanol provee 1*H*-imidazol de la Fórmula (0034) luego de procedimientos de aislamiento estándares. Los compuestos de la Fórmula (0034) luego se someten a la transformación de la funcionalidad, tal como de éster a carbinol. En una reacción de acoplamiento mediada por paladio, por ejemplo, reacciones de Suzuki, los compuestos de la Fórmula (0035) se hacen reaccionar con (2-fluoro-6-(sulfonil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)methanol (0017) (véase Esquema 2 a continuación) para dar los compuestos de la Fórmula (0036) luego de procedimientos de aislamiento estándares.

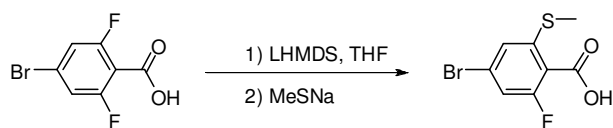
Esquema 2



a) i. *LHMDS* 1,0 M en *THF*; ii. R_4SNa , reflujo; b) BH_3-THF , $0^\circ C$ -reflujo; c) *mCPBA*, CH_2Cl_2 ; d) $PdCl_2(dppf)$, bis(pinacolato)diboro, *KOAc*, *DMSO*, $80^\circ C$.

Esquema 2: Paso 2a

Preparación de ácido 4-bromo-2-fluoro-6-(metiltio)benzoico



[0091] A un matraz de fondo redondo de 500 ml equipado con un condensador se agregó ácido 4-bromo-2,6-difluorobenzoico (16,0 g, 67,5 mmol) y THF anhidro (110 ml). El matraz de reacción se enfrió en un baño de hielo antes de la adición gota a gota de *bis*-(trimetilsilil)amida de litio 1,0 M (74 ml, 1,1 equivalentes). La suspensión de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 20 minutos antes de la adición de tiometóxido de sodio (5,21 g, 74,2 mmol). La solución de reacción se dejó agitar a reflujo durante 3 horas. Se determinó que la reacción estaba completa luego de la desactivación de una alícuota de reacción en HCl acuoso diluido y la operación de GCMS: *m/z* hallado = 265, 267 iones originales. La mezcla de reacción enfriada se desactivó con H₂O y se diluyó con EtOAc (200 ml). La mezcla de reacción se transfirió a un embudo separador, y se agregó HCl acuoso 1,0 N para dar una solución de pH = 2-3. La capa de acetato de etilo se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró *in vacuo* para dar 14,6 g (rendimiento 81%) del ácido 6-fluoro-4-bromo-2-metilsulfanil-benzoico intermediario como un sólido blanco ceroso. RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,18 (s, 1H), 7,12 (dd, *J* = 8 Hz, 1H), 2,49 (s, 3H); GCMS *m/z* = 265, 267 [M]⁺.

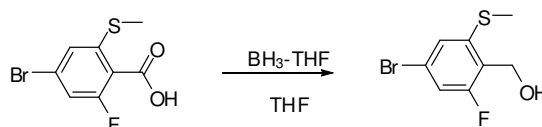
[0092] Alternativamente, el ácido 6-fluoro-4-bromo-2-metilsulfanil-benzoico intermediario se preparó de acuerdo con lo descripto a continuación:

[0093] A un matraz de 20 L se cargó dimetilformamida (14,5 L, 10,0 vol.), seguido por hidróxido de sodio (293,7 g, 1,2 equivalentes) y la masa de reacción se enfrió a -15 a -10°C. Se agregó ácido 4-bromo-2,6-difluorobenzoico (1450 g, 1,0 equivalentes) durante un período de 10-15 minutos a -15 a -10°C y se agitó durante 10-15 minutos adicionales. Tiometóxido de sodio (514,6 g, 1,2 equivalentes) se agregó durante un período de 5-10 minutos a -10 a -5°C. Al final de la adición, la temperatura de la reacción se elevó a 25-28°C durante un período de 45 a 60 minutos y se mantuvo a dicha temperatura durante 1,5-2 horas. Luego, la temperatura de la reacción se elevó a 60-65°C durante un período de 30-60 minutos y se mantuvo a 60-65°C durante 5 horas hasta que la reacción se consideró completa. Luego, la mezcla de reacción se enfrió a 20-25°C y se desactivó con una solución enfriada (5-10°C) de HCl 2N (5,045 L de HCl 12N en 30,3 L de agua). Luego de la desactivación, se agregó acetato de etilo (14,5 L, 10 vol.) y la mezcla se agitó durante 10-15 minutos. Las fases se separaron y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (7,25 L, 5 vol.). Las dos fases se separaron y la fase orgánica combinada se lavó con una solución de salmuera (725 g de NaCl en 3,625 L de agua). Las fases se separaron y la capa orgánica se lavó con agua (5,0 vol., 7,25 L). Las fases se separaron y la capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio (1450 g). La capa orgánica se filtró para eliminar el sulfato de sodio, que luego se lavó con acetato de etilo (2,9 L, 2 vol.). La capa orgánica se concentró a presión reducida a 45-50°C/ 30-40 mm Hg a volúmenes de ~1 a 1,2 y se agregó éter de petróleo (7,25 L, 5 vol.) a 40-45°C

durante un período de 15-20 minutos. La solución se enfrió a 20-25 °C durante un período de 20-25 minutos. El sólido se filtró y lavó con éter de petróleo (2,9 L, 2,0 vol.) y el producto se secó al vacío a 25-28°C, 40 Pa a 70 Pa para dar 1410 g (87%, Área Porcentual 99,40) del ácido 6-fluoro-4-bromo-2-metilsulfanil-benzoico intermediario.

Paso 2b

Preparación de (4-bromo-2-fluoro-6-(metiltio)fenil)metanol



[0094] En un matraz de fondo redondo de 500 ml purgado con N₂ equipado con un condensador se agregó ácido 6-fluoro-4-bromo-2-metilsulfanil-benzoico (14,6 g, 55,0 mmol) y THF anhidro (70 ml). La solución de reacción se dejó enfriar a 0°C antes de la adición gota a gota de a una solución de BH₃-THF 1,0 M (83 ml, 1,5 equivalentes) en THF. La solución de reacción se agitó a temperatura ambiente y luego a reflujo durante 2 horas adicionales. La solución de reacción se enfrió antes de la desactivación con una solución de H₂O/THF 1:1. La solución de reacción se transfirió a un embudo separador con EtOAc (100 ml) y se agregó una solución acuosa de K₂CO₃. La fase de acetato de etilo se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró *in vacuo*. El producto bruto se sometió a cromatografía a través de una columna de SiO₂ de 110 g utilizando un gradiente solvente de Hx 100% a EtOAc 55%. El producto del título purificado se obtuvo como una cera blanca sólida (13,7 g, rendimiento 99%). RMN ¹H (400 MHz,

CDCl₃) δ 7,13 (s, 1H), 7,06 (dd, $J_1 = 8$ Hz, $J_2 = 2$ Hz, 1H), 4,77 (s, 2H), 2,51 (s, 3H), 2,20-2,05 (br s, 1H); GCMS m/z = 251, 253 [M]⁺.

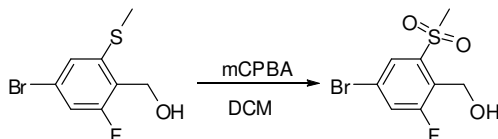
[0095] Alternativamente, el (4-bromo-2-fluoro-6-(metiltio)fenil)methanol intermediario se preparó de acuerdo con lo descripto a continuación:

[0096] A un matraz de 20 L se cargo ácido 4-bromo-2-fluoro-6-(metiltio)benzoico (1400 g, 1,0 equivalentes) seguido por THF (14 L, 10 vol.) bajo nitrógeno. A esta solución se agregó complejo de boro-dimetil sulfuro (802,41 g, 1000 ml) a 25-28°C durante un período de 30-45 minutos. La temperatura de reacción se elevó a 60-65°C durante un período de 30-45 minutos y la temperatura se mantuvo hasta que la HPLC mostró <1% de ácido 4-bromo-2-fluoro-6-(metiltio)benzoico (~3-4 horas). En la finalización de la reacción, la mezcla se enfrió a 10-15°C durante un período de 30-40 minutos. Luego, la reacción se desactivó con metanol (2,1 L, 1,5 vol.) durante un período de 1 a 1½ horas a 10-15°C. La masa de reacción se concentró al vacío a 40-50°C/ 40 a 70 Pa a 1 a 1,5 volúmenes. La mezcla resultante se disolvió en DCM (8,4 L, 6 vol.). La capa orgánica se lavó con una solución de cloruro de amonio (NH₄Cl 560 g en 2,8 L de agua, 2 vol.). Las fases se separaron y la capa orgánica se lavó con solución de NaHCO₃ 10% (2,8 L, 2 vol.), solución saturada de salmuera (2,1 L, 1,5 vol.) y agua (4,2 L, 3 vol.). La capa orgánica se separó y secó sobre sulfato de sodio (700 g). El sulfato de sodio se eliminó por filtración y se lavó con DCM (2,8 L, 2 vol.). La capa orgánica se concentró al vacío a 40-45°C/40 a 70 Pa a 1 a 1,2 volúmenes para dar el producto que se

secó al vacío a 45-50°C/40 a 70 Pa. El producto del título se obtuvo en un rendimiento del 90% (1200 g) con un Área Porcentual de 90,07.

Paso 2c

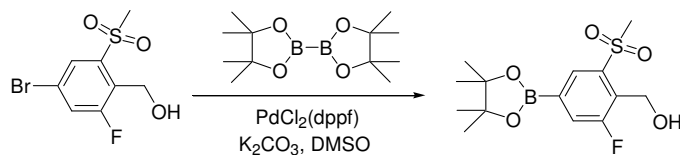
Preparación de (4-bromo-2-fluoro-6-(metansulfonil)fenil)-metanol



[0097] A un matraz de 500 ml se agregó (4-bromo-2-fluoro-6-(metiltio)fenil)metanol (13,7 g, 54,6 mmol) y diclorometano anhidro (125 ml). La solución se enfrió a 0-3°C en un baño de hielo antes de la adición por porciones de ácido 3-cloroperbenzoico (máximo 77%, Aldrich) (18,8 g, 2 equivalentes). La solución de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente y se mantuvo durante 18 horas. Luego, la reacción se concentró *in vacuo* para eliminar el diclorometano y el residuo se lavó en un embudo separador con acetato de etilo y NaOH ac. 1 M. La capa de acetato de etilo se separó, se lavó con NaOH ac. 1 M, se secó sobre Na₂SO₄, y se concentró *in vacuo*. El residuo se purificó por cromatografía en columna (Biotage, columna SiO₂ 65 x 200 mm, elución en gradiente de hexanos 100% a acetato de etilo 90%). Se combinaron fracciones adecuadas y se concentraron *in vacuo* para dar el compuesto del título como un sólido incoloro, semi-cristalino, rendimiento: 8,1 g (52%). RMN ¹H (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ 7,98 (dd, *J* = 8 Hz, 1H), 7,91 (s, 1H), 5,45 (t, *J* = 8 Hz, 1H), 4,88 (dd, *J*₁ = 8 Hz, *J*₂ = 2 Hz, 2H), 3,42 (s, 3H); RMN ¹⁹F (400 MHz, DMSO-*d*₆) δ -111,8 ppm; GCMS *m/z* = 283, 285 [M]⁺.

Paso 2d

Preparación de (2-fluoro-6-(metilsulfonil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metanol



[0098] A un matraz de fondo redondo de 100 ml, purgado con N₂ seco, se pesó (4-bromo-2-fluoro-6-(metansulfonil)fenil)-metanol (1,98 g, 6,99 mmol), bis(pinacolato)diboro (2,13 g 1,2 equivalentes), aducto de diclorometano dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (560 mg, 10% mol), carbonato de potasio (2,06 g, 3 equivalentes), y DMSO (25 ml). La suspensión resultante se dejó agitar a 90°C durante 3 horas. Se halló una alícuota de solución de reacción que ya no contenía bromuro de inicio de acuerdo con lo determinado por medio de análisis LCMS. La suspensión de reacción enfriada se diluyó con acetato de etilo (50 ml) y agua (50 ml) y se filtró a través de un Embudo Buchner con un lecho de Celite. El filtrado resultante se transfirió a un embudo separador, y la fase orgánica se separó. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo, y las fases combinadas de acetato de etilo se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, y se concentraron *in vacuo*. El residuo se purificó por cromatografía flash sobre gel de sílice (Biotage SP-1, columna SiO₂ 40 g, elución en gradiente de hexanos 100% a acetato de etilo 60%) para dar un aceite viscoso claro. El producto se aisló como un polvo blanco amorfo por medio de disolución en diclorometano y la reprecipitación resultó

luego de la adición de hexanos. El compuesto del título se aisló como un polvo blanco sólido, rendimiento: 1,9 g (rendimiento 82%). RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,28 (s, 1H), 7,79 (d, $J = 8$ Hz, 1H), 5,03 (d, $J = 8$ Hz, 2H), 3,23 (s, 3H) 3,05 (t, $J = 8$ Hz, 1H), 1,35 (s, 6H); RMN ^{19}F (400 MHz, CDCl_3) δ -116,3 ppm.

[0099] Alternativamente, el (2-fluoro-6-(metilsulfonil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metanol intermediario se preparó de acuerdo con lo descripto a continuación:

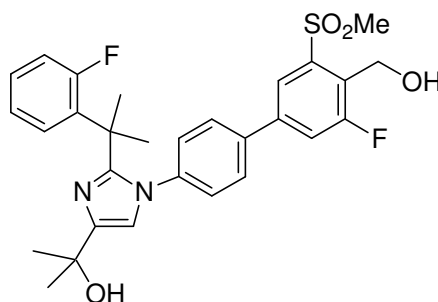
[00100] A un reactor con chaqueta a 500 ml equipado con una barra de agitación, sonda de temperatura, condensador de reflujo y una entrada de nitrógeno se cargó tetrahidrofurano de metilo (MeTHF) (75 ml, 5 volúmenes) seguido por acetato de potasio (5,2 g, 52,98 mmoles, 1 equivalente) y (oxidi-2,1-fenilen)bis(difenilfosfina) (322 mg; 597,3 μmoles , 0,01125 equivalentes) y bis(pinacolato)diboro (17,51 g, 68,95 mmoles, 1,3 equivalentes). El matraz de reacción se evacuó a menos que 150 Torr, y luego se rellenó con nitrógeno. Este procedimiento de desgasificación se repitió 3 veces. $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (94,2 mg; 419,6 μmoles , 0,0075 equivalentes) se cargó al reactor y el matraz de reacción se evacuó a menos que 150 Torr, y luego se rellenó con nitrógeno y la secuencia se repitió 3 veces. La suspensión resultante se dejó reposar a 20-25°C durante 15 minutos. Luego de la finalización del reposo de 15 minutos, la suspensión se calentó a una temperatura interna de 80°C. A medida que la mezcla en el reactor se calentaba a temperatura, en un matraz separado se cargó (4-bromo-2-fluoro-6-

(metansulfonil)fenil)-metanol (15,03 g, 53,09 mmoles, 1 equivalente) seguido por MeTHF (75 ml, 5 volúmenes). La solución resultante se desgasificó burbujeando nitrógeno a la subsuperficie durante al menos 15 minutos antes del uso. Una vez que la mezcla catalítica haya alcanzado reflujo, la solución desgasificada de (4-bromo-2-fluoro-6-(metansulfonil)fenil)-metanol en MeTHF se agregó a la reacción en una porción única y se dejó reaccionar. Típicamente, a la reacción le toma ~20 horas para completar luego de la adición del sustrato. Luego de la finalización (típicamente <0,75 RAP de material de inicio), la reacción se enfrió a 20-25°C. Una vez a TA la reacción se diluyó con MeTHF (75 ml, 5 volúmenes) y se lavó con una solución de NaCl 5% en peso (7,5 volúmenes, 110 ml) durante al menos 15 minutos. Las fases se separaron y el producto de la cima enriquecido con una corriente de MeTHF se filtró a través de Celite para eliminar los residuos de paladio insolubles. La torta de Celite cake se lavó con MeTHF (75 ml, 5 volúmenes). La reacción se trató con sílice funcionalizado (30 equivalentes) para eliminar el paladio y el color. La suspensión se agitó durante al menos 60 minutos y luego se filtró para dar el sílice. El sílice utilizado se lavó con MeTHF (5 volúmenes, 75 ml). La fase orgánica combinada se lavó con agua (5 volúmenes, 75 ml). La orgánica se destiló a 5 volúmenes (75 ml) al vacío (60-70 Torr, temperatura del baño de 30°C). Cuando se alcanzó la marca de 75 ml, la destilación se detuvo y se agregó heptano (75 ml, 5 volúmenes) gota a gota a la solución de reacción. Luego de que se hayan agregado ~35 ml de heptanos, el producto comenzó a cristalizar a partir de la solución. En la

finalización de la adición, el producto se aisló por filtración y la torta húmea se lavó con solución de MeTHF-heptanos (1:9) (2 x 75 ml) y se secó a 50°C. El producto del título se obtuvo como un sólido blanco, 13,64 g, (rendimiento 78%) con un Área Porcentual de 99,58.

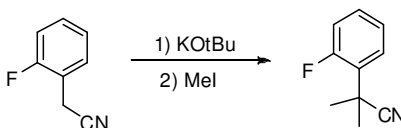
Ejemplo 1

2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2-fluorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol



Ejemplo 1a

Preparación de 2-(2-fluorofenil)-2-metilpropanonitrilo

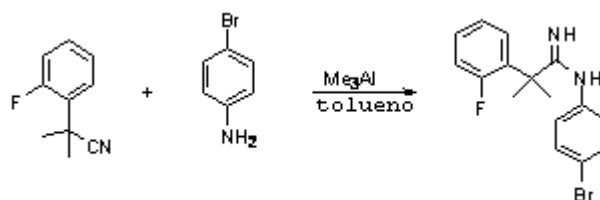


[00101] A un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 500 ml con un embudo adicional adjunto que se había purgado con N₂ seco, se agregó 2-fluorofenilacetonitrilo (11,0 g, 81,4 mmol) y THF anhidro (70 ml). La solución de reacción se enfrió a -10 °C antes de la adición gota a gota de una solución de *tert*-butóxido de potasio 1,0 M (195 ml, 2,4 equivalentes molares) en THF. La solución de reacción se agitó a -10°C durante 20 minutos antes de la adición de yodometano (15,2 ml, 244 mmol). La solución de reacción se

dejó agitar, calentando a temperatura ambiente durante 4 horas. La solución de reacción se desactivó por medio de la adición de NH_4Cl acuoso y se diluyó con EtOAc (200 ml). La fase orgánica se particionó, se lavó con NH_4Cl acuoso, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró, concentró *in vacuo* y se sometió a cromatografía a través de una columna de SiO_2 de 240 g sobre Biotage SP-1 utilizando un gradiente en solvente de Hx 100% a EtOAc 50% para dar 10,1 g (rendimiento 76%) del producto del título. GCMS $m/z = 163$ $[\text{M}]^+$.

