

18



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PCT

DELEGATURA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL

DIVISIÓN DE NUEVAS REACCIONES

09-79789

SOLICITUD DE PATENTE DE
INVENCION



TITULO: COMPUESTOS TRICÍCLICOS, COMPOSICIONES Y
PROCEDIMIENTOS

SOLICITANTE: PFIZER PRODUCTS INC.

DIRECCIÓN: EASTERN POINT ROAD, GROTON, CONNECTICUT 06340 E.U.A

APODERADO: CARLOS R. OLARTE

BOGOTÁ 30 de Julio de 2009

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

No. 09-079789- -00000-0000

Fecha: 2009-07-31 10:05:58

Dep. 2020 NUECREACION

Tra. 11 PATENTEIYII

Eve: 378 FASENACIONAL

Act. 411 PRESENTACION

Folios: 177

PETITORIO - FORMULARIO ÚNICO DE SOLICITUD
PATENTE PCT

ENTRADA EN FASE NACIONAL

P2009/000135

SOLICITUD DE:

1

☒

Patente de Invención.



Patente de Modelo de Utilidad.

☒

Capítulo I.



Capítulo II.

2

SOLICITANTE
(71)Nombre: PFIZER PRODUCTS INCDirección: Eastern Point Road, Groton, CT
06340 E.U.A.Nacionalidad o Domicilio: EstadounidenseLugar de Constitución: Estados Unidos

Teléfono: _____

Fax: _____

E-mail: _____

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número

REPRESENTANTE
O APODERADONombre: CARLOS R. OLARTEDirección: World Trade Center Torre A,
Calle 100 No. 8ª-37 Piso 10Teléfono: 601-7700 Fax: 601-7799E-mail: office@olarteraisbeck.com

IDENTIFICACIÓN

C.C.



NIT



C.E.



Otro



Cual

Número 79.782.747Bta
TP 74.295INVENTOR (ES)
(72)Nombre: VER PAGINA ADJUNTADirección: VER PAGINA ADJUNTANacionalidad o Domicilio: VER PAGINA

5

PCT (86)

Solicitud Internacional No. PCT/IB2008/000249

Fecha

Enero 28, 2008Publicación Internacional No. WO 2008/093236

Fecha

Agosto 7, 2008

6

Título (54) COMPUESTOS TRICÍCLICOS, COMPOSICIONES Y
PROCEDIMIENTOS (Folio 181)Clasificación Internacional (51) C07D 213/75, A61K 31/44, A61P 1/00, A61P 11/06,
A61P 19/02, A61P 25/28, A61P 29/00

(33) País de Origen

US

(32) Fecha

Febrero 2, 2007

(31) Número de Solicitud

60/887,981

Prioridad

SI

☒

NO

☐

**ANEXOS**

2



Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud.



Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica.



Poderes, si fuere el caso. Adjunto copia simple ver expediente No. 08-120232



Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante.



Declaraciones



Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos).



Copia del examen preliminar internacional efectuado por la Autoridad Internacional de Examen Preliminar (IPEA).



Traducción del examen preliminar internacional efectuado por la IPEA.



De ser el caso, copia del contrato de acceso.



De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas.



De ser el caso, certificado de depósito del material biológico.



Arte final 12 x 12.



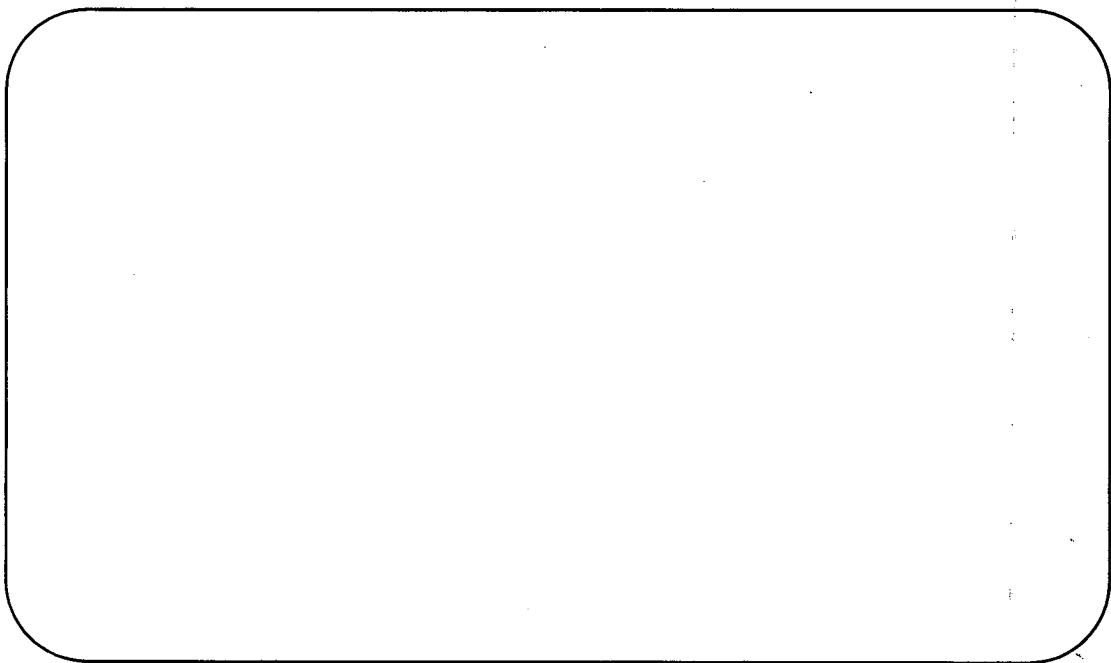
De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud.



De ser el caso, modificaciones efectuadas a la solicitud internacional.



Otros. Búsqueda Internacional

**FIGURA CARACTERÍSTICA:**

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: CARLOS R. OLARTE

FIRMA:

C.C. 79.782.747 Btá T.P. 74.295

LISTA DE INVENTORES

PCT/IB2008/0000249

1. **Hengmiao CHENG,**

Agouron Pharmaceuticals, Inc.,
A Pfizer Company, 10777
Science Center Drive,
San Diego, California 92121
Estados Unidos
Nacionalidad: Canadiense

2. **Xiao HU,**

Pfizer Global Research &
Development, 700 Chesterfield Parkway
West, Chesterfield, MO 63017
Estados Unidos de America
Nacionalidad: China

3. **Kevin DeWayne JEROME,**

Pfizer Global Research &
Development, 700 Chesterfield Parkway
West, Chesterfield, MO 63017
Estados Unidos de America
Nacionalidad: Estadounidense

4. **Mark Gerard OBUKOWICZ,**

Pfizer Global Research &
Development, 700 Chesterfield Parkway
West, Chesterfield, MO 63017
Estados Unidos de America
Nacionalidad: Estadounidense

5. **Lisa OLSON,**

4 Circle Drive, Hopkinton,
Massachusetts 01748
Estados Unidos de America
Nacionalidad: Estadounidense

6. **Paul Vincent RUCKER,**

2390 Rising Glen Way,
Apt. 101, Carlsbad, California 92008
Estados Unidos de America
Nacionalidad: Estadounidense

7. **Ronald Keith WEBBER,**

Pfizer Global Research &
Development, 700 Chesterfield Parkway
West, Chesterfield, MO 63017
Estados Unidos de America
Nacionalidad: Estadounidense

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 09 - 56,478
FECHA : JULIO 31 DE 2009

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO



No. 09-079789- -00000-0000

Fecha: 2009-07-31 10:05:58 Dep. 2020 NUECREACION
Tra. 11 PATENTEIYII Eve: 378 FASENACIONALI
Act. 411 PRESENTACION Folios: 177

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
OLARIE RAISBEK	CONSIGNACION	BANCO DE BOGOTA	062754387	105797215	30/07/2009	3,134,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
		1 TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	540,000.00
		TOTAL :	540,000.00

SON: QUINIENTOS CUARENTA MIL PESOS

RESPONSABLE : 

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

9

TRADUCCION OFICIAL No. 05-223

Efectuada el día 9 de diciembre de 2005, de un documento escrito en Inglés, al cual para su identificación se le estampa el sello de Sergio Andrés Rueda Iglesias, Traductor e Intérprete Oficial por Resolución No. 0138 expedida por el Ministerio de Justicia y del Derecho el 11 de febrero de 2002.

Traducción de las Autenticaciones Notariales y subsiguientes correspondientes a un Poder otorgado por **PFIZER PRODUCTS, INC.**, a **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Ana María Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro**, documento este que viene en español, se explica por sí solo y fue firmado por **Grover F. Fuller, Jr.** el 17 de noviembre de 2005 en Nueva York, Estados Unidos de América.

También en inglés y en español viene Certificación Notarial mediante la cual se confirma el nombre y cargo de **Grover F. Fuller, Jr.**, así como la existencia legal de la compañía. Dicha certificación notarial está firmada por **Susan Z. Killian**, Notario Público de Nueva York, cuyo cargo expira el 4 de octubre de 2008, según consta en su correspondiente sello notarial.

Suscrito y jurado ante mi el 17 de noviembre de 2005.