Ejemplo 1b

Preparación de N-(4-bromofenil)-2-(2-fluorofenil)-2-metilpropanimidamida

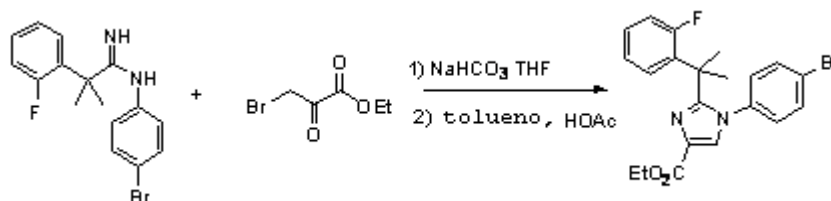


[00102] A un matraz de fondo redondo de 250 ml purgado con N_2 secado en un horno equipado con un embudo de adición se agregó 4-bromoanilina (7,31 g, 42,5 mmol) y tolueno anhidro (40 ml). A La solución de reacción a 0°C se agregó una solución de Me_3Al 2,0 M (32 ml, 1,5 equivalentes molares). La solución de reacción se agitó a 0°C durante 30 minutos, luego se agregó una solución de 2-(2-fluorofenil)-2-metilpropanonitrilo (7,62 g, 46,7 mmol) en tolueno (25 ml) al matraz de reacción. La solución de reacción se dejó agitar a 90°C durante 5 horas. La solución de reacción enfriada se desactivó con una solución acuosa de tartrato de potasio de sodio. Luego de reposar durante 20 minutos, la fase orgánico se particionó y se lavó con solución

acuosa de tartrato de potasio. La solución orgánica se extrajo con HCl acuoso 1N (100 ml x 3). La solución de HCl acuosa combinada se neutralizó por la adición de NaOH acuoso 1N y se extrajo con diclorometano (200 ml x 2). La solución de producto de diclorometano se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, y se concentró *in vacuo* para dar el compuesto del título (5,5 g, rendimiento 39%). GCMS *m/z* = 334, 336 [M]⁺.

Ejemplo 1c

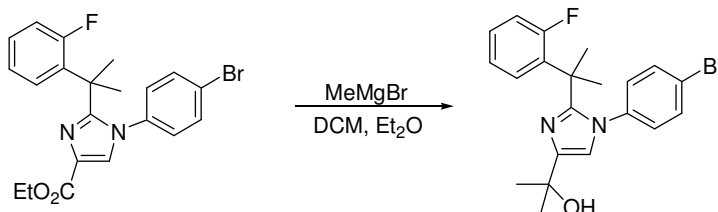
Preparación de 1-(4-bromofenil)-2-(2-(2-fluorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-carboxilato de etilo



[00103] A un matraz de fondo redondo de 250 ml equipado con un condensador se agregó N-(4-bromofenil)-2-(2-fluorofenil)-2-metilpropanimidamida (5,0 g, 15 mmol), THF anhidro (80 ml), NaHCO₃ (2,52 g, 30 mmol), y bromopiruvato de etilo 90% (1,90 ml, 15,1 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 70°C durante 2 horas antes del análisis por LCMS. La mezcla de reacción enfriada se decantó y se concentró *in vacuo*. El residuo se tomó en tolueno (65 ml) y ácido acético (1,8 ml). La solución se agitó a reflujo durante 1 hora. La solución enfriada se lavó con H₂O (150 ml x 3), se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró *in vacuo*, y se sometió a cromatografía a través de una columna SiO₂ utilizando un gradiente de Hx 100% a EtOAc 70% para dar el compuesto del título purificado (4,3 g, rendimiento 67%). LCMS (ES) : *m/z* = 431,3, 433,3 [M+H]⁺.

Ejemplo 1d

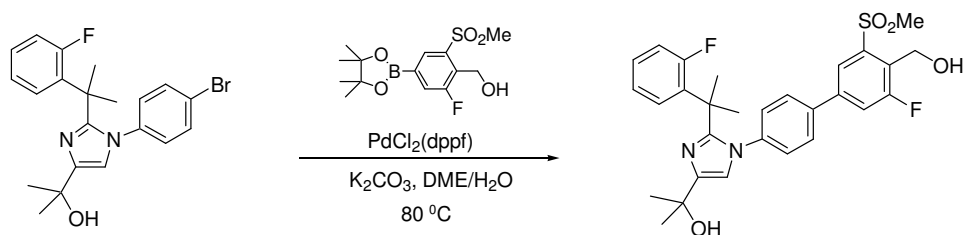
Preparación de 2-(1-(4-bromofenil)-2-(2-(2-fluorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol



[00104] A un matraz de fondo redondo de 250 ml, purgado con N₂ seco y equipado con un embudo de adición, se agregó una solución de MeMgBr 3,0 M (12 ml, 3,7 equivalentes) en Et₂O. El matraz se enfrió a 0°C antes de la adición gota a gota de 1-(4-bromofenil)-2-(2-(2-fluorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-carboxilato de etilo (4,22 g, 9,78 mmol) en una solución de diclorometano anhidro (80 ml). La solución de reacción se dejó agitar, calentando a temperatura ambiente durante 1 hora. La solución de reacción se desactivó por medio de la adición de NH₄Cl acuoso. La mezcla se vertió en un embudo separador y la capa de diclorometano se particionó, se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, concentró y se sometió a cromatografía a través de una columna SiO₂ de 40 g utilizando un gradiente de Hx 100% a EtOAc 70% para dar el compuesto del título (3,19 g, rendimiento 78%). LCMS (ES): *m/z* = 417,3, 419,3 [M+H]⁺.

Ejemplo 1

Preparación de 2-(1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2-fluorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol



[00105] A un matraz de fondo redondo de 50 ml se agregó 2-(1-(4-bromofenil)-2-(2-(2-fluorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol (380 mg, 911 μmol), DME (25 ml) y H_2O (6 ml). La solución se pulverizó con N_2 durante 10 minutos antes de la adición de (2-fluoro-6-(metilsulfonil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)methanol (360 mg, 1,09 mmol), carbonato de potasio (380 mg, 2,73 mmol), y aducto de diclorometano dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) (74 mg, 91 μmol). La mezcla de reacción se dejó agitar a 80°C durante 2 horas. La solución de reacción enfriada se diluyó con EtOAc (30 ml) y se filtró a través de un embudo Buchner con lecho de Celite. El filtrado se lavó con NH_4Cl acuoso (150 ml x 2). La fase orgánica se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró, y se concentró *in vacuo*. El residuo se purificó por cromatografía flash sobre gel de sílice (Biotage SP-1, columna SiO_2 de 25 g, elución en gradiente de EtOAc 5% a EtOAc 100%) para dar el compuesto del título (100 mg, rendimiento 20%). RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,02 (d, $J = 2$ Hz, 1H), 7,51 (dd, $J_1 = 2$ Hz, $J_2 = 10$ Hz, 1H), 7,29 (d, $J = 9$ 2H), 7,08-7,16 (mult, 1H), 6,85-6,92 (mult, 3H), 6,77-6,84 (mult, 2H), 6,65 (s, 1H), 5,09 (d, $J = 6$ Hz, 2H), 3,35 (s, 1H), 3,30 (2, 3H), 3,02 (t, $J = 6$ Hz, 1H), 1,72 (s, 6H), 1,62 (s, 6H); RMN ^{19}F (400 MHz, CDCl_3) δ -112,1, -113,5 ppm; LCMS (ES) $m/z = 541,3$ $[\text{M}+\text{H}]^+$, 563,2 $[\text{M}+\text{Na}]^+$.

Ejemplos 2-8

[00106] Todos los siguientes compuestos se prepararon en una forma similar a la descrita en el Ejemplo 1 utilizando anilinas y 2-(fenil)-2-metilpropanonitrilos adecuados. Si no se encontraban comercialmente disponibles, los nitrilos se prepararon utilizando técnicas estándares que son fácilmente aparentes para aquellos con experiencia en la técnica.

Nº	Nombre	Estructura	Datos
2	2-(2-(2-(2-cloro-6-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-3-metil-5'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES): 589,3 [M+H] ⁺
3	2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES): 627,2 [M+H] ⁺
4	2-(2-(2-(2-cloro-3-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES): 575,3 [M+H] ⁺

Nº	Nombre	Estructura	Datos
5	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES): 591,5 [M+H] ⁺
6	2-(2-(2-(2-Cloro-fenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-hidroximetil-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)-propan-2-ol		MS (ES): 575,3 [M+H] ⁺
7	2-(2-(2-(2-cloro-6-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES) 593,3, 595,3 [M+H] ⁺
8	2-{1-(3,3'-Difluoro-4'-hidroximetil-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-2-[2-(2-fluorofenil)propan-2-il]-1H-imidazol-4-il}-propan-2-ol		MS (ES): 559,2 [M+H] ⁺

[00107] El compuesto 2 tiene las siguientes características de RMN: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,02 (s, 1H), 7,56 - 7,49 (m, 1H), 7,35 (d, J = 2,0, 1H), 7,12 - 6,96 (m, 3H), 6,68 (d, J = 8,2, 1H), 6,66 - 6,60 (m, 1H), 6,56 (s, 1H), 5,08 (d, J = 5,4, 2H), 3,36 (s, 1H), 3,29 (s, 3H), 2,92 (t, J = 7,0, 1H), 2,07 (s, 3H), 1,97 (d, J = 2,4, 3H), 1,72 (d, J = 7,4, 3H), 1,59 (s, 6H).

[00108] El compuesto 3 tiene las siguientes características de RMN: RMN ¹H (400 MHz, CDCl₃) δ 8,00 (m,

1H), 7,57 (d, $J = 2,1$, 1H), 7,55 - 7,49 (m, 1H), 7,13 (s, 1H), 7,11 (s, 1H), 7,07 (dd, $J = 8,3$, $2,1$, 1H), 7,01 - 6,95 (m, 1H), 6,81 (d, $J = 8,3$, 1H), 6,59 (s, 1H), 5,09 (d, $J = 5,4$, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,26 (m, 1H), 2,89 (t, $J = 7,0$, 1H), 2,06 (s, 3H), 1,92 (s, 3H), 1,61 (s, 3H), 1,59 (s, 3H).

[00109] El compuesto 4 tiene las siguientes características de RMN: RMN 1H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,97 (s, 1H), 7,47 (dd, $J = 10,0$, $1,8$, 1H), 7,31 - 7,20 (m, 2H), 7,00 (d, $J = 8,3$, 2H), 6,92 - 6,71 (m, 3H), 6,65 (s, 1H), 5,08 (dd, $J = 7,0$, $1,6$, 2H), 3,29 (s, 3H), 3,27 (s, 1H), 2,90 (t, $J = 7,0$, 1H), 1,82 (s, 6H), 1,60 (s, 6H).

[00110] El compuesto 5 tiene las siguientes características de RMN: RMN 1H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 7,89-7,90 (mult, 1H), 7,82-7,85 (mult, 1H), 7,52 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 7,16 (d, $J = 8,6$ Hz, 2H), 7,07-7,09 (mult, 2H), 6,94-6,98 (mult, 1H), 6,80 (s, 1H), 5,55 (t, $J = 5,2$ Hz, 1H), 4,93-4,95 (mult, 2H), 4,65 (s, 1H), 3,45 (s, 3H), 1,96 (s, 6H), 1,45 (s, 6H).

[00111] El compuesto 6 tiene las siguientes características de RMN: RMN 1H (400 MHz, CDCl₃) δ 7,97 (s, 1H), 7,46 (dd, $J = 9,9$, $1,8$, 1H), 7,23 - 7,18 (m, 1H), 7,12 (dd, $J = 10,3$, $1,9$, 1H), 6,97 (ddd, $J = 23,4$, $9,0$, $4,0$, 2H), 6,88 - 6,79 (m, 2H), 6,61 (s, 1H), 5,08 (d, $J = 5,4$, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,27 - 3,23 (m, 1H), 2,92 (t, $J = 6,9$, 1H), 1,61 (s, 12H).

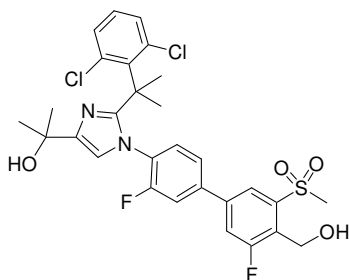
[00112] El compuesto 7 tiene las siguientes características de RMN: RMN 1H (DMSO-d₆, 400 MHz) δ 7,95-7,90 (m, 2H), 7,62 (dd, 1H, $J = 11$, $1,5$ Hz), 7,33 (dd, 1H, $J = 9,5$, $1,5$ Hz), 7,13-7,08 (m, 3H), 6,85 (s, 1H), 6,80-

6,70 (m, 1H), 5,57 (t, 1H, $J = 5,3$ Hz), 4,95 (d, 2H, $J = 4,3$ Hz), 4,71 (s, 1H), 3,47 (s, 3H), 1,85 (s, 6H), 1,46 (s, 6H).

[00113] El compuesto 8 tiene las siguientes características de RMN: RMN ^1H (DMSO- d_6 , 400 MHz) δ 7,96–7,90 (m, 2H), 7,49 (dd, 1H, $J = 11, 1,5$ Hz), 7,34 (dd, 1H, $J = 9,5, 1,5$ Hz), 7,20–7,10 (m, 1H), 7,05–6,94 (m, 2H), 6,90–6,75 (m, 3H), 5,57 (t, 1H, $J = 5,3$ Hz), 4,94 (d, 2H, $J = 4,3$ Hz), 4,70 (s, 1H), 3,47 (s, 3H), 1,68 (s, 6H), 1,47 (s, 6H).

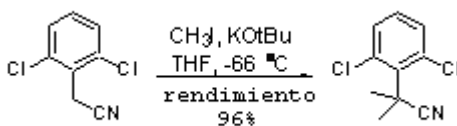
Ejemplo 9

2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol



Ejemplo 9a

Preparación de 2-(2,6-diclorofenil)-2-metilpropanonitrilo

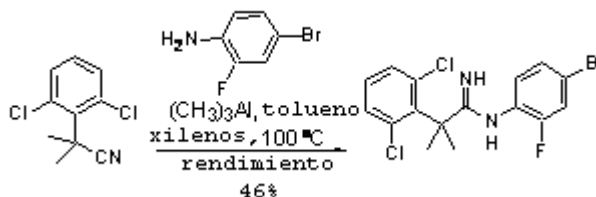


[00114] A una solución 1 M de *ter*-butóxido de potasio (403 ml, 403 mmol) a -66 °C (acetona/hielo seco) se agregó lentamente 2-(2,6-diclorofenil)acetonitrilo (25,0 g, 134 mmol) en THF anhidro (150 ml). La mezcla se agitó a -

66°C durante 20 minutos. Luego, se agregó yodometano (33,6 ml, 538 mmol) gota a gota durante 25 minutos a -66°C. En esta etapa, era exotérmica y se observó una gran cantidad de precipitado amarillo claro. La suspensión se agitó a -60°C durante 30 minutos. La mezcla de reacción se desactivó con 200 ml de agua helada, y se extrajo con éter (3 x 150 ml). Los orgánicos se combinaron, se lavaron con 150 ml de salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄, y se concentraron en un evaporador giratorio. El producto bruto (30 g, aceite amarillo) se purificó por medio de cromatografía en columna (ISCO, 330 g de sílice, EtOAc 20% en hexanos) para dar 2-(2,6-diclorofenil)-2-metilpropanonitrilo (28,2 g, 132 mmol, rendimiento 98%) como un aceite amarillento claro. RMN ¹H(CDCl₃, 400 MHz) δ 7,35 (d, 2H, *J* = 8,03 Hz), 7,16 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz), 2,09 (s, 6H); ¹³C-NMR (CDCl₃, 126 MHz) δ 134,6, 133,8, 131,4, 129,0, 124,1, 38,6, 29,2; MS *m/e* 214,10 (M+H⁺); HPLC (XBridge 5μ C18 4,6x50 mm, 4 ml/min, Solvente A: MeOH 10%/agua con H₃PO₄ 0,2%, Solvente B: MeOH 90%/agua con H₃PO₄ 0,2%, gradiente con B 0-100% durante 4 minutos): 3,16 minutos.

Ejemplo 9b

Preparación de N-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2,6-diclorofenil)-2-metilpropanimidamida

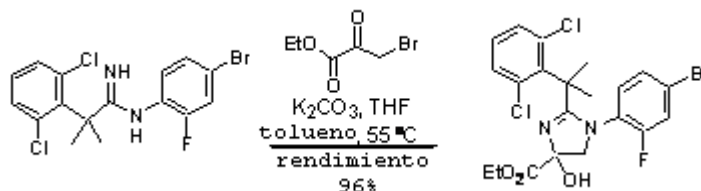


[00115] 2-(2,6-Diclorofenil)-2-metilpropanonitrilo (20 g, 93 mmol) y 4-bromo-2-fluoroanilina (28,4 g, 149

mmol) se disolvieron en oxileno anhidro (200 ml) y se calentaron a 100°C bajo N₂. Trimetilaluminio (2 M) en tolueno (140 ml, 280 mmol) se agregó gota a gota (~0,9 ml por minuto) durante 2,5 horas mientras que la mezcla de reacción se agitó a 100°C. Luego de la adición, la mezcla de reacción se agitó a 100°C durante 30 minutos, y luego se enfrió a -5°C. La mezcla de reacción se desactivó muy cuidadosamente con tartrato de sodio y potasio (20 g en 100 ml de agua) (Precaución: formación de gas y calor). La mezcla de reacción se filtró a través de Celite 545. El filtrado se lavó con HCl 1N (4 X 70 ml). La acuosa se neutralize con NaOH 2N y se extrajo con EtOAc (4 X 100 ml). Los orgánicos se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron con Na₂SO₄, y se concentraron en un evaporador giratorio para dar 24 g del producto bruto. El producto bruto se recrystalizó con 72 ml de MTBE y 240 ml de hexano para dar N-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2,6-diclorofenil)-2-metilpropanimidamida (17,5 g, 43,3 mmol, rendimiento 46,4%) como un sólido blanco (pureza: 99%). RMN ¹H(MeOD, 400 MHz) δ 7,42 (d, 2H, *J* = 8,0 Hz), 7,30 (m, 2H), 7,16 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz), 6,93 (t, 1H, *J* = 8,0 Hz), 2,11 (s, 6H); ¹³C-NMR (DMSO-*d*₆, 100 MHz) δ 166,5, 156,1, 153,7, 140,6, 138,5, 135,9, 131,4, 128,6, 128,0, 125,7, 119,5, 112,9, 50,0, 29,2; MS *m/e* 403,09 (M+H⁺); HPLC (XBridge 5 μ C18 4,6x50 mm, 4 ml/min, Solvente A: MeOH 10%/agua con H₃PO₄ 0,2%, Solvente B: MeOH 90%/agua con H₃PO₄ 0,2%, gradiente con B 0-100% durante 4 minutos): 2.32 minutos.

Ejemplo 9c

Preparación de 1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-4-hidroxi-4,5-dihidro-1H-imidazole-4-carboxilato de etilo

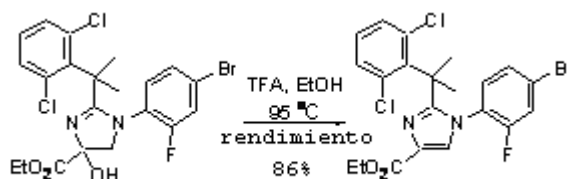


[00116] A una mezcla de N-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2,6-diclorofenil)-2-metilpropanimidamida (48,0 g, 119 mmol), K₂CO₃ (41,0 g, 297 mmol) en tolueno (180 ml) y THF (180 ml) a 55°C se agregó lentamente una solución de 3-bromo-2-oxopropanoato de etilo (23,3 ml, 166 mmol) en 24 ml de THF durante 50 minutos. La mezcla de reacción se mantuvo a 55°C durante 1,5 horas. Se observó una suspensión blanca. La mezcla de reacción se enfrió a 5°C. HCl (0.5N, 450 ml) se agregó gota a gota (pH final = 9~10). Luego de la adición, la suspensión se enfrió a 0°C. El sólido se recolectó por filtración, se lavó con agua (2 x 50 ml), y luego se secó en un horno de vacío a 60°C hasta el día siguiente. Se obtuvo 1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-4-hidroxi-4,5-dihidro-1H-imidazol-4-carboxilato de etilo (59 g, 114 mmol, rendimiento 96%) como un sólido blanco. RMN ¹H(CDCl₃, 400 MHz) δ 7,11 (m, 3H), 6,96 (m, 2H), 6,72 (t, 1H, J = 8,28 Hz), 4,35 (m, 2H), 4,25 (d, 1H, J = 10,5 Hz), 3,80 (d, 1H, J = 10,8 Hz), 1,98 (s, 3H), 1,93 (s, 3H), 1,38 (t, 3H, J = 7,03 Hz); RMN ¹³C (CDCl₃, 126 MHz) δ 173,0, 171,5, 159,8, 157,8, 137,3, 135,7, 132,1, 131,1, 128,1, 127,4, 125,6,

122,2, 120,1, 93,5, 62,5, 45,5, 30,2, 14,0; MS m/e 517,05 ($M+H^+$); HPLC (XBridge 5 μ C18 4.6x50 mm, 4 ml/min, Solvente A: MeOH 10%/agua con H_3PO_4 0,2%, Solvente B: MeOH 90%/agua con H_3PO_4 0,2%, gradiente con B 0-100% durante 4 minutos): 2,74 minutos.

Ejemplos 9d

Preparación de 1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-carboxilato de etilo

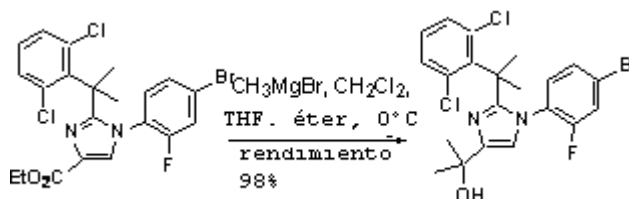


[00117] A una mezcla de 1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-4-hidroxil-4,5-dihidro-1H-imidazol-4-carboxilato de etilo (38 g, 73 mmol) en EtOH (200 ml) se agregó TFA (25,0 g, 220 mmol). La mezcla se calentó posteriormente a 95°C. El análisis por HPLC luego de 2,5 horas mostró < 1% de alcohol intermediario restante. La mezcla se diluyó con 300 ml de CH_2Cl_2 y se enfrió a aproximadamente 5°C con un baño de hielo. La mezcla se neutralizó con NaOH 1N (120 ml) y la capa orgánica se separó. La capa acuosa se extrajo con CH_2Cl_2 (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se concentraron en un evaporador giratorio para dar un material bruto. La recristalización en EtOH (5 ml/1 g) dio 32 g de 1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-carboxilato de etilo como un sólido blancuzco (rendimiento 86%). RMN ^1H ($DMSO-d_6$, 400 MHz) δ 7,92 (s,

1H), 7,16 (d, 1H, $J = 8,0$ Hz), 7,22 (m, 3H), 7,11(m, 1H), 7,04 (t, 1H, $J = 12,0$ Hz), 4,25 (q, 2H, $J = 8,0$ Hz), 1,94 (s, 6H), 1,27 (t, 3H, $J = 8,0$ Hz); MS m/e 502,68 ($M+H^+$); HPLC (XBridge 5 μ C18 4.6x50 mm, 4 ml/min, Solvente A: MeOH 10%/agua con H_3PO_4 0,2%, Solvente B: MeOH 90%/agua con H_3PO_4 0,2%, gradiente con B 0-100% durante 4 minutos): 3.87 minutos.

Ejemplo 9e

Preparación de 2-(1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol

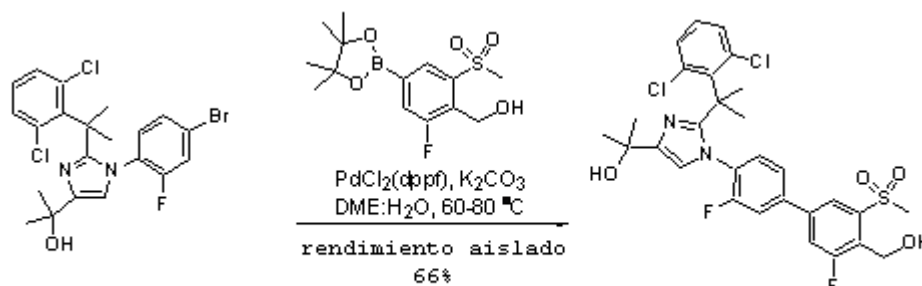


[00118] A una mezcla de bromuro de metilmagnesio (60,0 ml, 180 mmol, 3M en éter) en 120 ml de THF enfriado con un baño de hielo/sal (-15 a -17°C) se agregó lentamente una solución de 1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-carboxilato de etilo (30 g, 60 mmol) en 65 ml de CH_2Cl_2 y 87 ml de THF durante 45 minutos. La temperatura interna se mantuvo cuidadosamente a menos de 0°C. Se utilizaron 2 X 20 ml adicionales de CH_2Cl_2 para lavar el material residual. La temperatura de la mezcla de reacción se mantuvo a menos de 0°C durante 1 hora con agitación. Luego, la mezcla de reacción se diluyó con 100 ml de CH_2Cl_2 , y se agregó lentamente NH_4Cl saturado. La mezcla resultante se extrajo con CH_2Cl_2 (2 X 80 ml). Los orgánicos se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron con Na_2SO_4 , y se concentraron en un evaporador giratorio para dar 2-(1-(4-

bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol (28,5 g, 58,6 mmol, rendimiento 98%) como un sólido blanco. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7,13 (dd, 1H, $J = 9,03, 2,01$ Hz), 7,09 (s, 1H), 7,07 (s, 1H), 6,93 (m, 2H), 6,75 (t, 1H, $J = 8,16$ Hz), 6,55 (s, 1H), 3,18 (s, 1H), 2,00 (s, 6H), 1,58 (s, 6H); ^{13}C -NMR (CDCl_3 , 126 MHz) δ 158,1, 156,1, 154,5, 147,8, 139,3, 135,7, 131,3, 130,3, 127,8, 126,9, 122,7, 119,8, 115,1, 68,7, 44,8, 31,1, 29,9; MS m/e 485,05 ($\text{M}+\text{H}^+$); HPLC (XBridge 5μ C18 4,6x50 mm, 4 ml/min, Solvente A: MeOH 10%/agua con H_3PO_4 0,2%, Solvente B: MeOH 90%/agua con H_3PO_4 0,2%, gradiente con B 0-100% durante 4 minutos): 2,78 minutos.

Ejemplo 9

Preparación de 2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol



[00119] A un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 1 L bajo nitrógeno se agregó 2-(1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol (12,0 g, 24,7 mmol), [2-fluoro-6-metansulfonil-4-(4,4,5,5-tetrametil-[1,3,2]dioxaborolan-2-il)-fenil]-metanol (9,78 g, 29,6 mmol), K_2CO_3 (10,2 g, 74

mmol), DME (120 ml) y agua (12 ml). La mezcla se calentó a 60°C, y luego se agregó complejo de cloruro de 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno paladio (II) (4,06 g, 4,94 mmol) bajo nitrógeno. La mezcla de reacción se calentó a 80°C durante 30 minutos. La mezcla de color oscuro resultante se enfrió con un baño de hielo, y se particionó en 200 ml de CH₂Cl₂ y 200 ml de agua. Las capas orgánicas se combinaron y secaron con Na₂SO₄. Luego de la concentración, el producto bruto se purificó por medio de cromatografía flash (ISCO, 330 g de sílice, EtOAc 0% a 100% en hexanos) para dar 12,79 g de producto bruto (rendimiento 85%) como un sólido amarillo claro.

[00120] La recrystalización se llevó a cabo disolviendo 9,5 g de producto bruto en acetona (80 ml) a 65°C. La solución resultante se enfrió lentamente a 25°C durante 5 horas, y luego se enfrió a 0°C durante 30 minutos adicionales. Comenzaron a formarse cristales a 45°C. El sólido se recolectó por medio de filtración y se enjuagó con acetona fría. Luego del secado en un horno a 45°C al vacío durante 14 horas, se obtuvieron 4,9 g de producto puro. Para recuperar producto cristalino adicional, el líquido madre se concentró a aproximadamente 10 ml y se pasó a través de un lecho de sílice. Se utilizó EtOAc (100 ml) para eluir el compuesto. El filtrado se concentró al vacío para dar un sólido bruto. El sólido bruto se recrystalizó en acetone luego del procedimiento anterior para dar 2,5 g adicionales de producto. La recuperación combinada para los dos cultivos luego de la recrystalización tuvo un rendimiento del 78%. RMN 1H(DMSO-

d_6 , 400 MHz) δ 7,94 (m, 2H), 7,63 (dd, 1H, J = 11,29, 1,51 Hz), 7,34 (d, 1H, J = 9,54 Hz), 7,14 (m, 3H), 7,05 (m, 1H), 6,83 (s, 1H), 5,58 (t, 2H, J = 5,27 Hz), 4,96 (d, 2H, J = 4,27 Hz), 4,70 (s, 1H), 3,46 (s, 3H), 1,96 (s, 6H), 1,45 (s, 6H); MS m/e 609,16 ($M+H^+$); HPLC (XBridge 5 μ C18 4,6x50 mm, 4 ml/min, Solvente A: MeOH 10%/agua con H_3PO_4 0,2%, Solvente B: MeOH 90%/agua con H_3PO_4 0,2%, gradiente con B 0-100% durante 4 minutos): 2,56 minutos.

[00121] Alternativamente, el Ejemplo 9 se preparó de acuerdo con lo descripto a continuación:

[00122] A un matraz de fondo redondo de 3 cuellos de 1 L bajo nitrógeno se agregó tetrahidrofurano de metilo ("MeTHF", 6,9 kg), 2-(1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol (1,994 kg, 4,1 moles) y (2-fluoro-6-(metilsulfonil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metanol (1,38 kg, 4,19 moles). La mezcla se agitó a 23°C durante 15 minutos hasta que se disolvieron todos los sólidos. En la finalización de este período, se agregaron (oxidi-2,1-fenilen)bis(difenilfosfina) (0,022 kg, 0,041 moles) y $Pd(OAc)_2$ (0,01 kg, 0,045 moles) como una suspensión vía una línea subsuperficial. Luego de la finalización de la adición, la mezcla se enjuagó con MeTHF adicional (1,65 kg). La mezcla resulante se evacuó a menos que 80 Torr y se rellenó con nitrógeno. Este proceso se repitió dos veces más. Luego de la finalización de la secuencia de desgasificación, la mezcla de reacción se agitó durante al menos 15 minutos y se observó un color dorado claro. En un recipiente de reacción separado, se preparó una solución de hidróxido de potasio (0,352 kg) en agua (10,00 kg) y se

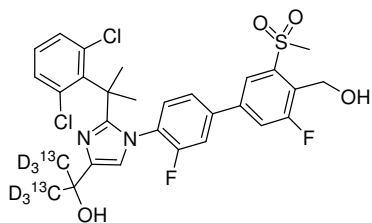
desgasificó pulverizando la solución con gas de nitrógeno durante al menos 15 min antes del uso. La solución de KOH (10,35 kg) se transfirió en el reactor por medio de vacío. La temperatura de reacción exhibió un exotermo conocido a partir de 20°C a 29°C. Luego de la finalización de la adición, la mezcla bifásica resultante se desgasificó por una serie de cambios de presión. La mezcla se calentó a entre 45-50°C donde se agitó durante al menos 2 horas. Luego de este tiempo, la mezcla de reacción se analizó por medio de HPLC, que indicó que la reacción estaba completa. La mezcla de reacción se enfrió a 23°C y la agitación se detuvo. La mezcla se dejó separar durante 30 minutos y se eliminó la corriente de KOH menor gastada. El producto orgánico rico se pasó a través de una columna de gel de sílice funcionalizado con tiourea (0,782 kg) (Silicycle) a ~0,1 kg por minuto para eliminar el paladio. La fase del producto orgánico rico se lavó con una solución de NaHCO₃ 5% (5 vol.) y las fases se separaron. La fase orgánica se lavó con agua (5 vol) y las fases orgánicas y acuosas se separaron.

[00123] La fase del producto orgánico rico se filtró por pulido en un recipiente de reacción limpio y luego se concentró a ~8 volúmenes (~16 L) al vacío (80 Torr, T_{jacket} = 60°C). Una vez en el volumen prescripto, la mezcla de reacción se dejó enfriar a 25°C. Una vez en la temperatura prescripta, la mezcla de reacción se sembró con 2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol (0,5%, 0,008 kg). La suspensión resultante se agitó a 25°C durante aproximadamente 18 horas. En la

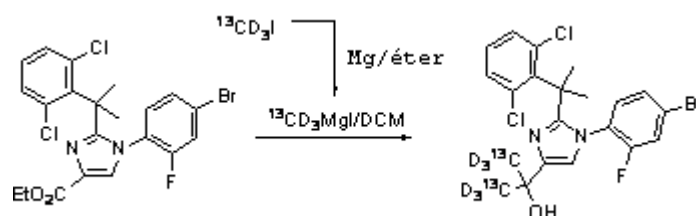
finalización de este período, la mezcla de reacción se concentró a ~8 L al vacío (150 Torr, Tjacket = 60°C). Una vez en el volumen prescrito, la mezcla de reacción se calentó a 50°C y se agregó acetato de isopropilo (IPAc, 13,90 kg) al reactor durante un período de 90 minutos. Luego de la finalización de la adición, la mezcla de reacción se enfrió a 25°C durante un período de 3 horas. Una vez en la temperatura prescrita, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 16 horas. En la finalización de este período, la mezcla de reacción se filtró, deslicorizó, y lavó con IPAc adicional (10,4 kg). La torta filtro se secó vía succión sobre el filtro bajo una corriente de nitrógeno seco para dar un sólido blanco. El sólido blanco se transfirió a un secador y se secó a 50°C bajo vacío total para dar 2,03 kg de producto (rendimiento 81%, 99,40 AP, 98% en peso).