(Fdo.) Susan Z. Killian



SERGIO ANDRÉS RUEDA IGLESIAS
C. C. 22.2
TRADUCTOR E INTÉRPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS / INGLÉS - ESPAÑOL
RESOLUCIÓN No. 0138 de 2002 del 11 de febrero de 2002
MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEL DERECHO

6

ESTADO DE NUEVA YORK - CONDADO DE NUEVA YORK No. 467518

El suscrito, Norman Goodman, Escribano del Condado y del Tribunal Supremo del Estado de Nueva York, tribunal éste provisto de sello por ley, por medio de este documento certifico conforme a la ley ejecutiva del Estado de Nueva York que Susan Z. Killian, cuyo nombre aparece suscrito en la declaración jurada o certificado de reconocimiento anexo, desempeñaba en el momento de tomar el mismo, las funciones de Notario Público, en y para el Estado de Nueva York, estando debidamente comisionado bajo juramento y habilitado como tal; que conforme a la ley en mi despacho obra un certificado de su nombramiento con su firma autógrafa; que conozco bien la letra manuscrita de dicho Notario Público o he comparado la firma que aparece en el instrumento anexo con la que reposa en los archivos de mi oficina, y creo en conciencia que la misma es auténtica.

EN FE DE LO CUAL, firmo de mi puño y letra y estampo mi sello oficial, el día 22 de noviembre de 2005.

(Fdo.) Norman Goodman, Escribano del Condado y del Tribunal Supremo del Estado de Nueva York.

SERGIO ANDRES REEDA REEDAS
C. C. S. 11773
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLES / INGLES - ESPAÑOL
RESOLUCION No. 0128 DE FEBRERO 11 2002
MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEL DERECHO

X

APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de octubre de 1961)

1. País: Estados Unidos de América
El presente documento público
2. Fue firmado por: Norman Goodman
3. Que actuó en su calidad de: Escribano del Condado
4. Lleva el sello del Condado de Nueva York
Se certificó:
5. En Nueva York, Nueva York
6. El 22 de noviembre de 2005
7. Por parte del Secretario de Estado, (Encargado) del
Estado de Nueva York
8. Bajo el Número **NYC-10404952A**
9. Aparece Sello del Estado de Nueva York
10. Firmado por: James Bizzarri, Secretario de Estado
Especial Encargado

Es traducción fiel y completa efectuada por:


Sergio Andrés Rueda Iglesias
c.c. 80.424.773 de Bogotá

SERGIO ANDRÉS RUEDA IGLESIAS
C.C. 80.424.773
TRADUCTOR E INTERPRETE OFICIAL
ESPAÑOL - INGLÉS / INGLÉS - ESPAÑOL
REGISTRO Nº. 0138 DE FEBRERO 11, 2002
MINISTERIO DE JUSTICIA Y DEL DERECHO

Apostille

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

6

1. Country: **United States of America**

This public document

2. has been signed by **Norman Goodman**

3. acting in the capacity of **County Clerk**

4. bears the seal/stamp of the county of **New York**

Certified

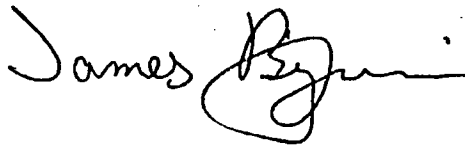
5. At New York, New York 6. the 22nd day of November 2005

7. by Special Deputy Secretary of State, State of New York

8. No. NYC-10404952A

9. Seal/Stamp

10. Signature



James Bizzarri
Special Deputy Secretary of State

OLARTE RAISBECK

OLARTE RAISBECK & FRIERI LTDA.

COLOMBIA

Carlos R. Olarte
J. Ian Raisbeck
Ana María Frieri
Juan Guillermo Moure
Natalia Castro
Zayde Chahin
Zaava Ravid
Jacqueline Chaparro
Jose Luis Londoño
Camilo Alvarez
Felipe Mendoza
Camilo Rodríguez
Santiago Pardo

Of Counsel
Guillermo Chahín
Graciela Melo

Power of Attorney

Poder

The undersigned,

El suscrito,

PFIZER PRODUCTS INC.,

domiciled in

domiciliado en

Eastern Point Road, Groton, State of Connecticut 06340, United States of America

by means of these presents hereby grants to **Carlos R. Olarte and/or J. Ian Raisbeck and/or Ana María Frieri and/or Juan Guillermo Moure and/or Natalia Castro** full and sufficient Power of Attorney to file, prosecute, obtain, defend and enforce any and all of the company's Patents for Inventions, Utility Models, Layout-Designs (topographies) of Integrated Circuits, Industrial Designs, Trademarks, Advertising Slogans, Trade Names, Commercial Emblems, Geographical Indications, Protection of Trade Secrets, Obtainer's Certificates, Copyrights, Registration of Domain Names, Health Registrations, or any other intellectual property right in the Republic of Colombia, to which end it empowers them to take all steps necessary before any administrative or judicial authority of any class for the objects stated, to file petitions, recourses, replies and oppositions, pay taxes and annuities, request testimonies, receive documents and securities, abandon applications and collect refunds. Sufficient power is hereby granted to receive notifications on behalf of the Company, to confer powers on those who are to represent the company judicially and extrajudicially, to answer in court in the matter of all claims and demands that may be presented in connection with the objects stated, giving them likewise power to substitute these presents and revoke such substitutions.

por medio del presente otorga a **Carlos R. Olarte y/o J. Ian Raisbeck y/o Ana María Frieri y/o Juan Guillermo Moure y/o Natalia Castro** poder especial, amplio y suficiente para presentar, tramitar, obtener, defender y hacer respetar todas y cualquiera de las Patentes de Invención, Modelos de Utilidad, Esquemas de Trazados de Circuitos Integrados, Diseños Industriales, Marcas, Lemas Comerciales, Nombres Comerciales, Enseñas Comerciales, Denominaciones de Origen, Protección de Secretos Empresariales, Certificados de Obtentor, Derechos de Autor, Registro de Nombres de Dominio, Registros Sanitarios, o cualquier otro bien de propiedad intelectual de la compañía en la República de Colombia, a cuyo efecto los faculta para dar todos los pasos necesarios ante cualquier autoridad administrativa o judicial de cualquier jerarquía para cumplir con lo encomendado, elevar solicitudes, recursos, respuestas y oposiciones, pagar impuestos y anualidades, solicitar testimonios, recibir documentos y valores, desistir y percibir. Se concede poder bastante para recibir notificaciones a nombre de la compañía, otorgar poderes a quienes vayan a representar a la compañía judicial y extrajudicialmente, responder en juicio a todas las reclamaciones o demandas que por motivo de lo encomendado se presentaren, dándoles asimismo facultad para sustituir el presente y revocar dichas sustituciones.

Signature/Firma:

PFIZER PRODUCTS INC.,

By:

Grover F. Fuller, Jr.

Vice President, Attorney-In- Fact

Date/Fecha:

17 November 2005

City, Country/Ciudad, País: New York, NY USA

Notarial Certification

Certificación Notarial

On this date,

En esta fecha,

The undersigned Notary Public certifies:

el Notario Público suscrito certifica:

1. That

1. Que

of legal age and domiciled in

Grover F. Fuller, Jr.

mayor de edad y domiciliado

Street 150 East 42nd Street
City New York
State New York 10017-5612 USA

signed the foregoing document.

suscribió el documento que antecede.

2. That the grantor has executed the foregoing document as Vice President, Attorney-In-Fact of **PFIZER PRODUCTS INC.**

2. Que el otorgante ha suscrito el referido documento en su carácter de de

3. That **PFIZER PRODUCTS INC.**, having its principal place of business located in Groton, State of Connecticut 06340, United States of America is duly incorporated, is currently in existence, and that the purposes for which the Power of Attorney is granted are within the scope of its corporate purposes.

4. Que con sede principal ubicada en

4. That the grantor has the authority to execute the Power of Attorney and that his/her representation is legal.

está legalmente constituida, que tiene existencia legal vigente y que los propósitos para los cuales se otorga el poder se encuentra dentro de los que comprenden su objeto social.

4. Que el otorgante tiene la representación para suscribir el poder, y que ésta es legítima.

NOTARY PUBLIC (Signature):

Susan Z. Killian



SUSAN Z. KILLIAN
Notary Public, State of New York
No. 01K16116521
Qualified in New York County
Commission Expires October 4, 2008

State of New York
County of New York
SWORN to and SUBSCRIBED before me
this 11th day of Nov. 2005
Susan Z. Killian

(19) World Intellectual Property Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
7 August 2008 (07.08.2008)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2008/093236 A1

(51) International Patent Classification:

C07D 213/75 (2006.01) A61P 19/02 (2006.01)
A61K 31/44 (2006.01) A61P 25/28 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01) A61P 29/00 (2006.01)
A61P 11/06 (2006.01)

Missouri 63017 (US). OLSON, Lisa [US/US]; 4 Circle Drive, Hopkinton, Massachusetts 01748 (US). RUCKER, Paul, Vincent [US/US]; 2390 Rising Glen Way, Apt. 101, Carlsbad, California 92008 (US). WEBBER, Ronald, Keith [US/US]; Pfizer Global Research and Development, 700 Chesterfield Parkway West, Chesterfield, Missouri 63017 (US).

(21) International Application Number:

PCT/IB2008/000249

(22) International Filing Date: 28 January 2008 (28.01.2008)

(74) Agents: FULLER, Grover F. Jr. et al.; Pfizer Inc., 150 East 42nd Street, New York, New York 10017 (US).