Ejemplo 10

2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)[(¹³CD₃)₂]propan-2-ol



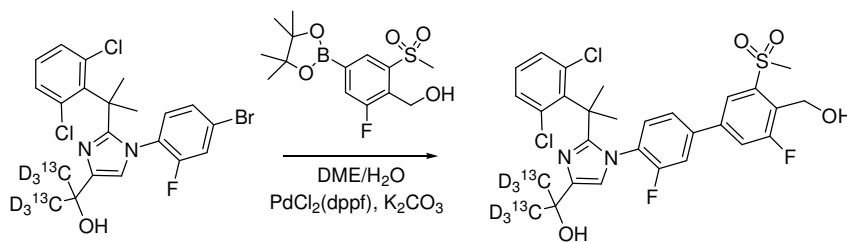
Preparación de 2-(1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)[(¹³CD₃)₂]propan-2-ol



[00124] Magnesio secado al horno (86 mg, 3,52 mmol) y dietil éter anhidro (3,20 ml) se transfirieron a un matraz de fondo de redondo 14/20 de 25 ml secado al horno bajo argón. Se agregó [$^{13}\text{CD}_3$]-yodometano (467 mg, 3,20 mmol) a temperatura ambiente y se agitó a 33°C durante 1 hora. Signos visuales indicaron que se formó reactivo de Grignard (una suspensión clara cambió a una mezcla nebulosa con espuma y exotermo). La solución se enfrió a temperatura ambiente y se transfirió vía una cánula a una solución enfriada (baño de hielo/agua) de 1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-carboxilato de etilo (400 mg, 0,800 mmol) en diclorometano anhidro (2,60 ml) bajo argón. El matraz en el que se preparó el reactivo de Grignard se enjuagó con éter anhidro (2 x 400 μl) y se transfirió vía una cánula al matraz que contenía el etil éster. La mezcla de reacción se dejó calentar lentamente a temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora. El análisis por medio de HPLC indicó que estaba presente < 0,3% de material de inicio. La reacción se enfrió a 0°C, se diluyó con diclorometano anhidro (800 μl) y se desactivó por la adición lenta y cuidadosa de cloruro de amonio saturado acuoso (8 ml). Las dos capas se separaron, y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (3 x 4 ml). Los extractos orgánicos combinados se concentraron *in vacuo* para obtener 443,5 mg de producto bruto como un

sólido blanco. El producto bruto descrito con anterioridad se combinó con 244,3 mg (sólido blanco) obtenidos a partir de una reacción similar. El producto combinado se purificó por cromatografía flash sobre gel de sílice (cartucho Isco RediSep, 12 g) y eluyó con EtOAc 10 a 20% en hexano. Se recolectaron 30 ml de fracciones. Las fracciones se chequearon por medio de TLC (Sílice, EtOAc 50%, hexano 50%, $C_f = 0,41$) y HPLC. Las fracciones que contenía producto puro se combinaron y concentraron *in vacuo* para dar 531,2 mg de producto como un sólido blanco (rendimiento 90%): RMN ^1H (400 MHz, CD_3OD) δ ppm: 6,47–7,58(m, 7H), 2,01(br s, 6H), HPLC: (YMC ODS-AQ, 3 μm , 150 x 4,6 mm, Fase Móvil A = TFA 0,05% en H_2O , Fase Móvil B = TFA 0,05% en ACN, 0 min B 50%, 9 min B 95%, 15 min B 95%, 15,5 min B 50%. Caudal de flujo = 1 ml /min) T_r = 9,23 min (a 220 nm, Pureza química = 98,8%), LCMS (ion +) m/z = 487(0%), 493(59%), 495(100%), 497(47%), 498(8%).

Preparación de 2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)[$^{13}\text{C}_2$]propan-2-ol



[00125] A un matraz de fondo de redondo 14/20 de 25 ml bajo argón se agregó 2-(1-(4-bromo-2-fluorofenil)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)[$^{13}\text{C}_2$]propan-2-ol (0,283 g, 0,572 mmol), (2-fluoro-

6-(metilsulfonil)-4-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)fenil)metanol (0,227 g, 0,686 mmol), complejo de diclorometano de dicloruro de 1,1'-Bis(difenilfosfino)-ferroceno-paladio (II) (0,094 g, 0,114 mmol), carbonato de potasio (0,237 g, 1,716 mmol), DME (4,30 ml) y agua (0,215 ml) que había sido previamente pulverizada con argón. La mezcla se calentó a 80°C durante 1 hora. Un análisis por medio de HPLC y LCMS indicó que el material de inicio se había consumido. La mezcla de reacción se enfrió con un baño de hielo-agua, se particionó entre diclorometano (10 ml) y agua (10 ml). La capa acuosa se extrajo con diclorometano (3 x 10 ml). Los extractos orgánicos combinados se concentraron *in vacuo* para dar 643,6 mg como un semi-sólido oscuro.

[00126] Previamente, se había completado una reacción similar para la preparación de 2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il) [(¹³CD₃)₂]propan-2-ol que dio 462,3 mg de un sólido oscuro. Los productos brutos de ambos experimentos se combinaron y purificaron por medio de cromatografía flash sobre gel de sílice (cartucho Isco RediSep, 80 g) luego de disolución en diclorometano y pre-absorción sobre gel de sílice. La columna flash se eluyó con EtOAc 25 - 50% en hexano. Se recolectaron 30 ml de fracciones. Las fracciones se chequearon por medio de TLC (Sílice, EtOAc 50%, hexano 50%, $C_f = 0,09$) y HPLC antes de la combinación de las fracciones que contenían producto puro y concentración *in vacuo* para dar 468,3 mg de 2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-

(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)[($^{13}\text{CD}_3$)₂]propan-2-ol como un sólido amarillo.

[00127] Este material se purificó en forma adicional por medio de recristalización en acetona (4 ml) a 65°C, se enfrió lentamente a 25°C durante 5 horas (comenzaron a formarse cristales a 40°C) luego se enfrió a 0°C durante 30 minutos adicionales. El sólido se recolectó por medio de filtración, se enjuagó con acetona fría y se secó *in vacuo* para dar 66,2 mg del compuesto del título como un sólido blancuzco.

[00128] El licor madre de esta primera recristalización se concentró y el residuo se recristalizó a partir de una cantidad mínima de acetona (1 ml) utilizando el mismo procedimiento esbozado con anterioridad para obtener un segundo cultivo de 276,4 mg de producto cristalino como un sólido blancuzco.

[00129] El licor madre de la segunda recristalización se concentró y se purificó por medio de HPLC preparativa, $T_r = 15,0$ min (Condiciones de la HPLC Preparativa: Columna Synergi Hydro-RP, 4 μ , 80Å, 21,2 x 250 mm, Fase Móvil A = H₂O, Fase Móvil B = ACN, 0 min B 30%, 25 min B 100%. Caudal de flujo = 16,0 ml /min. UV a 220 nm.)

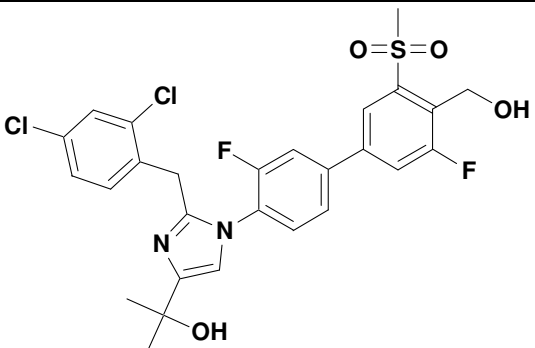
[00130] Los 3 aislados purificados se combinaron para dar 401,1 mg de 2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)[($^{13}\text{CD}_3$)₂]propan-2-ol como un sólido amarillo pálido (rendimiento 64%). RMN ^1H (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) δ ppm: 7,86-7,96(m, 2H), 7,62 (dd, $J=11,33$ Hz, 2,01 Hz, 1H), 7,33(dd,

$J=8,31$ Hz, $1,76$ Hz, $1H$), $7,09-7,19$ (m, $3H$), $6,99-7,09$ (m, $1H$), $6,81$ (s, $1H$), $5,53-5,62$ (m, $1H$), $4,89-4,99$ (m, $2H$), $4,67$ (t, $J=3,15$ Hz, $1H$), $3,45$ (s, $3H$), $2,08$ (acetona residual, 8 mol %), $1,95$ (s, $6H$). RMN ^{13}C (400 MHz, D6-DMSO) $29,61$ (t, $J=109,88$ Hz).

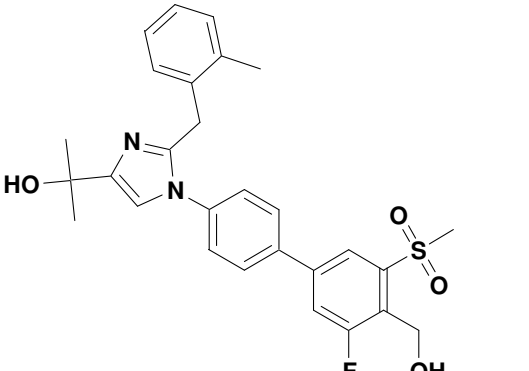
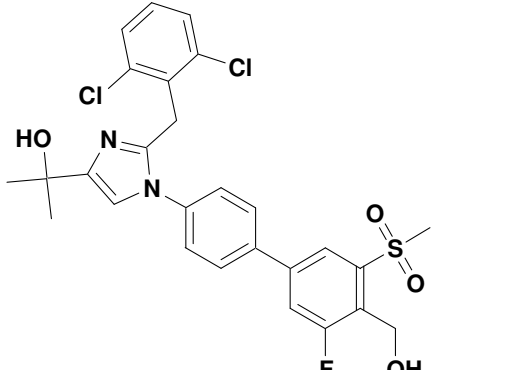
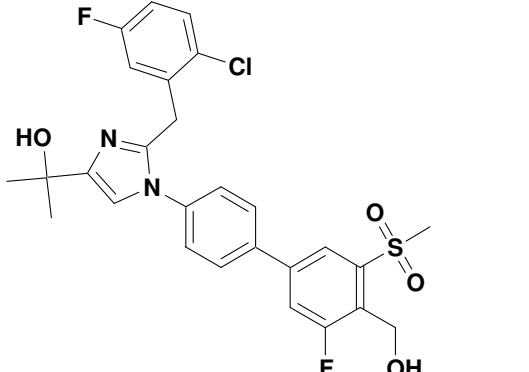
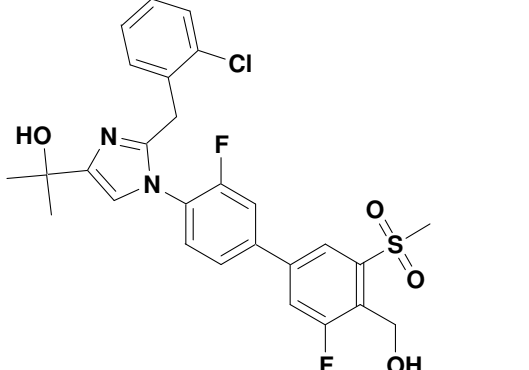
[00131] HPLC: (YMC ODS-AQ, $3\ \mu m$, 150×4.6 mm, Fase Móvil A = TFA $0,05\%$ en H_2O , Fase Móvil B = TFA $0,05\%$ en ACN, 0 min B 50% , 9 min B 95% , 15 min B 95% , $15,5$ min B 50% . Caudal de flujo = 1 ml /min) $T_r=9,66$ min (a 220 nm, Pureza química = $99,8\%$). LCMS (ion +) $m/z = 609(0\%), 617(100\%), 618(31\%), 619(74\%), 620(22\%), 621(16\%), 622(4,3\%), 623(1,3\%)$.

Ejemplos 11-20

[00132] Los siguientes compuestos se prepararon en una forma similar a la descrita en el Ejemplo 1, sustituyendo diversos reactivos de fenil acetonitrilo en lugar de 2-(genil)-2-metilpropanonitrilos como el material de inicio:

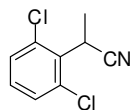
Nº	Nombre	Estructura	Datos
11	2-(2-(2,4-diclorobencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES): 581,3, 583,3 [M+H] ⁺

Nº	Nombre	Estructura	Datos
12	2-(1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(trifluorometil)bencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES): 581,3 [M+H] ⁺
13	2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-cloro-4-fluorobencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES): 581,3, 583,3 [M+H] ⁺
14	2-(2-(2-cloro-4-fluorobencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES): 565,3 [M+H] ⁺
15	2-(2-(2,4-diclorobencil)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES): 563,2, 565,2 [M+H] ⁺
16	2-(1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-fluorobencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES): 531,2 [M+H] ⁺

Nº	Nombre	Estructura	Datos
17	2-(1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-2-(2-metilbencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES): 509,5 [M+H] ⁺ ; 531,2 [M+Na] ⁺
18	2-(2-(2,6-diclorobencil)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonyl)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol		MS (ES): 586,5 [M+H] ⁺
19	2-[2-(2-Cloro-5-fluorobencil)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-metansulfonyl-bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il]-propan-2-ol		MS (ES): 547,3 [M+H] ⁺
20	2-[2-(2-Cloro-bencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-metansulfonyl-bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il]-propan-2-ol		MS (ES): 547,3 [M+H] ⁺

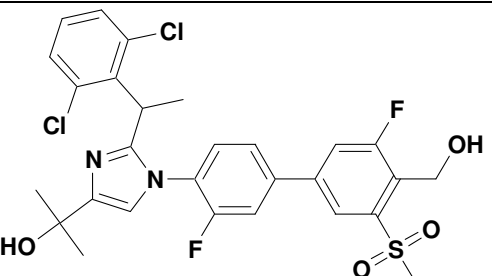
Ejemplo 21

[00133] Ejemplo para el Compuesto 21



[00134] En un matraz de 1 L se pesaron 25,0 g (134 mmol) de 2,6-diclorofenilacetoneitrilo y 250 ml de THF anhidro. La solución resultante se enfrió a -70°C y se agregaron 134 ml de ter-butóxido de potasio 1,0 M (1,0 M) en THF seguido por 8,4 ml de yodometano (1,0 equivalentes). La reacción se agitó a -70°C durante 1 hora y luego se dejó calentar a temperatura ambiente durante 3 horas. La reacción se concentró in vacuo para eliminar el THF, luego se lavó en un embudo separador con acetato de etilo y HCl 1 M. El acetato de etilo se separó, se lavó con bisulfito, salmuera, se secó (Na_2SO_4), y se concentró in vacuo. El residuo se purificó por cromatografía flash sobre gel de sílice (Biotage, 300 g de SiO_2 , elución en gradiente de hexanos 100% a acetato de etilo 10% durante 1 hora). Las fracciones adecuadas se combinaron y concentraron in vacuo para dar el producto deseado como un aceite incoloro, ~ 99% puro por GC, rendimiento: 12,2 g (45%). RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ 7,36(d, J = 8 Hz, 2H), 7,22(t, J = 8 Hz, 1H), 4,84(q, J = 7 Hz, 1H), 1,07(d, J = 7 Hz, 3H).

[00135] El Compuesto 21 se preparó en una forma similar a la descrita en el Ejemplo 1 utilizando anilina y 2-(fenil)propanonitrilo adecuados como materiales de inicio.

Nº	Nombre	Estructura	Datos
21	2-{2-[1-(2,6-diclorofenil)etil]-1-[3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il]-1H-imidazol-4-il}propan-2-ol		

[00136] El compuesto 11 tiene las siguientes características de RMN: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,10 (d, $J = 1,2$, 1H), 7,59 (dd, $J = 9,9$, 1,8, 1H), 7,47 - 7,37 (m, 2H), 7,24 (dd, $J = 5,3$, 3,2, 2H), 7,13 (dd, $J = 8,3$, 2,1, 1H), 7,05 (d, $J = 8,4$, 1H), 6,89 (s, 1H), 5,10 (d, $J = 4,4$, 2H), 4,09 (s, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,25 (d, $J = 17,4$, 1H), 2,86 (s, 1H), 1,63 (s, 6H).

[00137] El compuesto 12 tiene las siguientes características de RMN: RMN ^1H (400 MHz, DMSO) δ 8,06 (d, $J = 8,7$, 2H), 7,99 - 7,86 (m, 1H), 7,70 (d, $J = 8,3$, 1H), 7,58 (m, 3H), 7,40 (t, $J = 7,6$, 1H), 7,21 (d, $J = 7,7$, 1H), 7,13 (s, 1H), 5,57 (t, $J = 5,3$, 1H), 4,95 (d, $J = 4,7$, 2H), 4,81 (s, 1H), 4,13 (s, 2H), 3,45 (s, 3H), 1,46 (s, 6H).

[00138] El compuesto 13 tiene las siguientes características de RMN: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,10 (s, 1H), 7,71 (d, $J = 2,0$, 1H), 7,60 (dd, $J = 9,9$, 1,8, 1H), 7,49 (dd, $J = 8,2$, 2,1, 1H), 7,22 (d, $J = 8,2$, 1H), 7,12 (dd, $J = 8,6$, 6,1, 1H), 6,96 (dd, $J = 8,5$, 2,6, 1H), 6,89 - 6,78 (m, 2H), 5,10 (s, 2H), 4,05 (s, 2H), 3,31 (s, 3H), 3,00 (s, 1H), 2,77 (s, 1H), 1,63 (2, $J = 5,5$, 6H).

[00139] El compuesto 14 tiene las siguientes características de RMN: RMN ^1H (400 MHz, DMSO) δ 7,85 (t, $J = 4,5$, 2H), 7,70 (dd, $J = 11,4$, 1,8, 1H), 7,50 (dd, $J =$

8,3, 1,7, 1H), 7,35 (t, $J = 8,2$, 1H), 7,09 (dd, $J = 8,8$, 2,6, 1H), 7,03 - 6,80 (m, 3H), 5,35 (t, $J = 5,3$, 1H), 4,73 (d, $J = 4,1$, 2H), 4,56 (s, 1H), 3,80 (s, 2H), 3,38 (t, $J = 6,4$, 1H), 3,23 (s, 3H), 1,21 (s, 6H).

[00140] El compuesto 15 tiene las siguientes características de RMN: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,11 (d, $J = 1,2$, 1H), 7,72 - 7,53 (m, 3H), 7,28 (dd, $J = 18,0$, 4,9, 5H), 7,15 (dd, $J = 8,3$, 2,1, 1H), 7,05 (d, $J = 8,4$, 1H), 6,96 (s, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,12 (s, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,28 (s, 1H), 2,93 (s, 1H), 1,64 (s, 6H).

[00141] El compuesto 16 tiene las siguientes características de RMN: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,09 (s, 1H), 7,60 (dd, $J = 9,9$, 1,8, 1H), 7,39 (m, 2H), 7,23 (t, $J = 8$, 1H), 7,18 - 7,06 (m, 2H), 7,00 (m, 1H), 6,89 - 6,81 (m, 2H), 5,10 (dd, $J = 7,0$, 1,6, 2H), 4,06 (s, 2H), 3,30 (s, 3H), 2,92 (t, $J = 7,0$, 1H), 2,70 (s, 1H), 1,64 (s, 6H).

[00142] El compuesto 17 tiene las siguientes características de RMN: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,10 (s, 1H), 7,64 - 7,55 (m, 3H), 7,25 (m, 2H), 7,16 - 7,00 (m, 3H), 6,92 (s, 1H), 6,81 (d, $J = 7,5$, 1H), 5,08 (dd, $J = 7,1$, 1,7, 2H), 4,02 (s, 2H), 3,28 (s, 3H), 2,90 (t, $J = 7,1$, 1H), 2,76 (s, 1H), 2,16 (d, $J = 8,6$, 3H), 1,64 (s, 6H).

[00143] El compuesto 18 tiene las siguientes características de RMN: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,12 (s, 1H), 7,70 - 7,59 (m, 3H), 7,45 (d, $J = 8,4$, 2H), 7,24 (d, $J = 8,0$, 2H), 7,16 - 7,07 (m, 1H), 6,85 (s, 1H), 5,10 (d, $J = 5,6$, 2H), 4,31 (s, 2H), 3,30 (s, 3H), 3,07 (s, 1H), 2,94 (t, $J = 7,0$, 1H), 1,55 (s, 6H).