(25) Filing Language:

English

(26) Publication Language:

English

(30) Priority Data:

60/887,981 2 February 2007 (02.02.2007) US

(71) Applicant (for all designated States except US): PFIZER PRODUCTS INC. [US/US]; Eastern Point Road, Groton, Connecticut 06340 (US).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): CHENG, Heng-miao [CA/US]; Agouron Pharmaceuticals, Inc., A Pfizer Company, 10777 Science Center Drive, San Diego, California 92121 (US). HU, Xiao [CN/US]; Pfizer Global Research and Development, 700 Chesterfield Parkway West, Chesterfield, Missouri 63017 (US). JEROME, Kevin, DeWayne [US/US]; Pfizer Global Research and Development, 700 Chesterfield Parkway West, Chesterfield, Missouri 63017 (US). OBUKOWICZ, Mark, Gerard [US/US]; Pfizer Global Research and Development, 700 Chesterfield Parkway West, Chesterfield,

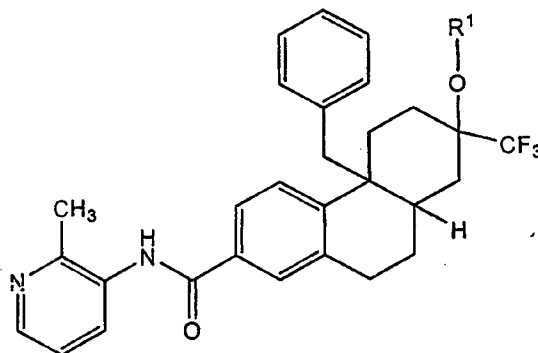
(81) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of national protection available): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Designated States (unless otherwise indicated, for every kind of regional protection available): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), Eurasian (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), European (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

— with international search report

(54) Title: TRICYCLIC COMPOUNDS AND THEIR USE AS GLUCOCORTICOID RECEPTOR MODULATORS



(I)

(57) Abstract: The present invention is directed to compounds of Formula I: (I) or salt thereof, which are modulators of the glucocorticoid receptor. The compounds and salts of the invention are useful in the treatment of conditions mediated by glucocorticoid receptor activity.

TRICYCLIC COMPOUNDS AND THEIR USE AS GLUCOCORTICOID RECEPTOR MODULATORS

FIELD OF THE INVENTION

The present invention includes compounds that are glucocorticoid receptor modulators. The present invention also includes compositions and methods of using compounds and compositions.

BACKGROUND OF THE INVENTION

Glucocorticoid receptor modulators are glucocorticoid receptor ligands that are used to treat a variety of conditions because of their powerful anti-inflammatory, antiproliferative and immunomodulatory activity. J. Miner, *et al.*, Expert Opin. Investig. Drugs (2005) 14(12):1527-1545.

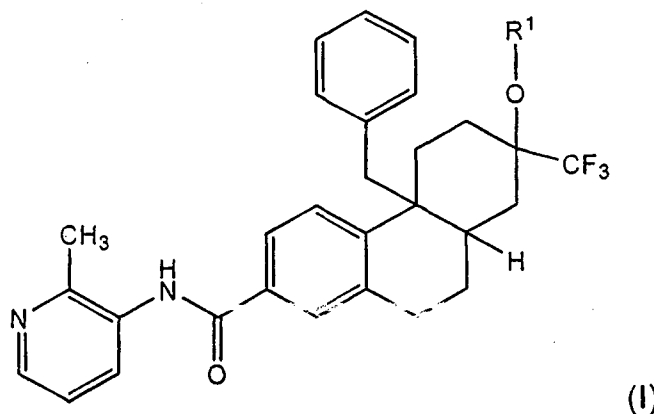
Examples of glucocorticoid receptor modulators include dexamethasone, prednisone, prednisolone, RU-486, and as described in WO 2000/66522 and WO 2004/005229.

Treatment with glucocorticoid receptor modulators is often associated with side effects, such as bone loss and osteoporosis.

Identifying a glucocorticoid receptor modulator that is efficacious, potent, and has mitigated side-effects fulfills a medical need.

SUMMARY OF THE INVENTION

In one embodiment, the invention relates to a compound of Formula I:



wherein R¹ is -H or -P(O)(OH)₂; or salt thereof.

In another embodiment, the invention relates to compositions comprising a compound of Formula I and a carrier. In another embodiment, the invention relates to a method of contacting a glucocorticoid receptor with a compound of Formula I. An

3

additional embodiment includes methods of treating a condition in a subject mediated by glucocorticoid receptor activity by administering to the subject a compound of Formula I.

DETAILED DESCRIPTION

5 This detailed description of embodiments is intended only to acquaint others skilled in the art with the inventions, the principles, and the practical applications so that others skilled in the art may adapt and apply the inventions in their numerous forms; as they may be best suited to the requirements of a particular use. These inventions, therefore, are not limited to the embodiments described in this specification, and may be modified.

A. Definitions

For the following defined terms, these definitions shall be applied, unless a different definition is given in the claims or elsewhere in this specification.

15 The term "carrier" describes an ingredient other than a compound. Carriers may be pharmaceutically acceptable material or vehicle. Examples include liquid or solid filler, diluent, excipient, solvent or encapsulating material.

The phrase "contacting a glucocorticoid receptor" means *in vivo*, *ex vivo*, or *in vitro* contact is made with a glucocorticoid receptor and includes administration of a compound or salt of the present invention to a subject having a glucocorticoid receptor, as well as, for example, introducing a compound or salt of the invention into a sample containing a cellular, unpurified, or purified preparation containing the glucocorticoid receptor. For example, contacting includes interactions between the compound and the receptor, such as binding.

25 The phrase "inflammation related condition" includes arthritis, fibromyalgia, ankylosing spondylitis, psoriasis, systemic lupus erythematosus, gout, undifferentiated spondyloarthropathy, juvenile-onset spondyloarthritis, Crohn's disease, ulcerative colitis, irritable bowel syndrome, inflammatory bowel disease and pain associated with the aforementioned conditions. Specific examples of arthritis include rheumatoid arthritis, 30 osteoarthritis, reactive arthritis, infectious arthritis, psoriatic arthritis, polyarthritis, juvenile arthritis, juvenile rheumatoid arthritis, juvenile reactive arthritis, and juvenile psoriatic arthritis.

The term "modulation" or "modulators" includes antagonist, agonist, partial antagonists, and partial agonists.

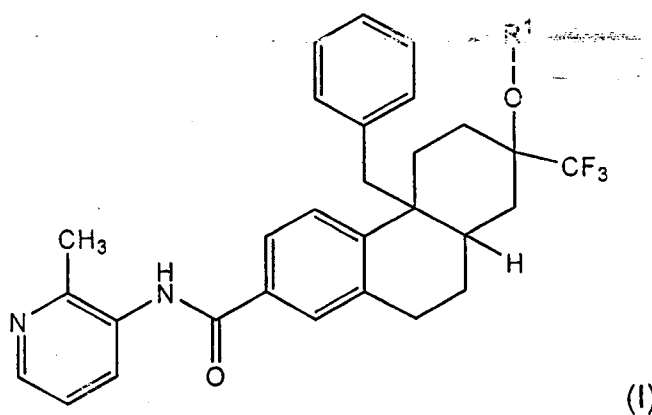
The term "subject" refers to any animal, including mammals, such as mice, rats, other rodents, rabbits, dogs, cats, pigs, cattle, sheep, horses, primates, or humans.

5 The term "treating" (and corresponding terms "treat" and "treatment") includes palliative, restorative, and preventative ("prophylactic") treating of a subject. The term "palliative treating" refers to treatment that eases or reduces the effect or intensity of a condition in a subject without curing the condition. The term "preventative treating" (and the corresponding term "prophylactic treating") refers to treatment that prevents the
10 occurrence of a condition in a subject. The term "restorative treating" ("curative") refers to treatment that halts the progression of, reduces the pathologic manifestations of, or entirely eliminates a condition in a subject. Treating can be done with a therapeutically effective amount of compound, salt or composition that elicits the biological or medicinal response of a tissue, system or subject that is being sought by an individual such as a
15 researcher, doctor, veterinarian, or clinician.

B. Compounds

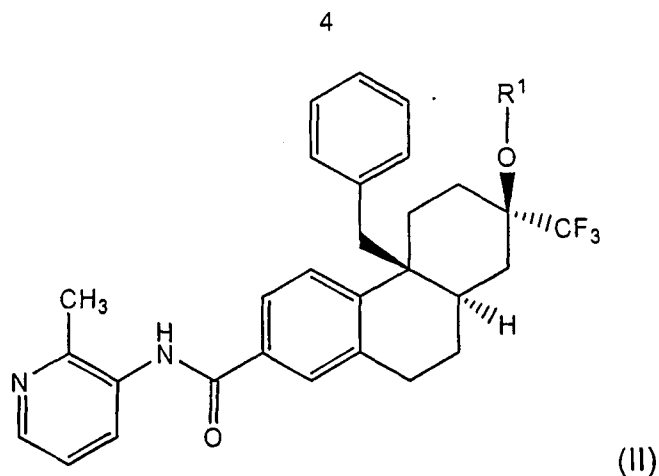
The present invention comprises, in part, tricyclic compounds of Formula I. These compounds are useful as glucocorticoid receptor modulators.

20 The present invention includes a compound of Formula I:



wherein R^1 is -H or $-P(O)(OH)_2$; or salt thereof.