[00144] El compuesto 19 tiene las siguientes características de RMN: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,11 (d, $J = 1,1$, 1H), 7,62 (ddd, $J = 12,0$, 8,4, 1,8, 3H), 7,28–7,26 (m, 3H), 6,97 (s, 1H), 6,93 – 6,76 (m, 2H), 5,09 (s, 2H), 4,14 (s, 2H), 3,29 (br s, 4H), 2,91 (s, 1H), 1,65 (s, 6H).

[00145] El compuesto 20 tiene las siguientes características de RMN: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 8,08 (d, $J = 1,1$, 1H), 7,57 (dd, $J = 9,9$, 1,8, 1H), 7,38 (ddd, $J = 10,3$, 9,2, 2,0, 2H), 7,23 – 7,17 (m, 2H), 7,18 – 7,01 (m, 3H), 6,89 (d, $J = 0,7$, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,14 (s, 2H), 3,37 (s, 1H), 3,30 (s, 3H), 2,92 (s, 1H), 1,64 (s, 6H).

[00146] El compuesto 21 tiene las siguientes características de RMN: RMN ^1H (400 MHz, CDCl_3) δ 7,97 (s, 1H), 7,47 (dd, $J = 9,8$, 1,6, 1H), 7,18 (d, $J = 10,6$, 1H), 7,12 – 7,04 (m, 2H), 6,96 (d, $J = 7,9$, 2H), 6,90 – 6,81 (m, 1H), 6,79 (s, 1H), 5,13 (s, 2H), 4,94 (q, $J = 7,0$, 1H), 3,82 (s, 1H), 3,39 (d, $J = 24,5$, 1H), 3,36 (s, 3H), 1,81 (d, $J = 7,1$, 3H), 1,63 (s, 6H).

[00147] Procedimientos fisiológicos, farmacológicos y bioquímicos estándares están disponibles para ensayar los compuestos para identificar aquellos que poseen actividades biológicas que modulan la actividad de los LXR (LXR_α y LXR_β). Tales ensayos incluyen, por ejemplo, ensayos bioquímicos tales como ensayos de unión, ensayos de polarización por fluorescencia, ensayos de reclutamiento de coactivadores basados en FRET (véas, en general, Glickman et al., J. Biomolecular Screening (2002), Vol. 7, No. 1, pp. 3–10), así como ensayos basados en células que incluyen el ensayo de co-transfección, el uso de quimeras LBD-Gal 4 y ensayos de interacción de proteína-proteína, (véase,

Lehmann. et al., J. Biol Chem. (1997), Vol. 272, No. 6, pp. 3137-3140).

[00148] Los compuestos de la presente invención muestran ventajas inesperadas sobre compuestos previamente revelados en la técnica, tales como los revelados en la Publicación PCT N° WO 2007/002563. Se ha demostrado en ensayos, tales como los descritos con anterioridad, que los compuestos de la presente tienen un carácter agonista parcial de LXR con potencia aumentada en sangre total humana y poca eficacia en LXR α . Además, los compuestos de la presente invención también exhiben estabilidad metabólica en un ensayo microsomal hepático. Tales compuestos deben ser más útiles en el tratamiento, inhibición o mejora de una o más enfermedades o trastornos que se discuten en la presente.

Ejemplo A

Ensayo de centelleo de proximidad (SPA)

[00149] El ensayo de SPA mide la señal radioactiva generada por la unión de ^3H -24,25-epoxicolesterol a heterodímeros LXR α -RXR α o LXR β -RXR α . La base del ensayo es el uso de perlas SPA que contienen un centelleante, que cuando se unen al receptor ponen al ligando marcado en proximidad con la perla, donde la energía de la marca estimula al centelleante a emitir luz. La luz se mide utilizando un lector de centelleos de microplaca estándar. La capacidad de un ligando para unirse a un receptor puede medirse calculando el grado al que el compuesto puede competir con un ligando radiomarcado con afinidad conocida para el receptor.

Materiales requeridos:

[00150] 1. Marca: ^3H -24,25-epoxi-colesterol (NEN Life Science Products / Perkin Elemer))

[00151] 2. Lisado de LXR_α : LXR_α expresado en baculovirus/heterodímero RXR ambos con una etiqueta 6-HIS producida como un lisado bruto

[00152] 3. Lisado de LXR_β : LXR_β expresado en baculovirus/heterodímero RXR ambos con una etiqueta 6-HIS producida como un lisado bruto

[00153] 4. Perlas SPA: perlas SPA Ysi copper His-tag (Amersham)

[00154] 5. Placas: placa de 384 pocillos sin unión a superficie (Corning)

[00155] 6. Tampón de disolución de lisado de proteína: (Tris-HCl 20 mM pH 7,9, NaCl 500 mM, Imidazol 5 mM) .

[00156] 7. Tampón SPA 2x: (K_2HPO_4 40 mM/ KH_2PO_4 pH 7,3, NaCl 100 mM, Tween 20 0,05%, Glicerol 20%, EDTA 4 mM)

[00157] 8. Tampón SPA 2x EDTA w/o: (K_2HPO_4 40 mM/ KH_2PO_4 pH 7,3, NaCl 100 mM, Tween 20 0,05%, Glicerol 20%) .

Soluciones madre

[00158] K_2HPO_4 0,5 M/ KH_2PO_4 pH 7,3

[00159] EDTA 0,5 M pH 8,0

[00160] NaCl 5 M

[00161] Tween-20 10%

[00162] Glicerol

Preparación de lisados de proteína

[00163] Los plásmidos de expresión en baculovirus para RXR α humano  (Número de Acceso NM_002957), LXR_α

(Número de Acceso U22662), y LXR β (Número de Acceso U07132) se prepararon clonando los ADNc de longitud completa adecuados en el vector pBacPakhis2 (Clontech, CA) seguido por procedimientos estándares. La inserción de los ADNc en el vector polivinculador pBacPakhis2 creó una fusión enmarcada al ADNc a una etiqueta poly-His del extremo terminal N presente en pBacPakhis1. La clonación correcta se confirmó por medio de un mapeo de restricción y/o secuenciación.

[00164] Los lisados celulares se prepararon infectando células de insectos Sf9 sanas a una densidad de aproximadamente $1,25 \times 10^6$ /ml a 27°C, en un volumen total de 500 ml por matraces de agitación de 1 L, cultivadas bajo condiciones estándares. Para preparar el lisado de LXR α , se cotransfectaron células de insectos con el cassette de expresión de LXR α en un M.O.I. de 2,0 y con el cassette de expresión de RXR en un M.O.I. de aproximadamente 1,0. Para preparar el lisado de LXR β , se cotransfectaron células de insectos con el cassette de expresión de LXR β en un M.O.I. de aproximadamente 2,0 y con el cassette de expresión de RXR en un M.O.I. de aproximadamente 1,0. En ambos casos, las células se incubaron durante 48 horas a 27°C con agitación constante antes de la cosecha.

[00165] Luego de la incubación, se cosecharon células por medio de centrifugación y se peletearon. Los pellets celulares se resuspendieron en dos volúmenes de tampón de extracción helado recientemente preparado (Tris 20mM pH 8,0, Imidazol 10mM, NaCl 400mM, que contenía un comprimido inhibidor de la protease libre de EDTA (Roche Catalog No: 1836170) por 10 ml de tampón de extracción).

[00166] Las células se homogenizaron lentamente sobre hielo utilizando un homogenizador Dounce para lograr una lisis celular de 80-90%. El homogenato se centrifugó en un rotor pre-enfriado (Ti50 o Ti70, o equivalente) a 45000 rpm durante 30 minutos a 4°C. Alícuotas del sobrenadante se congelaron en hielo seco y se almacenaron congeladas a -80°C hasta la cuantificación y el control de calidad. Alícuotas de los lisados se ensayaron en el ensayo de SPA para asegurar consistencia de lote a lote, y vía análisis de SDS-PAGE luego de la purificación utilizando Resina Ni-NTA (Qiagen) y se ajustaron para la concentración de proteína y nivel de expresión antes del uso en ensayos de control.

Preparación de reactivos de control

[00167] [³H] Solución de 24,25 Epoxicolesterol (EC): Para una placa única de 384 pocillos (o 400 pocillos), se agregaron 21 µl de [³H] EC (actividad específica 76,5 Ci/mmol, concentración 3,2 mCi/ml) a 4,4 ml de tampón de SPA 2x para dar una concentración final de 200 nM. Para cada placa de 384 pocillos adicional, se agregaron 19,1 µl adicionales de [³H] EC a 4,0 ml de tampón de SPA 2x adicional. La concentración final de [³H] EC en el pocillo fue de 50 nM.

[00168] Se diluyó lisado de LXR α (preparado como con anterioridad) con tampón de disolución de lisado de proteína. Se prepararon 1400 µl de lisado de LXR α diluido por placa de 384 pocillos, (o 200 pocillos) y se prepararon 1120 µl de lisado de LXR α diluido por cada placa de 384 pocillos adicional.

[00169] Se diluyó lisado de LXR β (preparado como con anterioridad) con tampón de disolución de lisado de proteína. Se prepararon 1400 μ l de lisado de LXR β diluido por placa de 384 pocillos, (o 200 pocillos) y se prepararon 1120 μ l de lisado de LXR β diluido por cada placa de 384 pocillos adicional.

[00170] Solución de perlas de SPA: Para una placa de 384 pocillos (o 400 pocillos), se mezclaron en conjunto 3,75 ml de tampón de SPA 2x w/o EDTA, 2,25 ml de H₂O, y 1,5 ml de perlas de SPA Ysi His-tag (bien vortexadas antes de tomarlas). Para cada placa de 384 pocillos adicional, se mezclaron en conjunto un adicional de 3,5 ml de tampón de SPA 2x w/o EDTA, 2,1 ml de H₂O, y 1,4 ml de perlas de SPA Ysi His-tag.

Procedimiento:

[00171] Se prepararon disoluciones adecuadas de cada compuesto en una placa de 96 pocillos y se pipetearon en los pocillos adecuados de una placa de 384 pocillos 3,5 μ l por pocillo.

[00172] Se agregaron 9,1 μ l de [³H] EC a cada pocillo de la columna 2-23 de la placa multipocillos.

[00173] Se agregaron 5 μ l de lisado de LXR α diluido a cada pocillo de la columna 2-23 sobre filas impares de la placa multipocillos.

[00174] Se agregaron 5 μ l de lisado de LXR β diluido a cada pocillo de la columna 2-23 sobre filas impares de la placa multipocillos.

[00175] Se agregaron 17,5 μ l de solución de perlas de SPA a cada pocillo de la columna 2-23 de la placa multipocillos.

[00176] Las placas se cubrieron con un sellador claro y se colocaron en un incubador a temperatura ambiente durante aproximadamente 30 minutos.

[00177] Luego, las placas de incubación se analizaron utilizando un lector de placa luminiscente (MicroBeta, Wallac) utilizando el programa n ABASE 3H_384DPM. El ajuste para n ABASE 3H_384DPM fue:

[00178] Modo de recuento: DPM;

[00179] Tipo de muestra: SPA;

[00180] Modo ParaLux: poco ambiente;

[00181] Tiempo de conteo: 30 segundos.

[00182] Se llevaron a cabo ensayos para LXR_{α} y LXR_{β} en forma idéntica. El K_i determinado representa el promedio de al menos dos experimentos de respuesta a dosis independientes. La afinidad de unión para cada compuesto puede determinarse por medio de análisis de regresión no lineal utilizando la fórmula de competición de un sitio para determinar el IC_{50} donde:

[00183] $Y = Pie + (Cima - Pie) / (1 + 10^{X - \log IC_{50}})$.

[00184] Luego, se calcula el K_i utilizando la ecuación de Cheng y Prusoff donde:

[00185] $K_i = IC_{50} / (1 + [Concentración\ de\ Ligando] / K_d\ de\ Ligando)$.

[00186] Para este ensayo, típicamente la Concentración de Ligando = 50 nM y el K_d de EC para el receptor es 200 nM de acuerdo con lo determinado por la unión por saturación.

[00187] Los compuestos de la invención demostraron la capacidad de unirse a LXR_{α} y/o LXR_{β} , cuando se ensayaron en este ensayo.

Ejemplo B

Ensayo de Co-Transfección

[00188] Para medir la capacidad de los compuestos para activar o inhibir la actividad transcripcional de LXR en un ensayo basado en células, se utilizó el ensayo de co-transfección. Se ha demostrado que LXR funciona como un heterodímero con RXR. Para el ensayo de co-transfección, se introducen plásmidos de expresión para LXR α y LXR β separadamente vía transfección transiente en células mamíferas junto con un plásmido reportero de la luciferasa que contiene una copia de una secuencia de ADN que está unida por heterodímeros LXR-RXR (*LXRE*; Willy, P. et. al. 1995). Los LXR heterodimerizan con el RXR endógeno. El tratamiento de células transfectadas con un agonista de LXR aumenta la actividad transcripcional de LXR, que se mide por un aumento en la actividad de la luciferasa. Similarmente, la actividad antagonista de LXR puede medirse determinando la capacidad de un compuesto para inhibir competitivamente la actividad de un agonista de LXR.

Materiales requeridos

[00189] Células renales CV-1 de Mono Verde Africano

[00190] Plásmidos de expresión de co-transfección, que comprenden LXR α de longitud completa (pCMX-h LXR α o LXR β (pCMX-hLXR β), plásmido reportero (LXREx1-Tk-Luciferasa), y control (vector de expresión de pCMX-Galactosidasa) (Willey et al. Genes & Development 9 1033-1045 (1995)).

[00191] Reactivo de transfección tal como FuGENE6 (Roche).

[00192] Tampón de lisis celular 1x:

Tricina 22,4 mM pH 8,0

EGTA 0,56 mM pH 8,0

MgSO₄ 5,6 mM

Triton X-100 0,6%

Glicerol 5,6%

[00193] Solución de sustrato de luciferasa 10x:

HEPES 10 mM pH 6,5

D-Luciferina 2,75 mM

Coenzima-A 0,75 mM

ATP 3,7 mM

DTT 96 mM

Preparación de reactivos de control

[00194] Se prepararon células CV-1 24 horas antes del experimento plantándolas en matraces T-175 o platos de 500 cm² para lograr una confluencia del 70-80% el día de la transfección. El número de células a transfectar se determinó por el número de placas a controlar. Cada pocillo de una placa de 384 pocillos requiere ~8000 células. Se preparó Reactivo de Transfección de ADN mezclando los ADN plásmido requeridos con un reactivo de transfección de lípidos catiónicos FuGENE6 (Roche) siguiendo las instrucciones provistas con los reactivos. Se determinaron empíricamente cantidades óptimas de ADN por línea celular y tamaño del recipiente a transfectar. Para cada matraz de T175 cm² se mezcló y agregó un total de 20 µg de ADN, 60 µl de Eugene 6 y 1 ml de Optimem. Luego, las células se incubaron durante al menos 5 horas a 37°C para preparar células de control.

[00195] Se preparó un reactivo de ensayo de luciferasa combinando antes del uso:

1 parte de solución de sustrato de luciferasa 10x
Luciferase substrate solution

9 partes de tampón de lisis celular 1X.

Procedimiento

[00196] Se prepararon placas de ensayo dispensando 5 μ l de compuesto por pocillo de una placa de 384 pocillos para lograr una concentración de compuesto final de 10 μ M y no más que DMSO 0,5%. Se eliminaron los medios de las células de control, las células se tripsinizaron, cosecharon por medio de centrifugación, contaron, y laminaron a una densidad de aproximadamente 8000 células por pocillo en la placa de ensayo de 384 pocillos preparada con anterioridad en un volumen de aproximadamente 45 μ l. Se incubaron placas de ensayo que contenían compuestos y células de control (50 μ l de volumen total) durante 20 horas a 37°C.

[00197] Luego de la incubación con compuestos, se eliminaron los medios de las células y se agregó reactivo de ensayo de luciferasa (30 μ l/pocillo). Luego de ~2 minutos a temperatura ambiente, las placas de ensayo se leyeron en un luminómetro (lector PE Biosystems Northstar con inyectores a bordo, o equivalente).

[00198] El ensayo de co-transfección LXR/LXRE puede utilizarse para establecer los valores EC_{50}/IC_{50} para la potencia y actividad porcentual o inhibición para la eficacia. La eficacia define la actividad de un compuesto relativa a un control elevado ((N-(3-((4-fluorofenil)-

(naftalen-2-sulfonil)amino)propil)-2,2-dimetilpropionamida)) o un control bajo (DMSO/vehículo). Las curvas de respuesta a dosis se generan a partir de una curva de 10 puntos con concentraciones que difieren por $\frac{1}{2}$ unidades LOG. Cada punto representa el promedio de 4 pocillos de datos a partir de una placa de 384 pocillos.

[00199] Los datos de este ensayo se ajustan a la siguiente ecuación, a partir de la que puede resolverse el valor EC_{50} :

$$Y = Pie + (Cima - Pie) / (1 + 10^{((\log EC_{50} - X) * Pendiente)})$$

[00200] Por lo tanto, el EC_{50}/IC_{50} se define como la concentración en la que un agonista o antagonista logra una respuesta que está a la mitad de camino entre los valores de Cima (máximos) y Pie (de referencia). Los valores EC_{50}/IC_{50} representados son los promedios de al menos 2 y normalmente 3 experimentos independientes. La determinación de la eficacia relativa o control porcentual para un agonista se logra por medio de comparación a la respuesta máxima lograda por ((N-(3-((4-fluorofenil)-(naftalen-2-sulfonil)-amino)propil)-2,2-dimetilpropionamida) que se mide individualmente en cada experimento de respuesta a dosis.

[00201] Para el ensayo antagonista, puede agregarse un agonista de LXR a cada pocillo de una placa de 384 pocillos para lograr una respuesta. Por lo tanto, la inhibición porcentual para cada antagonista es una medida de la inhibición de la actividad del agonista. En este ejemplo, inhibición 100% indicaría que la actividad de una concentración específica de un agonista de LXR ha sido

reducida a niveles de referencia, definidos como la actividad del ensayo en presencia únicamente de DMSO.