The present invention includes a compound of Formula II:



wherein R^1 is $-H$ or $-P(O)(OH)_2$; or salt thereof.

The present invention includes compounds of Formula I or II wherein R^1 is $-H$, or salt thereof.

The present invention includes compounds of Formula I or II wherein R^1 is $-P(O)(OH)_2$, or salt thereof.

The present invention includes (4β*S*,7*R*,8α*R*)-4β-benzyl-7-hydroxy-*N*-(2-methylpyridin-3-yl)-7-(trifluoromethyl)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxamide or salt thereof; and (2*R*,4α*S*,10α*R*)-4α-benzyl-7-((2-methylpyridin-3-yl)carbamoyl)-2-(trifluoromethyl)-1,2,3,4,4α,9,10,10α-octahydrophenanthren-2-yl dihydrogen phosphate or salt thereof.

Salts of compounds of the present invention include the acid addition and base salts (including disalts) thereof. In one embodiment, the present invention includes a hydrochloride salt of the compound of Formula I. In another embodiment, the present invention includes a calcium salt of the compound of Formula I. In another embodiment, the present invention includes a sodium salt of the compound of Formula I.

Suitable acid addition salts are formed from acids which form non-toxic salts. Examples include the acetate, aspartate, benzoate, besylate, bicarbonate/carbonate, bisulphate/sulphate, borate, camsylate, citrate, edisylate, esylate, formate, fumarate, gluceptate, gluconate, glucuronate, hexafluorophosphate, hibenzate, hydrochloride/chloride, hydrobromide/bromide, hydroiodide/iodide, isethionate, lactate, malate, maleate, malonate, mesylate, methylsulphate, naphthylate, 2-napsylate, nicotinate, nitrate, orotate, oxalate, palmitate, pamoate, phosphate/hydrogen phosphate/dihydrogen phosphate, saccharate, stearate, succinate, tartrate, tosylate and trifluoroacetate salts.

16

Suitable base salts are formed from bases which form non-toxic salts. Examples include the aluminium, arginine, benzathine, calcium, choline, diethylamine, diolamine, glycine, lysine, magnesium, meglumine, olamine, potassium, sodium, tromethamine and zinc salts.

5 For a review on suitable salts, see "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" by Stahl and Wermuth (Wiley-VCH, Weinheim, Germany, 2002).

A salt may be readily prepared by mixing together solutions of compounds of the present invention and the desired acid or base, as appropriate. The salt may precipitate from solution and be collected by filtration or may be recovered by evaporation of the solvent. The degree of ionization in the salt may vary from completely ionized to almost non-ionized.

● The compounds of the present invention may be administered as prodrugs. Thus, certain derivatives which may have little or no pharmacological activity
15 themselves can, when administered into or onto the body, be converted into compounds of the present invention having the desired activity, for example, by hydrolytic cleavage. Such derivatives are referred to as 'prodrugs'. Further information on the use of prodrugs may be found in 'Pro-drugs as Novel Delivery Systems, Vol. 14, ACS Symposium Series (T Higuchi and W Stella) and 'Bioreversible Carriers in Drug Design',
20 Pergamon Press, 1987 (ed. E B Roche, American Pharmaceutical Association).

● Prodrugs can, for example, be produced by replacing appropriate functionalities present in the compounds of the present invention with certain moieties known to those skilled in the art as 'pro-moieties' as described, for example, in "Design of Prodrugs" by
H Bundgaard (Elsevier, 1985).

25 Some examples of such prodrugs include:

(i) where the compound contains an alcohol functionality (-OH), an ether thereof, for example, replacement of the hydrogen with (C₁-C₆)alkanoyloxymethyl; and

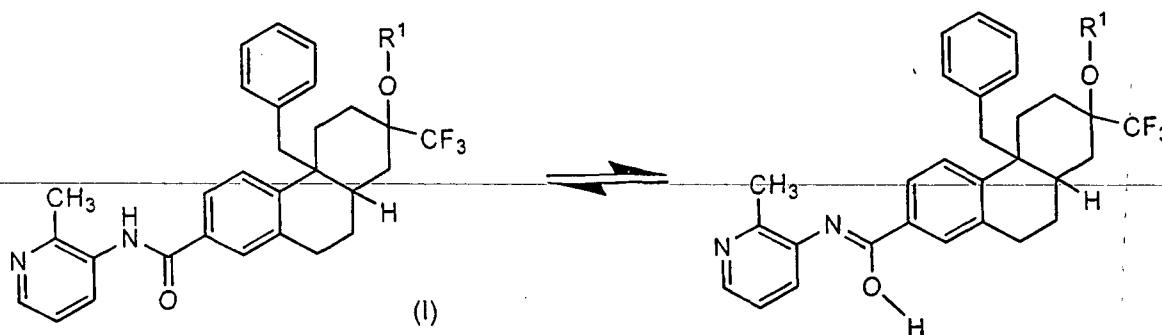
(ii) where the compound contains a secondary amino functionality, an amide thereof, for example, replacement of hydrogen with (C₁-C₁₀)alkanoyl.

30 Finally, certain compounds of the present invention may themselves act as prodrugs of other compounds of the present invention. For example, certain compounds of Formula I or II could be viewed as a prodrug of other compounds encompassed by Formula I or II.

17

All isomers, such as stereoisomers, geometric (*cis/trans* or *Z/E*) isomers and tautomeric forms of the compounds or salts are included in the scope of the present invention, including compounds or salts having more than one type of isomerism, and mixtures of one or more thereof. For example, the following depicts a compound of

5 Formula I and a tautomer.



Also included are acid addition or base salts wherein the counterion is optically active, for example, D-lactate or L-lysine, or racemic, for example, DL-tartrate or DL-arginine.

10 Isomers may be separated by conventional techniques well known to those skilled in the art.

The present invention includes isotopically-labelled compounds of the invention wherein one or more atoms are replaced by atoms having the same atomic number, but an atomic mass or mass number different from the atomic mass or mass number usually found in nature.

Isotopically-labeled compounds of the invention can generally be prepared by conventional techniques known to those skilled in the art or by processes analogous to those described in the accompanying Examples and Preparations using an appropriate isotopically-labelled reagent in place of the non-labeled reagent previously employed.

20 For the treatment of the conditions referred to below, the compounds of the present invention can be administered. Salts of the compounds of the present invention could also be used.

C. Compositions

25 Compounds or salts of the present invention could be part of a composition. Compositions can also include one or more compounds or salts of the present invention. The composition can also include an enantiomeric excess of one or more compounds of

the present invention. Other pharmacologically active substances and carriers can be included in the composition.

One embodiment is a composition comprising a compound of Formula I or a salt thereof. Another embodiment is a composition comprising a compound of Formula I or
5 a salt thereof and a carrier.

For example, the carrier can be an excipient. The choice of excipient will to a large extent depend on factors such as the particular mode of administration, the effect of the excipient on solubility and stability, and the nature of the dosage form.

The composition can be a solid, a liquid, or both, and may be formulated with the compound as a unit-dose composition, for example, a tablet, which can contain from 0.05% to 95% by weight of the active compounds. Compounds or salts of the present invention may be coupled with suitable polymers as targetable drug carriers.

D. Methods

15 The present invention includes a method of contacting a glucocorticoid receptor with a compound or salt of the present invention.

The present invention also includes a method of treating a condition mediated by glucocorticoid receptor activity in a subject comprising administering to the subject a compound or salt of the present invention.

20 A condition mediated by glucocorticoid receptor activity includes:

a) endocrine disorders, such as primary or secondary adrenocortical insufficiency, congenital adrenal hyperplasia, nonsuppurative thyroiditis, and hypercalcemia associated with cancer;

25 b) rheumatic disorders, such as psoriatic arthritis, rheumatoid arthritis, including juvenile rheumatoid arthritis, ankylosing spondylitis, acute and subacute bursitis, acute nonspecific tenosynovitis, acute gouty arthritis, post-traumatic osteoarthritis, synovitis of osteoarthritis, and epicondylitis;

c) collagen diseases, such as systemic lupus erythematosus, and acute rheumatic carditis;

30 d) dermatologic conditions, such as pemphigus, bullous dermatitis herpetiformis, severe erythema multiforme (Stevens-Johnson syndrome), exfoliative dermatitis, mycosis fungoides, psoriasis, and seborrheic dermatitis;

19

e) allergic states, such as seasonal or perennial allergies, allergic rhinitis, bronchial asthma, contact dermatitis, atopic dermatitis, serum sickness, and drug hypersensitivity reactions;

5 f) ophthalmic diseases and conditions, such as allergic corneal marginal ulcers, herpes zoster ophthalmicus, anterior segment inflammation, diffuse posterior uveitis and choroiditis, chronic uveitis, sympathetic ophthalmia, allergic conjunctivitis, keratitis, chorioretinitis, optic neuritis, iritis and iridocyclitis;

g) respiratory diseases, such as symptomatic sarcoidosis, Loeffler's syndrome, berylliosis, fulminating or disseminated pulmonary tuberculosis, and aspiration
pneumonitis;

h) hematologic disorders, such as idiopathic thrombocytopenic purpura, secondary thrombocytopenia, acquired (autoimmune) hemolytic anemia, erythroblastopenia (RBC anemia), and congenital (erythroid) hypoplastic anemia;

i) neoplastic diseases, such as leukemia and lymphoma;

15 j) edematous states, such as inducing diuresis or emission of proteinuria in the nephrotic syndrome, without uremia, of the idiopathic type or that due to lupus erythematosus;

k) gastrointestinal diseases, such as ulcerative colitis, regional enteritis, inflammatory bowel disease, Crohn's disease, gastritis, irritable bowel syndrome;

20 l) miscellaneous conditions, such as tuberculous meningitis and trichinosis; and

m) neurological conditions, such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease, amyotrophic lateral sclerosis, spinal cord injury, psychotic major depression, and peripheral neuropathy.