[00202] Los compuestos de la presente invención se ensayaron en el ensayo de LXR α descrito inmediatamente con anterioridad y se demostró que tienen una eficacia menor o igual que 25% del compuesto de control.

[00203] Los compuestos de la presente invención se ensayaron en el ensayo de LXR β descrito inmediatamente con anterioridad y se demostró que tienen una eficacia menor o igual que 30% del compuesto de control.

Ejemplo C

Ensayo en sangre total humana

[00204] Se recolectó sangre total humana en EDTA que contenía tubos y se mezclaron inmediatamente alícuotas de 0,5 ml en un bloque de 96 pocillos con la disolución serial adecuada del compuesto de ensayo, en DMSO 0,5%. Los compuestos se incubaron con sangre a 37°C con balanceo constante durante 4 horas. Luego de la incubación, se lisaron células en Solución de Lisis para Purificación de Ácido Nucleico ABI (Applied Biosystems catalog # 4305895) y se congelaron a -80°C. Luego de la lisis celular, se purificó el ARN total utilizando una estación preparatoria de ARN ABI 6100 de acuerdo con el protocolo provisto por el fabricante. Se sintetizaron los ADNc, y se cuantificaron los ARNm utilizando PCR Cuantitativa SYBR-Green (Q-PCR) en un Sistema de Detección de Secuencias ABI Prism 7900HT y reactivos de Quanta Bioscience Inc (Quanta Bioscience catalog # 95047 y 95055).

Tabla 2.1: Cebadores utilizados para la cuantificación de ARNm por RT-PCR

Gen	Cebador Hacia Adelante	Cebador Hacia Atrás
ABCA1	GGTGATGTTTCTGACCAATGTGA	TGTCCTCATACCAAGTTGAGAGAC
ABCG1	GACTGCGTGTCTGCAAAATC	GATGGGGGCATGATGACAATG
L-30	GCTGGAGTCGATCAACTCTAGG	CCAATTTGCTTTGCCTTGTC
B2M	GGCTATCCAGCGTACTCCAAA	CGGCAGGCATACTCATCTTTT

[00205] La cantidad de cada ARNm se determinó por medio del método $\Delta\Delta CT$ (Michael W. Pfaffl. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. Nucleic Acids Research, 2001, Vol. 29, No. 9 e45) y se normalizó a la cantidad de dos ARNm de control, es decir, proteína ribosomal L-30 (L-30) y beta-2-microglobulina (B2M). La inducción de ABCA1 y ABCG1 por medio del compuesto de ensayo se graficó como un porcentaje del compuesto de referencia, ácido 2-(4-(5-(5-ciano-1-(2,4-difluorobencil)-6-oxo-4-(trifluorometil)-1,6-dihidropiridin-2-il)tiofen-2-il)-3-metilfenil)acético, y la potencia (EC_{50}) y actividad (MÁX %) se calcularon ajustando una curva de respuesta sigmoidal como una función de la concentración del compuesto transformada por logaritmos utilizando el software XLFit de acuerdo con la ecuación $y = A + ((B-A)/(1+((C/x)^D)))$. El panagonista completo de $LXR\alpha$ y $LXR\beta$ ácido 2-(4-(5-(5-ciano-1-(2,4-difluorobencil)-6-oxo-4-(trifluorometil)-1,6-dihidropiridin-2-il)tiofen-2-il)-3-metilfenil)acético, (EC_{50} 1-2 μM) se utilizó como un compuesto de referencia y su actividad máxima se definió como 100%.

[00206] Los compuestos de la presente invención se ensayaron en el ensayo de descrito inmediatamente con

anterioridad y se demostró que tienen una potencia generalmente menor que 1000 nM, con preferencia, menor que 100 nM, con más preferencia, menor que 20 nM.

Ejemplo D

Estabilidad metabólica de alto rendimiento (HT) en microsomas humanos

[00207] El ensayo de estabilidad metabólica evalúa la estabilidad metabólica *in vitro* mediada por CYP utilizando microsomas hepáticos humanos luego de una incubación de 10 minutos.

[00208] El compuesto de ensayo se recibe como una solución madre 3,5 mM en DMSO 100%. El compuesto se diluye para crear una solución de acetonitrilo 50 μ M (ACN) que contiene DMSO 1,4%, que luego se utiliza como una solución madre 100x para incubación con microsomas hepáticos humanos. Cada compuesto se ensayo en duplicado. El compuesto, NADPH y las soluciones de microsomas hepáticos se combinan para incubación en tres pasos:

1) Se pre-calientan a 37°C 152 μ l de suspensión de microsomas hepáticos, concentración de proteína de 1,1 mg/ml en NaP_i 100 mM, pH 7,4, tampón MgCl_2 5 mM.

2) Se agregan 1,7 μ l de compuesto 50 μ M (ACN 98,6%, DMSO 1,4%) al mismo tubo y se pre-incuban a 37°C durante 5 minutos.

3) La reacción se inicia por medio de la adición de 17 μ l de solución de NADPH 10 mM pre-calentada en NaP_i 100 mM, pH 7,4.

[00209] Los componentes de reacción se mezclan bien, y se transfieren inmediatamente 75 μ l en 150 μ l de solución para desactivación/interrupción (punto cero en el tiempo,

T₀). Las reacciones se incuban a 37°C durante 10 minutos y luego se transfiere una alícuota adicional de 75 µl en 150 µl de solución para desactivación. Se utiliza acetonitrilo que contiene DMN 100 µM (un UV estándar para control de calidad por inyección), como la solución para desactivación para terminar las reacciones metabólicas.

[00210] Las mezclas desactivas se centrifugan a 1500 rpm (~500 X g) en una centrifugadora Allegra X-12, rotor SX4750 (Beckman Coulter Inc., Fullerton, CA) durante 15 minutos para peletear microsomas desnaturalizados. Luego, se transfiere un volumen de 90 µl de extracto de sobrenadante, que contiene la mezcla de compuesto original y sus metabolitos, a una placa de 96 pocillos separada para análisis por UV-LC/MS-MS para determinar el porcentual del compuesto original que permanece en la mezcla.

Análisis de muestra por UV-LC/MS-MS - Pre-análisis de integridad estructural

[00211] El Pre-análisis de integridad estructural de la estabilidad metabólica se utiliza para evaluar la pureza de los compuestos siendo ensayados. Los compuestos se reciben en placas de 96 pocillos como 57 µl de una solución de DMSO 3,5 mM. Las soluciones madre de DMSO compuesto 3,5 mM se diluyen 18 veces con una solución que contiene volúmenes iguales de acetonitrilo, isopropanol, y MilliQ-H₂O. Las soluciones resultantes (200 µM) se analizan por la integridad estructural por medio de LC-UV/MS en un espectrómetro de masas por atrapamiento de iones Thermo LCQ Deca XP Plus, utilizando una columna Waters XBridge C18, 5

μm , 2 x 50 mm con una precolumna de Waters Sentry 2,1 mm, y las condiciones de LC descritas en la tabla a continuación, con una inyección de 5 μl y un caudal de flujo de 1 ml/min. Los datos adquiridos reflejan pureza por absorbancia de UV a 220 nm. Sólo se reportan resultados para aquellos compuestos con una pureza mayor que 50%.

Estabilidad metabólica - Integridad estructural Gradiente de HPLC*		
Tiempo de gradiente (min)	A %	B %
0,00	100	0
4,00	0	100
5,00	0	100
5,10	100	0
6,00	100	0

*Fase Móvil para pre-análisis de integridad estructural: (A) agua 98%, acetonitrilo 2% con acetato de amonio 10 mM; (B) agua 10%, acetonitrilo 90% con acetato de amonio 10 mM

Análisis de muestras - muestras incubadas

[00212] La optimización de la condición de MS/MS se lleva a cabo en un espectrómetro de masa triple-cuádruple Thermo TSQ Quantum equipado con una fuente de electroaspersión calentada (H-ESI) por medio de infusión automática para obtener las transiciones de SRM y sus valores de energía de colisión correspondientes. Se infunden soluciones de compuesto a una concentración de 20 μM en metanol:agua 1:1 a un caudal de flujo de 90 $\mu\text{l}/\text{min}$,

luego se combinan con la Fase Móvil a un caudal de flujo de 50 $\mu\text{l}/\text{min}$ antes de introducirse en la fuente. Todos los compuestos se optimizan en primer lugar utilizando la Fase Móvil A y B (A 50% y B 50%), y, siendo necesario, utilizando la Fase Móvil C y D (también con una composición 50:50). Los parámetros optimizados, que incluyen polaridad, transición de SRM y energía de colisión, se almacenan en una base de datos de Microsoft Access.

[00213] Las condiciones espectrométricas de masas obtenidas a partir de la infusión automática se utilizan para analizar muestras de incubación del ensayo de Estabilidad Metabólica. El volumen de inyección es 5 μl y el caudal de flujo es 0,8 ml/min. El gradiente utilizado se muestra en la table a continuación. Todas las muestras se inyectan con el gradiente utilizando en primer lugar la Fase Móvil A y B. Siendo necesario (por ejemplo, por razones cromatográficas), se re-inyectan muestras con el mismo gradient, pero utilizando la Fase Móvil C y D. Todos los parámetros de análisis por LC-MS/MS se capturan electrónicamente en los archivos de datos brutos.

Estabilidad metabólica - Gradiente de análisis de muestras*		
Tiempo de gradiente (min)	A % (o C%)	B% (o D%)
0,00	95	5
0,20	95	5
0,30	0	100
1,05	0	100
1,10	95	5

Estabilidad metabólica - Gradiente de análisis de muestras*		
1,50	95	5

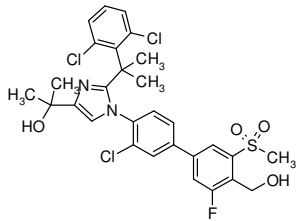
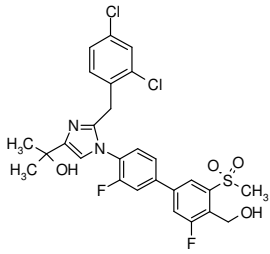
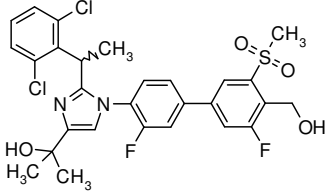
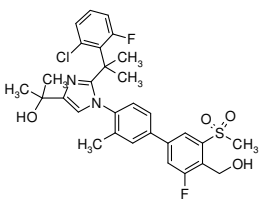
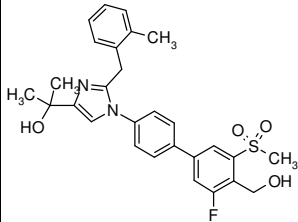
*Fase Móvil para reacción para análisis de muestras: (A) agua 98%, acetonitrilo 2% con ácido fórmico 0,1%; (B) agua 2%, acetonitrilo 98% con ácido fórmico 0,1%; (C) hidróxido de amonio en agua 0,1%; (D) hidróxido de amonio en acetonitrilo 0,1%.

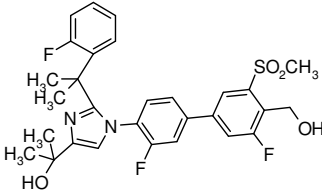
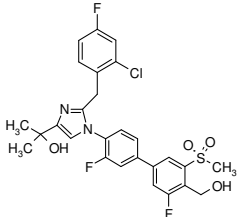
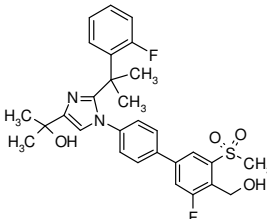
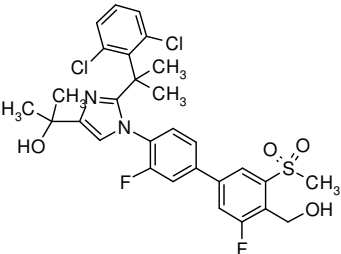
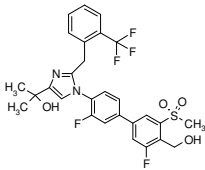
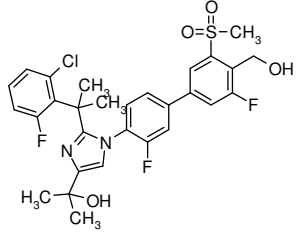
[00214] La integración de valores máximos se lleva a cabo con el software Xcalibur™. El cálculo del resto porcentual se lleva a cabo comparando las áreas de valores máximos LC-MS/MS de las muestras T_{10minutos} con aquellas de las muestras T_{0minutos} para cada compuesto.

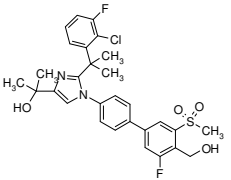
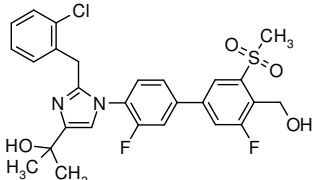
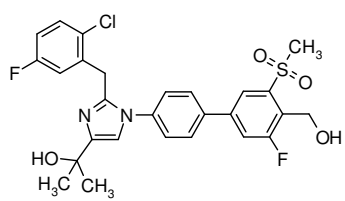
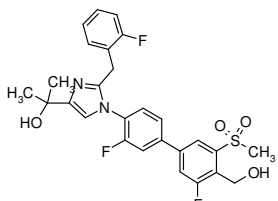
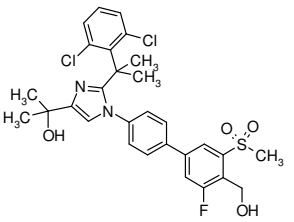
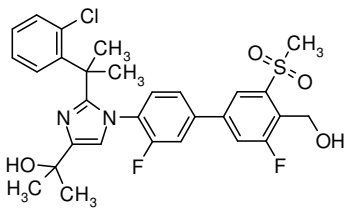
[00215] Los compuestos de la presente invención se ensayaron en el ensayo descrito inmediatamente con anterioridad y se demostró que tienen más que 80% del compuesto original permaneciendo a los 10 minutos.

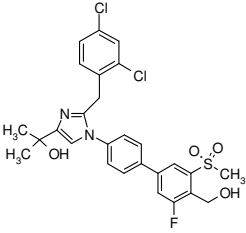
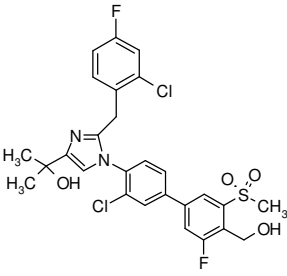
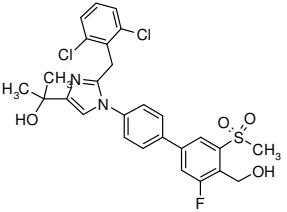
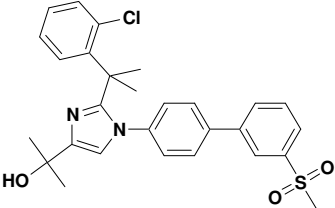
[00216] La siguiente Tabla 1 presenta los resultados del ensayo de co-transfección de LXR/LXRE que mide el EC₅₀ de LXR α y la eficacia, el ensayo de sangre total humana (hWBA) que mide la capacidad de los compuestos para unirse a LXR e inducir la expresión del gen ABCA1 relativa a un compuesto de referencia, y el ensayo de estabilidad metabólica de microsomas. Los valores de EC₅₀ se dan en rangos donde A es ≤ 100 nM, B es 101 nM a <1000nM y C es >1000 nM.

Tabla 1

Estructura	Nº	EC50 LXRα (nM)	Efi. LXRα (%)	hWBA hABCA1 L30 EC50 (nM)	hWBA hABCA1 L30 P Máx (%)	Microsoma humano % restante
	3	A	6	A	16	>80%
	11	C	---	A	16	>80%
	21	A	18	A	17	>80%
	2	A	10	A	18	>80%
	17	B	13	A	20	>80%

Estructura	Nº	EC50 LXRα (nM)	Efi. LXRα (%)	hWBA hABCA1 L30 EC50 (nM)	hWBA hABCA1 L30 P Máx (%)	Microsoma humano % restante
	8	A	10	A	23	>80%
	14	A	15	A	24	>80%
	1	B	13	A	28	>80%
	9	A	20	A	28	>80%
	12	A	13	A	32	>80%
	7	A	15	A	33	>80%

Estructura	Nº	EC50 LXRα (nM)	Efi. LXRα (%)	hWBA hABCA1 L30 EC50 (nM)	hWBA hABCA1 L30 P Máx (%)	Microsoma humano % restante
	4	A	12	A	34	>80%
	20	B	15	A	35	>80%
	19	C	---	A	35	>80%
	16	A	19	A	41	>80%
	5	A	25	A	43	>80%
	6	A	25	A	35	>80%

Estructura	Nº	EC50 LXR α (nM)	Efi. LXR α (%)	hWBA hABCA1 L30 EC50 (nM)	hWBA hABCA1 L30 P Máx (%)	Microsoma humano % restante
	15	A	8	A	47	>80%
	13	A	18	A	50	>80%
	18	A	17	A	51	>80%
	Compuesto Nº 19, Tabla 1, WO 2007/002563	B	38	C	55	>80%

[00217] Los datos representativos anteriores ilustran el carácter agonista parcial de LXR deseado e inesperado, la potencia aumentada en sangre total humana, la baja eficacia de LXR α y estabilidad metabólica en un ensayo microsomal hepático humano de los compuestos de la presente invención en comparación con compuestos previamente revelados en la técnica, tales como los revelados en la Publicación de PCT Publ. Nº WO 2007/002563.

Ejemplo E*Potencia in Vivo e inducción máxima de ABCG1 en monos cinomolgos*

[00218] Los compuestos de la presente invención se ensayaron para determinar su capacidad para inducir el ARNm para el gen ABCG1 blanco LXR en células sanguíneas cuando se administran oralmente a monos cinomolgos.