25 A condition mediated by glucocorticoid receptor activity also includes transplant rejection (e.g., kidney, liver, heart, lung, pancreas (e.g., islet cells), bone marrow, cornea, small bowel, skin allografts, skin homografts (such as employed in burn treatment), heart valve xenografts, serum sickness, and graft vs. host disease, autoimmune diseases, such as rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, multiple sclerosis, Type I and Type II diabetes, juvenile diabetes, obesity, asthma, inflammatory bowel
30 disease (such as Crohn's disease and ulcerative colitis), pyoderma gangrenum, lupus (systemic lupus erythematosus), myasthenia gravis, psoriasis, dermatitis, dermatomyositis; eczema, seborrhoea, pulmonary inflammation, eye uveitis, hepatitis, Grave's disease, Hashimoto's thyroiditis, autoimmune thyroiditis, Behcet's or Sjogren's

syndrome (dry eyes/mouth), pernicious or immunohaemolytic anaemia, atherosclerosis, Addison's disease (autoimmune disease of the adrenal glands), idiopathic adrenal insufficiency, autoimmune polyglandular disease (also known as autoimmune polyglandular syndrome), glomerulonephritis, scleroderma, morphea, lichen planus, viteligo (depigmentation of the skin), alopecia areata, autoimmune alopecia, autoimmune hypopituitarism, Guillain-Barre syndrome, and alveolitis; T-cell mediated hypersensitivity diseases, including contact hypersensitivity, delayed-type hypersensitivity, contact dermatitis (including that due to poison ivy), urticaria, skin allergies, respiratory allergies (hayfever, allergic rhinitis) and gluten-sensitive enteropathy (Celiac disease); inflammatory diseases such as osteoarthritis, acute pancreatitis, chronic pancreatitis, acute respiratory distress syndrome, Sezary's syndrome and vascular diseases which have an inflammatory and or a proliferatory component such as restenosis, stenosis and arteriosclerosis.

A condition mediated by glucocorticoid receptor activity also includes:

a) asthma of whatever type, etiology, or pathogenesis, in particular asthma that is a member selected from the group consisting of atopic asthma, non-atopic asthma, allergic asthma, atopic bronchial IgE-mediated asthma, bronchial asthma, essential asthma, true asthma, intrinsic asthma caused by pathophysiologic disturbances, extrinsic asthma caused by environmental factors, essential asthma of unknown or inapparent cause, non-atopic asthma, bronchitic asthma, emphysematous asthma, exercise-induced asthma, allergen-induced asthma, cold air induced asthma, occupational asthma, infective asthma caused by bacterial, fungal, protozoal, or viral infection, non-allergic asthma, incipient asthma, wheezy infant syndrome and bronchiolitis;

b) chronic or acute bronchoconstriction, chronic bronchitis, small airways obstruction, and emphysema;

c) obstructive or inflammatory airways diseases of whatever type, etiology, or pathogenesis, in particular an obstructive or inflammatory airways disease that is a member selected from the group consisting of chronic eosinophilic pneumonia, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), COPD that includes chronic bronchitis, pulmonary emphysema or dyspnea associated or not associated with COPD, COPD that is characterized by irreversible, progressive airways obstruction, adult respiratory

distress syndrome (ARDS), exacerbation of airways hyper-reactivity consequent to other drug therapy and airways disease that is associated with pulmonary hypertension;

d) bronchitis of whatever type, etiology, or pathogenesis, in particular bronchitis that is a member selected from the group consisting of acute bronchitis, acute laryngotracheal bronchitis, arachidic bronchitis, catarrhal bronchitis, croupus bronchitis, dry bronchitis, infectious asthmatic bronchitis, productive bronchitis, staphylococcus or streptococcal bronchitis and vesicular bronchitis, acute lung injury; and

e) bronchiectasis of whatever type, etiology, or pathogenesis, in particular bronchiectasis that is a member selected from the group consisting of cylindric bronchiectasis, sacculated bronchiectasis, fusiform bronchiectasis, capillary bronchiectasis, cystic bronchiectasis, dry bronchiectasis and follicular bronchiectasis.

Another embodiment includes a use of a compound or salt of the present invention for use in treating obstructive or inflammatory airways diseases of whatever type, etiology, or pathogenesis, in particular an obstructive or inflammatory airways disease that is a member selected from the group consisting of chronic eosinophilic pneumonia, chronic obstructive pulmonary disease (COPD), COPD that includes chronic bronchitis, pulmonary emphysema or dyspnea associated or not associated with COPD, COPD that is characterized by irreversible, progressive airways obstruction, adult respiratory distress syndrome (ARDS), exacerbation of airways hyper-reactivity consequent to other drug therapy and airways disease that is associated with pulmonary hypertension, or asthma of whatever type, etiology, or pathogenesis, in particular asthma that is a member selected from the group consisting of atopic asthma, non-atopic asthma, allergic asthma, atopic bronchial IgE-mediated asthma, bronchial asthma, essential asthma, true asthma, intrinsic asthma caused by pathophysiologic disturbances, extrinsic asthma caused by environmental factors, essential asthma of unknown or inapparent cause, non-atopic asthma, bronchitic asthma, emphysematous asthma, exercise-induced asthma, allergen induced asthma, cold air induced asthma, occupational asthma, infective asthma caused by bacterial, fungal, protozoal, or viral infection, non-allergic asthma, incipient asthma, wheezy infant syndrome and bronchiolitis.

The present invention includes a method of treating an inflammation related condition in a subject comprising administering to the subject a compound or salt of the present invention.

The present invention includes a method of treating conditions such as asthma, dermatitis, inflammatory bowel disease, Alzheimer's disease, psychotic major depression, neuropathy, transplant rejection, multiple sclerosis, chronic uveitis, or chronic obstructive pulmonary disease in a subject comprising administering to the subject a compound or salt of the present invention.

The present invention includes a method of treating rheumatoid arthritis in a subject comprising administering to the subject a compound or salt of the present invention.

Rheumatoid arthritis is considered a chronic autoimmune and inflammatory disease producing inflamed joints, which eventually swell, become painful, and experience degradation of cartilage, bone, and ligaments of the joint. A result of rheumatoid arthritis is deformity, instability, and stiffness of the joint and scarring within the joint. The joints deteriorate at a highly variable rate. Many factors, including genetic predisposition, may influence the pattern of the disease. People with rheumatoid arthritis may have a mild course, occasional flare-ups with long periods of remission without disease, or a steadily progressive disease, which may be slow or rapid. Rheumatoid arthritis may start suddenly, with many joints becoming inflamed at the same time. More often, it starts subtly, gradually affecting different joints. Usually, the inflammation is symmetric, with joints on both sides of the body affected. Typically, the small joints in the fingers, toes, hands, feet, wrists, elbows, and ankles become inflamed first, followed by the knees and hips.

Pain associated with rheumatoid arthritis is typically somatic nociceptive joint pain. Swollen wrists can pinch a nerve and result in numbness or tingling due to carpal tunnel syndrome. Cysts may develop behind affected knees, can rupture, causing pain and swelling in the lower legs.

The present invention includes a method of treating dermatitis in a subject comprising administering to the subject a compound or salt of the present invention.

The present invention includes a method of treating chronic obstructive pulmonary disease in a subject comprising administering to the subject a compound or salt of the present invention.

The present invention includes a method of treating asthma in a subject comprising administering to the subject a compound or salt of the present invention.

The present invention includes a method of treating Alzheimer's disease in a subject comprising administering to the subject a compound or salt of the present invention.

The present invention includes a method of mitigating side effects associated with glucocorticoid receptor modulation, comprising administering a compound of Formula I to a subject.

The present invention includes a method of mitigating side effects associated with prednisolone treatment, comprising administering a compound of Formula I to a subject.

The present invention further comprises methods of treating the aforementioned conditions, diseases, and disorders in a subject or a subject susceptible to having such a condition, by administering to the subject one or more compounds or salts of the present invention.

In one embodiment, the aforementioned treatment is preventative treatment.

In another embodiment, the aforementioned treatment is palliative treatment.

In another embodiment, the aforementioned treatment is restorative treatment.

E. Dosage and Administration

To select the most appropriate dosage form and route of administration for treatment of the proposed indication, the compounds or salts of the invention can be assessed for their biopharmaceutical properties, such as solubility and solution stability (across pH), and permeability.

Doses for compounds or salts of the invention range from 0.1 mg to 100 mg for oral administration and doses range from 2 mg or less for inhaled administration. The dose may be administered in single or divided doses and may fall outside of the typical range given herein.

The dosages are based on an average human subject having a weight of about 60 kg to 70 kg. Dosing and dosing regimen depend upon subject and a variety of conditions that may affect dosing (age, sex, body weight, etc.). The physician will readily be able to determine doses for subjects whose weight falls outside this range, such as infants and the elderly.

Oral Administration

The compounds of the invention and salts thereof may be administered orally. Oral administration may involve swallowing, so that the compound or salt enters the gastrointestinal tract, and/or buccal, lingual, or sublingual administration by which the compound or salt enters the blood stream directly from the mouth.

Formulations suitable for oral administration include solid, semi-solid and liquid systems such as tablets; soft or hard capsules containing multi- or nano-particulates, liquids, or powders; lozenges (including liquid-filled); chews; gels; fast dispersing dosage forms; films; ovules; sprays; and buccal/mucoadhesive patches. Further, the compound or salts of the invention can be administered as a spray dried dispersion.

Liquid formulations include suspensions, solutions, syrups and elixirs. Such formulations may be employed as fillers in soft or hard capsules (made, for example, from gelatin or hydroxypropylmethylcellulose) and typically comprise a carrier, for example, water, ethanol, polyethylene glycol, propylene glycol, methylcellulose, or a suitable oil, and one or more emulsifying agents and/or suspending agents. Liquid formulations may also be prepared by the reconstitution of a solid, for example, from a sachet.

The compounds of the invention and salts thereof may also be used in fast-dissolving, fast-disintegrating dosage forms such as those described in Expert Opinion in Therapeutic Patents, 11 (6), 981-986, by Liang and Chen (2001).

For tablet dosage forms, depending on dose, the drug may make up from 1 weight % to 80 weight % of the dosage form, more typically from 5 weight % to 60 weight % of the dosage form. In addition to the drug, tablets generally contain a disintegrant. Examples of disintegrants include sodium starch glycolate, sodium carboxymethyl cellulose, calcium carboxymethyl cellulose, croscarmellose sodium, crospovidone, polyvinylpyrrolidone, methyl cellulose, microcrystalline cellulose, lower alkyl-substituted hydroxypropyl cellulose, starch, pregelatinised starch and sodium alginate. Generally, the disintegrant will comprise from 1 weight % to 25 weight %, preferably from 5 weight % to 20 weight % of the dosage form.

Binders are generally used to impart cohesive qualities to a tablet formulation. Suitable binders include microcrystalline cellulose, gelatin, sugars, polyethylene glycol, natural and synthetic gums, polyvinylpyrrolidone, pregelatinised starch, hydroxypropyl cellulose

and hydroxypropyl methylcellulose. Tablets may also contain diluents, such as lactose (monohydrate, spray-dried monohydrate, anhydrous and the like), mannitol, xylitol, dextrose, sucrose, sorbitol, microcrystalline cellulose, starch and dibasic calcium phosphate dihydrate.

5 Tablets may also optionally comprise surface active agents, such as sodium lauryl sulfate and polysorbate 80, and glidants such as silicon dioxide and talc. When present, surface active agents may comprise from 0.2 weight % to 5 weight % of the tablet, and glidants may comprise from 0.2 weight % to 1 weight % of the tablet.

Tablets also generally contain lubricants such as magnesium stearate, calcium stearate, zinc stearate, sodium stearyl fumarate, and mixtures of magnesium stearate with sodium lauryl sulphate. Lubricants generally comprise from 0.25 weight % to 10 weight %, preferably from 0.5 weight % to 3 weight % of the tablet.

Other possible ingredients include anti-oxidants, colourants, flavouring agents, preservatives and taste-masking agents.

15 Exemplary tablets contain up to about 80% drug, from about 10 weight % to about 90 weight % binder, from about 0 weight % to about 85 weight % diluent, from about 2 weight % to about 10 weight % disintegrant, and from about 0.25 weight % to about 10 weight % lubricant.

20 Solid formulations for oral administration may be formulated to be immediate and/or modified release. Modified release formulations include delayed-, sustained-, pulsed-, controlled-, targeted and programmed release.

25 Suitable modified release formulations for the purposes of the invention are described in US Patent No. 6,106,864. Details of other suitable release technologies such as high energy dispersions and osmotic and coated particles are to be found in Pharmaceutical Technology On-line, 25(2), 1-14, by Verma et al (2001).

Dose ranges for oral administration also include from 0.1 mg to 80 mg, 15 mg to 80 mg, 0.1 mg to 25 mg.

Parenteral Administration

30 The compounds or salts of the invention may also be administered directly into the blood stream, into muscle, or into an internal organ. Example 2 could be administered into the blood stream. Suitable means for parenteral administration include intravenous, intraarterial, intraperitoneal, intrathecal, intraventricular,



intraurethral, intrasternal, intracranial, intramuscular, intrasynovial and subcutaneous. Suitable devices for parenteral administration include needle (including microneedle) injectors, needle-free injectors and infusion techniques.

Parenteral formulations are typically aqueous solutions which may contain excipients such as salts, carbohydrates and buffering agents (preferably to a pH of from 3 to 9), but, for some applications, they may be more suitably formulated as a sterile non-aqueous solution or as a dried form to be used in conjunction with a suitable vehicle such as sterile, pyrogen-free water.

The preparation of parenteral formulations under sterile conditions, for example, by lyophilisation, may readily be accomplished using standard pharmaceutical techniques well known to those skilled in the art.

The solubility of compounds of the present invention and salts thereof used in the preparation of parenteral solutions may be increased by the use of appropriate formulation techniques, such as the incorporation of solubility-enhancing agents.

Formulations for parenteral administration may be formulated to be immediate and/or modified release. Modified release formulations include delayed-, sustained-, pulsed-, controlled-, targeted and programmed release. Thus compounds of the invention may be formulated as a suspension or as a solid, semi-solid, or thixotropic liquid for administration as an implanted depot providing modified release of the active compound. Examples of such formulations include drug-coated stents and semi-solids and suspensions comprising drug-loaded poly(di-lactic-co-glycolic) acid (PLGA) microspheres.

Topical Administration

The compounds or salts of the invention may also be administered topically, (intra)dermally, or transdermally to the skin or mucosa. Example 1 could be administered to the skin. Typical formulations for this purpose include gels, hydrogels, lotions, solutions, creams, ointments, dusting powders, dressings, foams, films, skin patches, wafers, implants, sponges, fibres, bandages and microemulsions. Liposomes may also be used. Typical carriers include alcohol, water, mineral oil, liquid petrolatum, white petrolatum, glycerin, polyethylene glycol and propylene glycol. Penetration enhancers may be incorporated - see, for example, J Pharm Sci, 88 (10), 955-958, by Finnin and Morgan (October 1999).

Other means of topical administration include delivery by electroporation, iontophoresis, phonophoresis, sonophoresis and microneedle or needle-free (e.g. Powderject™, Bioject™, etc.) injection.

Formulations for topical administration may be formulated to be immediate and/or modified release. Modified release formulations include delayed-, sustained-, pulsed-, controlled-, targeted and programmed release.

Inhaled/Intranasal Administration

The compounds or salts of the invention can also be administered intranasally or by inhalation, typically in the form of a dry powder (either alone, as a mixture, for example, in a dry blend with lactose, or as a mixed component particle, for example, mixed with phospholipids, such as phosphatidylcholine) from a dry powder inhaler, as an aerosol spray from a pressurised container, pump, spray, atomiser (preferably an atomiser using electrohydrodynamics to produce a fine mist), or nebuliser, with or without the use of a suitable propellant, such as 1,1,1,2-tetrafluoroethane or 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropane, or as nasal drops. For intranasal use, the powder may comprise a bioadhesive agent, for example, chitosan or cyclodextrin.

The pressurized container, pump, spray, atomizer, or nebuliser contains a solution or suspension of the compound(s) of the invention comprising, for example, ethanol, aqueous ethanol, or a suitable alternative agent for dispersing, solubilising, or extending release of the active, a propellant(s) as solvent and an optional surfactant, such as sorbitan trioleate, oleic acid, or an oligolactic acid. Prior to use in a dry powder or suspension formulation, the drug product is micronised to a size suitable for delivery by inhalation (typically less than 5 microns). This may be achieved by any appropriate comminuting method, such as spiral jet milling, fluid bed jet milling, supercritical fluid processing to form nanoparticles, high pressure homogenisation, or spray drying.

Capsules (made, for example, from gelatin or hydroxypropylmethylcellulose), blisters and cartridges for use in an inhaler or insufflator may be formulated to contain a powder mix of the compound of the invention, a suitable powder base such as lactose or starch and a performance modifier such as L-leucine, mannitol, or magnesium stearate. The lactose may be anhydrous or in the form of the monohydrate, preferably the latter.

Other suitable excipients include dextran, glucose, maltose, sorbitol, xylitol, fructose, sucrose and trehalose.

A suitable solution formulation for use in an atomiser using electrohydrodynamics may comprise a compound of the present invention, propylene glycol, sterile water, ethanol and sodium chloride. Alternative solvents which may be used instead of propylene glycol include glycerol and polyethylene glycol.

Formulations for inhaled/intranasal administration may be formulated to be immediate and/or modified release using, for example, PGLA. Modified release formulations include delayed-, sustained-, pulsed-, controlled-, targeted and programmed release.

In the case of dry powder inhalers and aerosols, the dosage unit is determined by means of a valve which delivers a metered amount. Units in accordance with the invention are typically arranged to administer a metered dose or "puff" which may be administered in a single dose or, more usually, as divided doses throughout the day.

Dose ranges for inhaled administration range from 2 mg to less or 1 mg to less.