[00219] Los compuestos de ensayo se formularon en carboximetil celulosa 0,5% (CMC, Sigma) y Tween 80 2% (Sigma) por medio de trituración. Cada grupo de tratamiento contenía tres monos macho, pesando cada uno 3,0-6,0 kg al comienzo del estudio. Los compuestos de ensayo se formularon frescos cada mañana en vehículo, y los animales que habían sido privados de alimento la noche anterior se dosificaron entre las 7 y 7:30 AM por gavaje *po*. Para las determinaciones de los valores de referencia del ARNm de células sanguíneas, se recolectó 1 ml de sangre venosa en un tubo de ensayo recubierto en seco con EDTA y se agregaron 1 volumen de Tampón Fosfato Salino de Dulbecco sin calcio o magnesio y 2 volúmenes de Solución de Lisis para Purificación de Ácido Nucleico (Applied Biosystems, Inc.). Las muestras se congelaron a -80°C antes del aislamiento y análisis del ARN. Los compuestos de ensayo se dosificaron siguiendo la recolección de muestras de valores de referencia. 5 horas después de la dosificación, se recolectó sangre venosa y se procesó de acuerdo con lo presentado con anterioridad para las determinaciones del ARN. También se recolectó un adicional de 0,5 ml de sangre

que se analizó para las concentraciones en plasma del compuesto.

[00220] *Aislamiento de ARN.* Se dejó descongelar muestras congeladas a temperatura ambiente, y luego se colocaron sobre hielo. El ARN total se aisló con el ABI 6100 utilizando un protocolo pre-cargado de acuerdo con las instrucciones del fabricante (ABI Manual #4332809 Rev. B).

[00221] *Síntesis de ADNc y reacciones Q-PCR.* Se utilizó el Kit de Síntesis de ADNc qScript de Quanta Biosciences, Inc. para generar ADNc de primera hebra a partir de cada muestra de ARN total. Se llevaron a cabo reacciones de 20 μ l en placas de PCR de 96 pocillos Eppendorf AG twin-tec en un MJ Research, Inc. modelo PTC-200 DNA Engine. Aproximadamente, se utilizaron 500 ng de ARN total para cada reacción. Las reacciones estaban compuestas como sigue: 4 μ l de Mezcla de Reacción q-Script 5X más 3-5 μ l de agua libre de nucleasa más 1 μ l de Transcriptasa Reversa q-Script más 10-12 μ l de entrada de ARN. Luego de la mezcla, las reacciones se centrifugaron a 3750 rpm durante 2 minutos a temperatura ambiente y se operaron con un protocolo "q-Script" (25°C durante 5 minutos, seguido por 42°C durante 30 minutos, y luego 85°C durante 5 minutos) en termociclador MJ Research. Cada reacción se diluyó con 30 μ l de agua libre de nucleasa y se utilizó inmediatamente para Q-PCR SYBR-green o se almacenó a -20°C. Las reacciones por Q-PCR SYBR-Green se llevaron a cabo como sigue. Se prepararon mezclas de reacción para el gen blanco LXR, ABCG1, y la proteína ribosomal L30 del gen de normalización estándar interno utilizando sets de

cebadores hacia adelante/hacia atrás validados [ABCG1 (X-Mmul-ABCG1-F1 y X-Mmul-ABCG1-R1); proteína ribosomal L30 (SYBR-hL30-F1 y SYBR-hL30-R1)]. La información de secuencias de estos sets de cebadores se obtuvieron a partir del Sitio Web “Primer Bank” (<http://pga.mgh.harvard.edu/primerbank/index.html>) para L30 (Primer Bank # 4506631a1), y a partir de Exelixis, Inc. (South San Francisco, California, USA) para ABCG1 (Mmul_ABCG1.TaqMan F1/R1).

[00222] **Secuencias cebadoras**

Mmul_ABCG1.TagMan.F1 5'-ACGCAGACAGCACTGGTGAA-3'

Mmul1_ABCG1.TaqMan.R1 5'-CTTCCCTCCACCTGGAACCT-3'

hL30-F1 5'-GCTGGAGTCGATCAACTCTAGG-3'

hL30-R2 5'-CCAATTCGCTTTGCCTTGTC-3'

[00223] Las reacciones por SYBR-Green se agruparon como sigue. Por reacción, se mezclaron 10 μ l de Supermezcla Green 2X PowerSYBR[®] (Applied Biosystems Catalog # 4367659) más 2 μ l de Mezcla para Cebadores Hacia Adelante/Hacia Atrás Específica para Genes 10 μ M (la concentración final de los cebadores es de 500 nM cada uno) más 4 μ l de agua junto con 4 μ l de reacción a TA diluida. Las mezclas de reacción se centrifugaron a 3750 rpm durante 2 minutos a temperatura ambiente y se operaron en un Applied Biosystems modelo 7900HT SDS-Taqman System.

[00224] Cálculo de las cantidades relativas de ARNm, y potencias y actividades máximas in vivo del compuesto. La cantidad relativa de ARNm ABCG1 se calculó utilizando el segundo método Ct derivado comparative ($2^{-\Delta\Delta C_t}$). La cuantificación se obtuvo luego de la normalización al ARNm

de la proteína ribosomal L30. Cada muestra se ensayó por duplicado y el Ct promedio se utilizó para los cálculos.

[00225] *Cálculo de la potencias in vivo del compuesto en monos cinomolgos.* La concentración del compuesto de ensayo en plasma de cada individuo animal 5 horas después de la dosificación se trazó vs. la inducción multiplicada vs. el valor de referencia del ARNm de ABCG1 en células sanguíneas para cada animal 5 horas después de la dosificación para todos los grupos de dosis. Se incluyeron datos de todos los grupos de dosis en el mismo gráfico para cada compuesto. La potencia in vivo (EC_{50}) y la inducción máxima del ARNm ABCG1 para cada compuesto se determinó por medio de una curva de ajuste no lineal utilizando una ecuación de respuesta a dosis sigmoidal (software Graphpad Prism 4.03).

[00226] *Cuantificación de las concentraciones de compuesto en plasma por medio de LC/MS/MS.* Los siguientes son detalles de la cromatografía líquida con los métodos bioanalíticos basados en espectrometrías de masas en tándem (LC/MS/MS) utilizado para cuantificar los compuestos de ensayo en plasma de monos cinomolgos.

[00227] El análisis por medio de LC/MS/MS del compuesto de ensayo se llevó a cabo contra una curva estándar que oscilaba de 1 a 5000 nM. Las curvas estándares se ajustaron con una regresión lineal pesada por raíz cuadrada recíproca ($1/x^2$). Los estándares se analizaron en replicados únicos. Se prepararon muestras para control de calidad en matriz biológica en blanco a 3 concentraciones dentro del rango de la curva estándar y se analizaron como replicados dentro de cada grupo analítico. Las

concentraciones determinadas de más que 75% de los QC estaban dentro del 20% de sus valores nominales.

[00228] La preparación de muestras se llevó a cabo en manipuladores de líquidos automáticos Janus de 8 puntas y Janus Mini de 96 puntas. Se trataron alícuotas (50 μ l) de la matriz biológica (plasma) a partir de estudios in vivo y muestras de QC estándar con 1 M de carbonato de amonio en agua pH 9,2 no ajustado (50 μ l) que contenía 200 nM de dos estándares internos (IS), seguido por 300 μ l de metil t-butyl éter (MTBE) y se particionaron por medio de extracción líquida-líquida (LLE) utilizando cuarenta repeticiones de punta relleno-expelido durante aproximadamente 3 minutos. Luego, las capas acuosas y orgánicas se centrifugaron durante 2 minutos a 3900 rpm. El solvente de extracción de la capa orgánica superior MTBE (250 μ l) se transfirió a otra placa limpia de 96 pocillos y se colocó en un evaporador de nitrógeno durante 15 minutos a 40°C a sequedad. Se utilizaron alícuotas (100 μ l) para reconstituir los extractos secos con la Fase Móvil que consistía en acetonitrilo/agua 1:1. En primer lugar, se inyectó una alícuota de 10 μ l sobre la columna de extracción de cromatografía líquida de alto rendimiento Turboflow, luego se eluyó sobre una segunda columna de cromatografía líquida de alto rendimiento para el análisis basado en LC/MS/MS.

[00229] El sistema de LC utilizado para todos los análisis fue un sistema de HPLC Aria TX-2 (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) que consistía en 8 bombas LC10AD Shimadzu con 2 Controladores de Sistema SCL-10AVP (Columbia, MD, USA) y un automuestreador de brazo dual CTC

Analytics HTS PAL (Switzerland) equipado con un ducto refrigerante que mantiene las muestras a 10°C durante el análisis. La columna de extracción en línea de HPLC fue un polímero mezclado Ciclones-P (0,5 x 50 mm, partícula 50 µM, Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) mantenido a temperatura ambiente. La columna analítica C18 de HPLC fue una XBridge C18 (2,1 mm x 50 mm, partícula 5 µM, Waters Corporation, Milford, MA, USA) mantenida a temperatura ambiente. La Fase Móvil, que consistía en ácido fórmico en agua 0,1% (A) y ácido fórmico en acetonitrilo 0,1% (B), se administró a un caudal de flujo de 1,5 ml/min a la columna de extracción en línea de HTLC y a 0,5 ml/min a la columna analítica C18 de HPLC. Estos caudales de flujo cambian durante el paso de transferencia entre 0,5 y 1,0 minuto. Se registraron los tiempos para los compuestos de ensayo y los estándares internos. El tiempo total del análisis fue 5,0 minutos. Los gradientes se resumen en las siguientes tablas.

Gradiente en fase móvil para la columna analítica XBridge C18 de HPLC

Tiempo (min)	A %	B %	Caudal de flujo (ml/min)	Curva
0 (Inicial)	95	5	0,5	isocrática
0,50	95	5	0,3	isocrática
1,00	95	5	0,3	isocrática
1,10	95	5	0,5	isocrática
2,00	5	95	0,5	lineal
2,50	5	95	0,5	isocrática
2,60	95	5	0,5	paso

Gradiente en fase móvil para la columna de Ciclones-P de extracción en línea para HTLC

Tiempo (min)	A %	B %	Caudal de flujo (ml/min)	Curva
0 (Inicial)	100	0	1,5	isocrática
0,50	100	0	0,2	isocrática
1,00	100	0	0,2	isocrática
1,10	0	100	1,5	paso
2,00	0	100	1,5	isocrática
2,10	50	50	1,5	paso
2,50	50	50	1,5	isocrática
2,60	100	0	1,5	paso

[00230] El espectrómetro de masas utilizado para todos los análisis fue un espectrómetro de masas en tándem Finnigan Quantum Ultra (Thermo Scientific, Waltham, MA, USA) equipado con una interfaz de electroaspersión calentada operando en modos de ionización positiva y negativa. Se utilizó nitrógeno ultra-alta-pureza (UHP) como los gases de impulsión y auxiliares en caudales de flujo de 3792 hPa para los de impulsión y 25 unidades para los auxiliares. La temperatura de desolvatación fue de 350°C y la temperatura de fuente fue de 350°C. La detección de cada analito se logró a través de monitoreos de reacción seleccionados (SRM). Se utilizó el modo de ionización positiva para cuantificar el compuesto de ensayo y el estándar interno. Se mantuvo argón UHP a una presión de $1,5 \times 10^{-3}$ en la celda de colisión de doble cuadrupol. Se registraron las transiciones monitoreadas para un compuesto de la presente invención y su estándar interno.

[00231] Se muestran en la Tabla 2 a continuación la potencia in vivo de los compuestos de ensayo en monos

cinomolgos, y la inducción máxima de ABCG1 derivada de los gráficos de concentración de compuesto en plasma a 5 horas de la dosificación vs. inducción multiplicada de ARNm a 5 horas de la dosificación.

Tabla 2

Compuesto	EC ₅₀ ± S.E. (nM)	Inducción máxima de
		ABCG1 (multiplicada vs. valor de referencia ± S.E.)
Compuesto N° 19, Tabla 1, WO 2007/002563	630 ± 168	12,4 ± 1,8
Ejemplo 4 Presente Invención	141 ± 53	5,9 ± 0,8
Ejemplo 9 Presente Invención	11 ± 6	8,9 ± 0,9

[00232] Los Ejemplos 4 y 9 de la presente invención son aproximadamente cuatro y sesenta veces más potentes que un compuesto conocido en la técnica luego de la dosificación en monos cinomolgos. En forma similar, los Ejemplos 4 y 9 inducen el ARNm de ABCG1 en sangre a un máximo de aproximadamente seis y nueve veces en comparación con aproximadamente doce veces para un compuesto conocido en la técnica demostrando así la actividad parcial de LXR en sangre de monos cinomolgos.

[00233] Se comprende que los ejemplos y realizaciones descriptos en la presente tienen únicamente propósitos ilustrativos y que diversas modificaciones o cambios serán sugeridos por los mismos a aquellos con experiencia en la técnica y que dichos cambios y modificaciones han de incorporarse dentro del espíritu y

ámbito de esta solicitud y del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Todas las publicaciones, patentes, y solicitudes de patente citadas en la presente se incorporan en la presente como referencia para todo propósito.

Reivindicaciones

1. Un compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, seleccionado de:

Nº	Nombre
1	2-(1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2-fluorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
2	2-(2-(2-(2-cloro-6-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-3-metil-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
3	2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
4	2-(2-(2-(2-cloro-3-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
5	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
6	2-(2-(2-(2-Cloro-fenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-hidroximetil-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)-propan-2-ol;
7	2-(2-(2-(2-cloro-6-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
8	2-{1-(3,3'-Difluoro-4'-hidroximetil-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-2-[2-(2-fluorofenil)propan-2-il]-1H-imidazol-4-il}-propan-2-ol;
9	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
10	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il) [(¹³ CD ₃) ₂]propan-2-ol;
11	2-(2-(2-(2,4-diclorobencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
12	2-(1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(trifluorometil)bencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
13	2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-cloro-4-fluorobencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;

Nº	Nombre
14	2-(2-(2-cloro-4-fluorobencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
15	2-(2-(2,4-diclorobencil)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
16	2-(1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-fluorobencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
17	2-(1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-metilbencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
18	2-(2-(2,6-diclorobencil)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
19	2-[2-(2-Cloro-5-fluoro-bencil)-1-(3'-fluoro-4'-hidroximetil-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il]-propan-2-ol;
20	2-[2-(2-Cloro-bencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-hidroximetil-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il]-propan-2-ol; y
21	2-{2-[1-(2,6-diclorofenil)etil]-1-[3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il]-1H-imidazol-4-il}propan-2-ol.

2. El compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, de la reivindicación 1 seleccionado de:

Nº	Nombre
1	2-(1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2-fluorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
2	2-(2-(2-(2-cloro-6-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-3-metil-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
3	2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;

Nº	Nombre
4	2-(2-(2-(2-cloro-3-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
5	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
6	2-(2-(2-(2-Cloro-fenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)-propan-2-ol;
7	2-(2-(2-(2-cloro-6-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
8	2-{1-(3,3'-Difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-2-[2-(2-fluorofenil)propan-2-il]-1H-imidazol-4-il}-propan-2-ol;
9	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
10	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il) [(¹³ CD ₃) ₂]propan-2-ol; y
21	2-{2-[1-(2,6-diclorofenil)etil]-1-[3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il]-1H-imidazol-4-il}propan-2-ol.

3. El compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, de la reivindicación 1 seleccionado de:

Nº	Nombre
11	2-(2-(2,4-diclorobencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
12	2-(1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(trifluorometil)bencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
13	2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-cloro-4-fluorobencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;

Nº	Nombre
14	2-(2-(2-cloro-4-fluorobencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
15	2-(2-(2,4-diclorobencil)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
16	2-(1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-fluorobencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
17	2-(1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-metilbencil)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
18	2-(2-(2,6-diclorobencil)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
19	2-[2-(2-Cloro-5-fluoro-bencil)-1-(3'-fluoro-4'-hidroximetil-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il]-propan-2-ol; y
20	2-[2-(2-Cloro-bencil)-1-(3,3'-difluoro-4'-hidroximetil-5'-metansulfonil-bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il]-propan-2-ol.

4. El compuesto, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, de la reivindicación 1 seleccionado de:

Nº	Nombre
3	2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
4	2-(2-(2-(2-cloro-3-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
5	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
9	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol;
10	2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il) [(¹³ CD ₃) ₂]propan-2-ol; y

21	2-{2-[1-(2,6-diclorofenil)etil]-1-[3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il]-1H-imidazol-4-il}propan-2-ol.
----	--

5. El compuesto de la reivindicación 4, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, caracterizado porque es 2-(1-(3-cloro-3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol.

6. El compuesto de la reivindicación 4, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, caracterizado porque es 2-(2-(2-(2-cloro-3-fluorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol.

7. El compuesto de la reivindicación 4, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, caracterizado porque es 2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3'-fluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol.

8. El compuesto de la reivindicación 4, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, caracterizado porque es 2-(2-(2-(2,6-diclorofenil)propan-2-il)-1-(3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il)-1H-imidazol-4-il)propan-2-ol.

9. El compuesto de la reivindicación 4, isótopo, o sal aceptable para uso farmacéutico del mismo, caracterizado porque es 2-{2-[1-(2,6-diclorofenil)etil]-1-

[3,3'-difluoro-4'-(hidroximetil)-5'-(metilsulfonil)bifenil-4-il]-1H-imidazol-4-il}propan-2-ol.

10. Una composición caracterizada porque comprende un compuesto de acuerdo a cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 y uno o más vehículos aceptables para uso farmacéutico.

Señor

**JEFE DIVISIÓN DE NUEVAS CREACIONES
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
E. S. D.**

REF: EXPEDIENTE: 11-161736

TITULO: “MODULADORES DEL LXR...”

ACTUACIÓN: RESPUESTA A EXAMEN DE PATENTABILIDAD

CARLOS ORLANDO MAYA RODRÍGUEZ, domiciliado en esta ciudad, identificado con la Cédula de Ciudadanía No.17.117.818 expedida en Bogotá, Abogado titulado en ejercicio y portador de la Tarjeta Profesional No. 17.402 del Consejo Superior de la Judicatura, obrando en calidad de apoderado de las sociedades Exelixis Patent Company LLC. y Bristol-Meyers Squibb Company según poderes debidamente conferidos y legalizados, adjunto a las diligencias administrativas de la referencia.

Encontrándome dentro del término legal comparezco para responder el oficio de Requerimiento No. 10005 del Examen de Patentabilidad emanado de esa Oficina, con fundamento en el Artículo 45 de la Decisión 486 de 2.000 de C.A.N, damos respuesta en los siguientes términos.

4.- Excepciones de patentabilidad (Art. 20 D 486 Literales (a) – (d)

Tanto el actual pliego reivindicatorio, como el anterior, no contiene reivindicaciones relativas a un uso, se han eliminado las cláusulas 11 a 15 originales, por lo que se salvan las objeciones relacionadas con la patentabilidad de la materia que allí se reivindicaba, de acuerdo a lo establecido por el Artículo 20 de la Decisión 486.