Combination

The compounds or salts of the invention may be administered in combination with one or more other therapeutic agents, such as a drug. The compound of the present invention or salt thereof may be administered at the same time or different time as one or more other therapeutic agents.

For example, "in combination" includes: simultaneous administration of a combination of compound or salt of the invention and a therapeutic agent to a subject, when such components are formulated together into a single dosage form which releases said components at substantially the same time to said subject; substantially simultaneous administration of a combination of compound or salt of the invention and a therapeutic agent to a subject in need of treatment, when such components are formulated apart from each other into separate dosage forms which are taken at substantially the same time by said subject, whereupon said components are released at substantially the same time to said subject; sequential administration of a combination of compound or salt of the invention and a therapeutic agent to a subject, when such components are formulated apart from each other into separate dosage forms which are taken at consecutive times by said subject with a significant time interval between each

administration, whereupon said components are released at substantially different times to said subject; and sequential administration of such combination of compound or salt of the invention and a therapeutic agent to a subject, when such components are formulated together into a single dosage form which releases said components in a controlled manner whereupon they are concurrently, consecutively, and/or overlappingly administered at the same and/or different times by said subject, where each part may be administered by either the same or different route.

For example, the compounds or salts of the present invention may be used in combination, partially or completely, in addition to other antiinflammatories. Suitable antiinflammatories include cyclosporine, zoledronic acid, efalizumab, alefacept, etodolac, lornoxicam, OM-89, valdecoxib, tocilizumab, abatacept, meloxicam, etanercept, nambumetone, rimexolone, 153Sm-EDTMP, prosorba, imidazole salicylate, oprelvekin, hylauronic acid, naproxen, piroxicam, diacerein, lumericoxib, tacrolimus, aceclofenac, actarit, tenoxicam, rosiglitazone, deflazacort, adalimumab, leflunomide, risedronate sodium, misoprostol and diclofenac, SK-1306X, infliximab, anakinra, celecoxib, diclofenac, etoricoxib and felbinac, reumacon, golimumab, denosumab, ofatumumab, 10rT1 antibody, pelubipufen, licofelone, temsirolimus, eculizumab, iguratimod, and prednisone. Other suitable antiinflammatories include CP-481715, ABN-912, MLN-3897, HuMax-IL-15, RA-1, paclitaxel, Org-37663, Org 39141, AED-9056, AMG-108, fontolizumab, pegsunercept, pralnacasan, apilimod, GW-274150, AT-001, 681323 (GSK), K-832, R-1503, ocrelizumab, DE-096, Con10, THC+CBD (GW Pharma), 856553 (GSK), ReN-1869, immunoglobulin, mm-093, amelubant, SCIO-469, ABT-874, LenkoVAX, LY-2127399, TRU-015, KC-706, dipyridamole, amoxapinet and dipyridamole, TAK-715, PG 760564, VX-702, prednisolone and dipyridamole, PMX-53, belimumab, prinaberel, CF-101, tgAAV-TNFR:Fc, R-788, prednisolone and SSRI, dexamethasone, CP-690550 and PMI-001.

One of ordinary skill in the art will also appreciate that when using the compounds of the invention or salts thereof in the treatment of a specific disease that the compounds of the invention may be combined with various existing therapeutic agents used for that disease.

For example, the compounds or salts of the invention may be combined with agents that modulate one or more of the following targets: Cyclooxygenase 2 (prostaglandin endoperoxide synthase 2); TNF-R (tumor necrosis factor receptor type

1); Cyclooxygenase (Cox 1 and 2; Non-specific); Map Kinase p38 (Non-specific); IL1 receptor (type I and II, Non-specific); Arachidonate 5-lipoxygenase; Glucocorticoid receptor (GR); NF-kB; Tumour necrosis factor (TNF-alpha); CCR1 chemokine receptor; Leukotriene B4 receptor (Non-specific); PDE4 (Phosphodiesterase 4; Non-specific); IL6
 5 receptor; Integrin (Non-specific); ADAM-17 (TNF-alpha converting enzyme); ICE (Caspase 1/interleukin-1 beta convertase); Prostaglandin Synthesis enzymes (Non-specific); Substance-P receptor (SPR / NK-1 receptor); Prostanoid receptor (Non-specific); Vascular cell adhesion protein 1 (VCAM 1); MMP-13 (collagenase 3); VEGF
 Receptor (Non-specific); C5A anaphylatoxin chemotactic receptor (C5AR); Macrophage
 migration inhibitory factor (MIF); Purine nucleoside phosphorylase (PNP); Beta 1
 interferon; MMP-3 (stromelysin 1); CCR2 chemokine receptor; MMP-2 (gelatinase A);
 Tumor necrosis factor receptor 5 (CD40); CD44 antigen (homing function and Indian
 blood group system); CCR5 chemokine receptor; Prostaglandin E synthase;
 Peroxisome proliferator activated receptor gamma (PPAR-gamma); CXCR4 chemokine
 15 receptor; Cathepsin S; Proto-oncogene LCK tyrosine kinase; CXCR3 chemokine
 receptor; PDGF Receptor; FKBP (12 FK-506); Ig superfamily CTLA-4; Protein Kinase C
 (PKC, Non-specific); Integrin alpha-V/beta-5; Cathepsin K; 26S Proteasome;
 Mineralocorticoid receptor (MR); Ikb kinase beta subunit (IKK BETA); Platelet activating
 factor receptor (PAF-R); Farnesyl pyrophosphate FPP synthetase; CXCR1 chemokine
 20 receptor; Macrophage colony stimulating factor I receptor (CSF-1R); IL18 receptor 1;
 Adenosine A3 receptor; Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF);
 SYK tyrosine kinase; CRF receptor (Non-specific); Alpha/Beta tubulin heterodimer;
 Tyrosine kinase (Non-specific); Amyloid beta; Macrophage colony stimulating factor
 (M-CSF); Tumor necrosis factor ligand superfamily member 11 (receptor activator of
 25 nuclear factor kappa b ligand); Phospholipase (Non-specific); Estrogen receptor
 (alpha/beta; Non-specific); MMP-9 (gelatinase B); Nitric oxide synthase (Non-specific);
 Inducible Nitric Oxide Synthase (Non-specific); p53 cellular tumor antigen; Insulin-like
 growth factor 1 (somatomedin C); Nicotinic acetylcholine receptor complex; Mu-type
 opioid receptor (MOR-1); IL11; ERBB/EGF Receptor Tyrosine Kinase (Non-specific);
 30 Histamine H2 receptor; Dipeptidyl peptidase IV (DPP IV, CD26); Topoisomerase II;
 CCR7 chemokine receptor; Bacterial Dihydrofolate Reductase (Non-specific); Beta-
 tubulin; DNA polymerase (Human, any subunit composition); CCR4 chemokine
 receptor; CCR3 chemokine receptor; K+ (potassium) Channel (Non-specific); Mitogen-

activated protein kinase 14 (MAPK14 / P38-alpha); L-type calcium channels (Non-specific); CCR6 chemokine receptor; PDE3 ((Phosphodiesterase 3; Non-specific); Cysteine protease (Non-specific); Sodium-dependent noradrenaline transporter (NAT); MAP2Kinase (MEKs; Non-specific); RAF Kinase (Non-specific); Hypoxia-inducible factor
 5 1 alpha; NMDA receptor; Estrogen receptor beta (ER-beta); Human DNA; Cholecystokinin type B receptor (CCKB); B1 bradykinin receptor (BK1); P2X purinoceptor 7 (P2X7); Adenosine A2A receptor; Cannabinoid receptor 2 (CB2); Sigma opioid receptor; Cannabinoid receptor 1 (CB1); CXCR2 chemokine receptor;
 Complement factor I (C3B/C4B inactivator); Protein Kinase B (RAC-Kinase) (Non-specific); Gamma secretase complex; CRTH2 (GPR44); p53-associated gene (MDM2 ubiquitin-protein ligase E3); VIP receptor (Non-specific); IL1 receptor, type I; IL6 (interferon, beta 2); MMP (Non-specific); Insulin; MMP-2/3/9; Calcitonin/calcitonin-related polypeptide, alpha; Lipoxygenase (Non-specific); vascular endothelial growth factor (VEGF); Thrombin; Androgen receptor; Map Kinase (Non-specific); Sex hormone-
 15 binding globulin; Chemokine CCL2 (MCP1/MCAF); Phospholipase A2; Erythropoietin (EPO); Plasminogen; Gastric proton pump (H⁺ K⁺ ATPase); Caspase (Non-specific); FGF receptor (Non-specific); Peroxisome proliferator activated receptor alpha (PPAR-alpha); MIP1a receptor (Non-specific); S100 calcium-binding protein (Non-specific); PGE receptor (Non-specific); peptidyl arginine deiminase, type IV; PDGF (a/b) complex;
 20 Beta-Lactamase and PBPs (Cell wall biosynthesis); Opioid receptor (Non-specific); Angiotensin-converting enzyme 1 (ACE1); Urokinase-type plasminogen activator (UPA); Phosphodiesterase (Non-specific PDE); Progesterone receptor (PR); 5HT (serotonin) receptor (Non-specific); tumor necrosis factor (ligand) superfamily, member 5 (CD40 ligand); Thymidylate synthase; Integrin Alpha4 - Paxillin interaction; Integrin alpha-4 (VLA-4 / CD49D); ERK1; glucose phosphate isomerase (autocrine motility factor);
 25 Dopamine receptor (Non-specific); Chemokine CXCL12 (SDF-1); Microsomal triglyceride transfer protein; Integrin alpha-5/beta-1; Signal transducer and activator of transcription 3 (acute-phase response factor); Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1); Vitamin D3 receptor (VDR / 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor); Aromatase complex
 30 (P450arom and NADPH-cytochrome P450 reductase); Protein tyrosine phosphatase (Non-specific); 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase; Integrin beta-1 (Fibronectin receptor beta subunit); Integrin beta-1/alpha-11; P Selectin (GMP140/granule membrane protein-140); Five-lipoxygenase activating protein (FLAP);