5.- De la solicitud de patente

5.1.- Título:

De acuerdo con lo sugerido por el señor examinador, respecto que el título es muy general y de manera de definir el objeto de la solicitud, se presenta un nuevo título para la solicitud, que en adelante es:

NUEVO TITULO:

“DERIVADOS DE 1-BIFENIL-2-BENCIL-IMIDAZOL, COMO MODULADORES DE LA ACTIVIDAD DE RECEPTORES HEPÁTICOS X (LXR) Y COMPOSICIONES FARMACÉUTICAS QUE LOS CONTIENEN”.

6.. Reivindicaciones

Para atender el requerimiento, según el Artículo 30 de la Decisión 486, del señor Examinador, con respecto a la objeción sobre la memoria descriptiva, el solicitante aclara:

Memoria descriptiva:

Acompañamos una nueva memoria **descriptiva en formato digital**, en reemplazo de la anterior, en la que se ha incorporado el siguiente párrafo en la página 16, entre los párrafos 41 y 42: *“En otra realización, la presente invención proporciona una composición que comprende un compuesto de acuerdo a cualquiera de las realizaciones divulgadas aquí, y uno o más vehículos aceptables para uso farmacéutico.”*

Esta enmienda no excede el alcance de la divulgación original, porque describe la composición de la reivindicación original 10, y la reivindicación original 10 fue presentada junto con la memoria, como bien lo señala el Sr. Examinador.

Reivindicaciones:

Acompañamos además un nuevo pliego reivindicatorio con 10 reivindicaciones, **en reemplazo del anterior. En formato Digital**

En las nuevas reivindicaciones 1 a 4, se ha reemplazado el término “o” por el término “y”, en el listado de compuestos.

Las cláusulas 5 a 9 se han enmendado, haciéndolas dependientes de la reivindicación 4, para aportar mayor concisión. Tal como lo señala el Sr. Examinador, la cláusula 4 contiene los compuestos de las reivindicaciones 5 a 9. Por lo tanto, no se ha agregado materia nueva. En cada una de las cláusulas 5 a 9 se ha seleccionado uno de los compuestos de la lista que aparece en la Tabla de la reivindicación 4.

También se ha enmendado la cláusula 10, agregando la expresión *“cualquiera de”* antes de *“las reivindicaciones 1 a 9”*. Claramente, no se ha agregado nueva materia con respecto a la divulgación original.

El nuevo pliego reivindicatorio que contiene 10 reivindicaciones, con un contenido que se ajusta a los límites impuestos por la memoria descriptiva original, por lo que no exceden el alcance de la invención.

6.- Determinación del Estado de la técnica:

Nivel Inventivo:

En cuanto a la falta de Nivel Inventivo planteada por el señor. Examinador, con base los documento D1 (WO 2007/002563 y D2 WO 2008/073825, el solicitante manifiesta respetuosamente su desacuerdo con el Sr. Examinador sobre la falta de nivel inventivo de la presente invención, por las siguientes razones:

La presente solicitud contiene 10 reivindicaciones. El examen de patentabilidad cita los documentos **D1 (WO 2007/002563)** y **D2 (WO2008/073825)** como la el arte previo más próximo, que también son las dos referencias citadas en el informe de búsqueda internacional PCT correspondiente a la presente invención. El Sr. Examinador ha objetado las

reivindicaciones argumentando falta de actividad inventiva frente a D1 y D2, debido a que:

(1) D1 describe compuestos que modulan la actividad de los receptores hepáticos X (LXR), en particular, el Compuesto 18 de D1, que supuestamente demuestra la capacidad de modular la actividad de LXR, presentando un valor de EC50 de menos de 1 μ M, y

(2) D2 supuestamente describe compuestos sustituidos de fórmula general (se hace referencia a la página 342, compuesto de la reivindicación 5).

En esencia, la objeción a la reivindicación 1 se basa en la afirmación de que el Compuesto 12 de la reivindicación 1 se diferencia del Compuesto 18 de D1 sólo porque el primero tiene un átomo de flúor en la posición meta del grupo fenilsulfonilo, mientras que el segundo no. El Sr. Examinador concluye que la característica técnica de incluir un átomo de flúor en la posición meta del grupo fenilsulfonilo es la razón por la que el Compuesto 12 de la reivindicación 1 presenta un aumento de la actividad de modulación de LXR. A continuación, basándose en la descripción de una estructura general en D2, en el que la definición de R^k podría incluir hasta 4 radicales, a saber, H, halógeno, OH, y SO₂CH₃, el Sr. Examinador sostiene que la reivindicación 1 es obvia. El Solicitante sostiene respetuosamente que el razonamiento expuesto en el Examen de Patentabilidad es demasiado simplista y la conclusión es de hecho cuestionable. Por el contrario, los compuestos, tal como se los reivindica, son inventivos frente a D1 y D2 por varias razones que detallaremos a continuación.

En primer lugar, D1 no revela ni sugiere la combinación única de las características estructurales que se describen y reivindican en la presente solicitud, y D2 no remedia estas deficiencias. Algunas de estas características estructurales se resumen en la memoria descriptiva, por ejemplo, en las páginas 5-6 del documento WO 2010/138598, que es la publicación de la solicitud PCT N° PCT/US10/36211 presentada

originalmente y correspondiente a la presente invención. Estas características incluyen la combinación de lo siguiente, todo conectado a un núcleo de imidazol:

(1) en la posición 1 del anillo de imidazol, una combinación única de sustituyentes fluoro-, hidroximetil- y metilsulfonil- en las posiciones 3 -, 4 - y 5, respectivamente, del anillo de fenilo del grupo bifenilo distal al núcleo de imidazol.

(2) en la posición 2 del anillo de imidazol, un grupo bencilo en el que el anillo fenilo está predominantemente sustituido con al menos uno de un selecto grupo de sustituyentes, en particular halógeno(s) en la(s) posición(es) orto. En muchos compuestos, el carbono bencílico del grupo bencilo también está sustituido con dos grupos metilo.

(3) en la posición 4 del anillo de imidazol, un sustituyente 2-hydroxyprop-2-ilo.

En ninguna parte de D1 o D2, o ambos combinados, se enseña o sugieren tales combinaciones únicas de características estructurales como las que se describieron anteriormente.

En segundo lugar, los resultados de los estudios comparativos dados a conocer en la presente solicitud han establecido que existe actividad inventiva de la presente invención con respecto a D1. Es notable que los compuestos de la presente reivindicación 1 predominantemente tienen grupos bencilo sustituidos con halógeno, con el o los halógenos ubicados predominantemente en la posición orto, mientras que el Compuesto 18 de D1 lleva un grupo orto-trifluorometilo (no un orto-halógeno), además de un meta-cloro, es decir, un grupo (2-trifluorometil-5-cloro) bencilo, que es estructuralmente muy diferente a la mayoría de los compuestos de la presente invención en comparación con el Compuesto 19 de D1, que se utilizó como referencia en el estudio comparativo. Debido a que la mayoría

de los compuestos reivindicados en la presente invención comparten esta característica estructural con el Compuesto 19 de D1, el último es un análogo cercano a la mayoría de los compuestos de las presentes reivindicaciones. Además, debido a que muchos compuestos de la presente invención contienen dos sustituyentes metilo en la posición bencílica, igual que en el Compuesto 19, este factor demuestra aún más que el Compuesto 19 fue seleccionado adecuadamente como un análogo cercano para el estudio comparativo que conduce a la presente invención. Las propiedades superiores inesperadas de los compuestos de la reivindicación 1 en comparación con el Compuesto 19 de D1 han demostrado que los compuestos de la reivindicación 1 poseen actividad inventiva sobre D1.

En tercer lugar, la comparación del Compuesto 12 de la reivindicación 1 con el Compuesto 18 de D1 no es probatorio en la determinación de la actividad inventiva de los compuestos actualmente reivindicados, en general, sobre lo divulgado en D1. Como se explicó anteriormente, en la mayoría de los compuestos de la reivindicación 1, el anillo fenilo del grupo 2-bencilo contiene uno o dos átomos de halógeno en la posición orto, de hecho, con la única excepción de los compuestos 12 y 17. En el examen de patentabilidad, de manera interesante, el Sr. Examinador seleccionó el Compuesto 12 de la reivindicación 1 para compararlo con el Compuesto 18 de D1, debido a que ambos compuestos tienen un grupo trifluorometilo en la posición orto del anillo fenilo del grupo bencilo. Debido a que el compuesto 12 es el único de los dos compuestos, entre los 21 compuestos de la reivindicación 1, que no contienen halógeno en el anillo fenilo del grupo bencilo, el Compuesto 12 de la reivindicación 1 no es un ejemplo representativo de los compuestos reivindicados. Por lo tanto, la comparación del Compuesto 12 de la reivindicación 1 con el Compuesto 18 de D1 no proporcionaría implicaciones significativas sobre la cuestión de la actividad inventiva.

En cuarto lugar, aun suponiendo que la comparación del Compuesto 12 de la reivindicación 1 con el Compuesto 18 de D1 tiene valor probatorio para

determinar la cuestión de la actividad inventiva, la comparación simplificada que se indica en el examen de patentabilidad no es suficiente para establecer la obviedad de la invención reivindicada. El compuesto 12 de la reivindicación 1 se diferencia del Compuesto 18 de D1 no sólo en la diferencia de un grupo meta-fluoro en el anillo fenilo del grupo bifenilo, sino también en el patrón de sustitución del anillo fenilo directamente conectada a la posición 1 del anillo imidazol y el anillo fenilo en el grupo bencilo en la posición 2 del anillo imidazol. En concreto, el Compuesto 12 de la reivindicación 1 contiene un grupo fluoro en el anillo fenilo directamente conectado al anillo imidazol, mientras que el Compuesto 18 de D1 no; por el contrario, el Compuesto 18 de D1 contiene un sustituyente cloro en el anillo fenilo del grupo bencilo, mientras que el Compuesto 12 de la reivindicación 1 no lo contiene. Por lo tanto, el Solicitante sostiene respetuosamente que la comparación hecha entre el Compuesto 12 de la reivindicación 1 y el Compuesto 18 de D1 es poco útil, induciendo de hecho a error, en la determinación de la cuestión de la actividad inventiva.

En quinto lugar, contrariamente a la afirmación del Sr. Examinador, D2 no enseña ni sugiere el patrón de sustitución única en el anillo fenilo del grupo bifenilo distal al núcleo de imidazol. El Sr. Examinador se refiere a la reivindicación 44 de D1, manifestando: "R^k = halógeno, OR¹¹⁰, -SO₂R¹¹⁰ (página 350, línea 4), preferentemente: halógeno = flúor (página 106, línea 10), R¹¹⁰ = hidrógeno (página 343, línea 28) "(véase el informe del examen, Tabla), afirmando que la divulgación enseña la característica estructural única en el anillo fenilo del grupo bifenilo distal al anillo de imidazol, pero de hecho, un vistazo más detallado de la reivindicación 44 de D1 revelaría que no es así. Por ejemplo, en primer lugar, la reivindicación 44 de D1 define "x" como 0 o 1, lo que significa que sólo pueden existir dos sustituyentes en el anillo fenilo distal al anillo de imidazol; en segundo lugar, cuando R^k se define como OR¹¹⁰ y R¹¹⁰ es hidrógeno, como indica el Sr. Examinador, sólo revela que uno de los sustituyentes en el anillo fenilo puede ser hidroxilo (OH), pero en la presente solicitud, todos los compuestos reivindicados contienen un grupo hidroximetilo (-CH₂OH). Por lo tanto, D2 no enseña ni

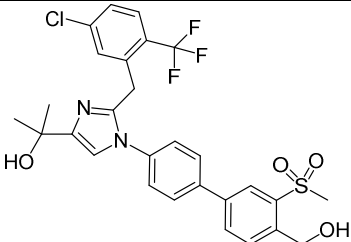
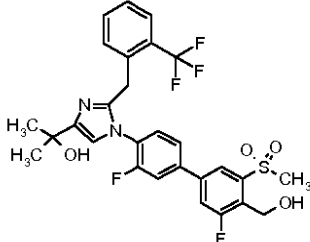
sugiere el patrón de sustitución única 3-fluoro-4-hidroximetil-5-metilsulfonilo en el anillo fenilo del grupo bifenilo.

Para ser breve, ninguna parte de D1 o D2, o ambos combinados, motivaría a una persona experta en la técnica a investigar los compuestos específicos que se reivindican en la presente invención, a pesar de la divulgación de compuestos tales como los compuestos 19 y 18, y la divulgación general de D2 como señala el Sr. Examinador; las propiedades inesperadas de los compuestos actualmente reivindicados como consecuencia de sus características estructurales únicas han demostrado claramente la actividad inventiva de la presente invención.

En sexto lugar, el Sr. Examinador afirma que el compuesto 12 de la reivindicación 1 tiene una actividad comparable con la del Compuesto 18 de D1, pero de hecho, el primero es 10 veces ($\leq 0,1 \mu\text{M}$) más activo que el segundo ($<1 \mu\text{M}$). Una diferencia de 10 veces no puede considerarse "comparable". Más importante aún, debido a las características estructurales únicas, los compuestos de la presente invención poseen propiedades superiores inesperadas frente a las descritas en D1, es decir, la combinación deseada de propiedades LXR α y LXR β y la potencia tal como se obtiene a partir de los ensayos en sangre humana. A diferencia de la caracterización del Sr. Examinador que señala que la presente invención simplemente propone "la manera de proporcionar compuestos que permiten el aumento de la actividad de los receptores X del hígado (LRX)", la presente invención trató de identificar compuestos que poseen propiedades únicas. Como se describe en la memoria en la página 54 de publicación internacional WO 2010/138598, los compuestos de la presente invención tienen las propiedades deseables de baja actividad LXR α (eficacia menor o igual a 25% del compuesto de control) y alta actividad LXR β (eficacia mayor o igual a 30% del compuesto de control), en comparación con el compuesto de referencia en D1, es decir, el Compuesto 19. Estas propiedades únicas no se revelan ni enseñan en D1 o D2, o ambos combinados. Como se resume en el párrafo [00217] de la publicación WO 2010/138598, "los

anteriores datos representativos ilustran un carácter agonista LXR parcial inesperado y deseable, un aumento de potencia en la sangre humana, bajo eficacia LXR α y estabilidad metabólica en un ensayo microsomal de hígado humano de los compuestos de la presente invención en comparación con compuestos previamente descritos en la técnica, tales como los descritos en la publicación WO 2007/002563 [es decir, D1]. "(Memoria descriptiva párrafo [00217].)

Para abordar más a fondo las consideraciones del Sr. Examinador, el solicitante proporciona los datos obtenidos a partir de estudio del Compuesto 18 de D1 en comparación con el Compuesto 12 de la presente reivindicación 1 en la siguiente Tabla:

Estructura	Compuesto	LXR α EC50 (nM)	LXR α Eff (%)	hWBA hABCA1 L30 EC50 (nM)	hWBA hABCA1 L30 Max P (%)	% Microsoma Humano Remanente
	Compuesto Nº 18 de WO 2007/002563	C	--	No ensayado		No ensayado
	Compuesto 12 de la Reiv. 1	A	13	A	32	>80%

El Compuesto 18 de D1 no cumplió con el nivel de eficacia establecido en la presente solicitud para LXR β , que requiere una eficacia mayor o igual a 30% del compuesto de control. Dado que se observó que el Compuesto 18 tenía sólo el 25% de eficacia para LXR β , no se probó en el ensayo de sangre humana (hWBA) o estudio de microsomas. Por lo tanto, incluso suponiendo que la comparación del Compuesto 12 de la presente reivindicación 1 con el compuesto 18 de D1 tenía valor probatorio para decidir sobre la cuestión de la actividad inventiva, los

datos adicionales de la comparación de los dos compuestos han demostrado claramente que la presente invención, es decir, los compuestos 1-21 que se reivindican, posee actividad inventiva frente a D1 y D2.

Por último, el solicitante solicita la atención del Sr. Examinador sobre el hecho de que aunque ambos documentos D1 y D2 fueron citados en el Informe de Búsqueda Internacional de la correspondiente solicitud PCT N° PCT/US2010/036211, el informe preliminar internacional sobre la patentabilidad (IPRP) ha reconocido la patentabilidad de los compuestos actualmente reivindicados, que establece: "las reivindicaciones 1-15 cumplen con los criterios establecidos por el PCT, artículo 33 (2)-(3), ya que el estado de la técnica no enseña ni sugiere el compuesto, isótopo o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, reivindicado en la reivindicación 1." IPRP, 8 de febrero de 2012. Por las mismas razones, el solicitante cree que también poseen actividad inventiva según Reglamentación Colombiana en materia de patentes.

En consecuencia, el Solicitante solicita respetuosamente que se retiren la objeciones formuladas en el Examen de Patentabilidad. Debido a las reivindicaciones 2-9 son todas dependientes de la reivindicación 1, estos compuestos específicamente mencionados también son patentables frente a D1 y D2.

De acuerdo con el nuevo pliego reivindicatorio anexo, la presente invención cumple con los requisitos de patentabilidad exigidos en el Art. 14 de la Decisión 486/2000 de la C.A.N, en el sentido de Novedad, Nivel inventivo y Aplicación Industrial.

Por lo antes expuesto, ruego a usted dar por subsanado dicho requerimiento, sin perjuicio de lo cual desde ya nos acogemos a lo dispuesto por el inciso segundo del artículo 45 de la decisión 486 de la Comunidad Andina de Naciones que a la letra dice: “(...) Cuando la oficina nacional competente estimare que ello es necesario para los fines del examen de patentabilidad, podrá notificar al solicitante dos o más veces (...)” (Subrayado para destacar).

NOTIFICACIONES

Mi poderdante y yo recibiremos notificaciones en la Secretaría de su Despacho o en mi Oficina de Abogado ubicada en la Carrera 13A No. 28-38 Ofc. 230 MZ. 2 Parque Central Bavaria de la ciudad de Bogotá D.C.

Del señor Jefe,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'C. O. Maya', followed by a long horizontal stroke.

CARLOS ORLANDO MAYA RODRÍGUEZ

No.17.117.818 expedida en Bogotá,

T.P No. 17.402 del C.S.J.