32

H+/K+ ATPase (Non-specific); Na+ (sodium) Channel (Non-specific); Thyroid
 peroxidase; Brain voltage gated sodium channel alpha-1; Beta-2 adrenergic receptor;
 BCL1 (Cyclin D1); Thyroid hormone receptor (Non-specific); Vascular endothelial growth
 factor receptor 2 (VEGFR-2 / FLK1); Alpha-V/Beta-6 Integrin; Integrin alpha-V
 5 (Vitronectin receptor alpha subunit / CD51); SRC Kinase; Pleiotrophin (heparin binding
 growth factor 8, neurite growth-promoting factor 1); osteopontin (secreted
 phosphoprotein 1); toll-like receptor 4 (TLR4); Vanilloid receptor (Non-specific);
 Pi3Kinase (Non-specific); Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP); PPAR receptor (Non-
 specific); Beta adrenergic receptor (Non-specific); transient receptor potential cation
 10 channel, subfamily V, member 1 (TRPV1); Topoisomerase I; Histamine H1 receptor;
 kininogen; IKK Kinase (Non-specific); HIV TAT protein; Toll-like receptor 2; solute carrier
 family 22 (organic cation transporter), member 4 (SLC22A4); RXR receptor (Non-
 specific); Renin (Angiotensinogenase); Gonadotropin-releasing hormone receptor
 (GNRH-R); Penicillin Binding Proteins (Cell wall peptidases); Calmodulin; Mitogen-
 15 activated protein kinase 1 (MAPK1 / ERK2); Calcium channel (Non-specific);
 Aggrecanase (non-specific); JNK kinase (Non-specific); transthyretin (TTR); CX3CR1
 receptor; Coagulation factor III (thromboplastin, tissue factor); Sodium-dependent
 serotonin transporter (5HTT); Colony stimulating factor 1 (macrophage); Tissue
 Transglutaminase (Transglutaminase 2/TGM2); Advanced glycosylation end product-
 20 specific receptor; Monoamine oxidase (A and B; Non-specific); Histamine receptor (Non-
 specific); Sodium-dependent dopamine transporter (DAT); Thrombopoietin
 (myeloproliferative leukemia virus oncogene ligand, megakaryocyte growth and
 development factor); Signaling lymphocytic activation molecule; Neutral endopeptidase
 (NEP / Neprilysin); Endothelin-1 receptor (ETA); Tyrosinase; Mitogen-activated protein
 25 kinase 8 (MAPK8 / JNK1); IAP (inhibitor of apoptosis) non-specific; Phosphoinositide 3-
 kinase; Prostaglandin F2-alpha receptor (Prostanoid FP receptor); Human growth
 hormone; Vasopressin receptor (Non-specific); Mast/stem cell growth factor receptor (C-
 KIT); CDK (Non-specific); D4/5HT1a (Dopamine D4 receptor, serotonin receptor 1a);
 Angiopoietin 1 receptor (TIE-2) (TEK); Estrogen receptor alpha (ER-alpha); Epidermal
 30 growth factor receptor; Focal Adhesion Kinase (Non-specific); Peripheral
 benzodiazepine receptor (HPBS); Oxytocinase; Cytosolic phospholipase A2;
 Endopeptidase (Non-specific); FGFR1 FGF receptor 1; Neurokinin NK1/NK2 receptor;
 Prolyl 4-hydroxylase complex; Integrin alpha-5 (Fibronectin receptor alpha subunit /

VLA-5 / CD49E); Muscarinic acetylcholine receptor (Non-specific); Tyrosine-protein kinase JAK3 (JANUS KINASE 3); odc1 - ornithine decarboxylase; 5HT3 receptor; Adrenomedullin; Phosphatidylinositol 3-kinase homolog (ataxia-telangiectasia mutated gene / ATM); Erythropoietin receptor; Connective tissue growth factor; RAC-alpha
 5 serine/threonine kinase (Protein kinase B); Toll-like receptor 9; Neuronal nitric oxide synthase (NOS1); Kappa-type opioid receptor (KOR-1); Cardiac Na⁺ channel complex; ERBB-2 receptor protein tyrosine kinase (Tyrosine kinase-type cell surface receptor HER2); Thrombin receptor (PAR-1); PDE4B (cAMP-specific phosphodiesterase 4B / HSPDE4B); Platelet-derived growth factor beta polypeptide; FKBP-rapamycin

associated protein (FRAP, mTOR); thrombomodulin; HIV Protease (retropepsin); PDE4D (cAMP-specific phosphodiesterase 4D / HSPDE4D); Adenosine kinase; Histone Deacetylase (Non-specific); Prostaglandin E2 receptor EP4 subtype (Prostanoid EP4
 receptor); Mitogen-activated protein kinase kinase 3 (MAP2K3); MMP-12 (metalloelastase); OX40 receptor; Non specific human ubiquitin ligase; Sulfonylurea
 15 receptor (SUR1 (pancreatic) and SUR2 (cardiac/smooth muscle)); Coagulation factor X (Stuart factor); MAP kinase activated protein kinase 2 (MAPKAPK-2); IgE heavy chain constant region; Dopamine D2 + 5HT2A receptors; 5-hydroxytryptamine 4 receptor (5HT4); Type-1 angiotensin II receptor (AT1); Cytochrome P450 3A4; T-cell cyclophilin (cyclophilin A); Neuromedin K receptor (NKR / NK-3 receptor); Leukotriene B4 receptor;
 20 Brutons tyrosine kinase (BTK); Mitogen-activated protein kinase kinase 6 (MAP2K6); endoglin; M1/D2/5HT2; Sodium Dependent Noradrenaline transporter + Dopamine D4 receptor; Mitogen-activated protein kinase kinase 4 (MAP2K4); Heat shock protein Hsp90 A/B; Histidine decarboxylase; solute carrier family 22 (organic cation transporter),
 member 5 (SLC22A5); CSK tyrosine kinase; Prolyl endopeptidase; Cysteinyl leukotriene
 25 receptor (CYSLT1); Nuclear receptor NURR1 (Immediate-early response protein NOT); Toll-like receptor 3; Proteinase activated receptor 2 (PAR-2); Prostacyclin receptor (prostanoid IP receptor); Serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade F (alpha-2 antiplasmin, pigment epithelium derived factor), member 1; Pituitary adenylate cyclase activating polypeptide type i receptor (PACAP-R-1); Tumor necrosis factor (ligand)
 30 superfamily, member 10; C-MAF (short form); Acetylcholinesterase (ACHE); Alpha1 adrenergic receptor (Non-specific); GABA A Receptor Bz binding; Lysosphingolipid receptor EDG-1; Mucosal addressin cell adhesion molecule-1 (MAdCam); alpha-1L adrenergic receptor; Hepatocyte growth factor receptor (MET Proto-oncogene tyrosine

kinase); Muscarinic acetylcholine receptor M3; MEK1; Insulin receptor; GABA receptor (A + B; Non-specific); Phosphatidylinositol 3-kinase catalytic subunit gamma (PI3 kinase gamma); Bone morphogenetic protein 2 (BMP2); SKY tyrosine protein kinase receptor (TYRO3) (RSE); discoidin domain receptor family, member 2 (DDR2); KV Voltage-gated potassium channel (Non-specific); Sphingosine kinase (Non-specific); High affinity nerve growth factor receptor (TRK-A); Carbonic Anhydrases (all); Thrombopoietin receptor; Vascular endothelial growth factor C; angiotensinogen; ATP-binding cassette, sub-family B (MDR/TAP), member 1 (ABCB1) (Multidrug resistance P-glycoprotein (MDR1); Mitogen-activated protein kinase kinase 7 (MAP2K7); Muscarinic acetylcholine receptor M1; HIV Reverse transcriptase; PDE5A (cGMP-binding, cGMP-specific phosphodiesterase 5A / HSPDE5A); Alpha adrenergic receptor (Non-specific); Lipoprotein-associated coagulation inhibitor; Carboxypeptidase B2 (TAFI); Cholinesterase (Non-specific); B2 bradykinin receptor (BK2); Aldose reductase; Coagulation factor XI (Plasma thromboplastin antecedent); Serine/threonine protein kinase P78; Methionine aminopeptidase 2; Soluble guanylate cyclase (Non-specific); Ribosomal protein S6 kinase; Metabotropic glutamate receptor 1; Non-receptor tyrosine-protein kinase TYK2; Metabotropic glutamate receptor (Non-specific); Vascular endothelial growth factor receptor 3 (VEGFR-3 / FLT4); Mitogen-activated protein kinase 13 (MAPK13 / P38 delta); Fibroblast activation protein (seprase); Corticotropin releasing factor receptor 1 (CRF1); Mitogen-activated protein kinase 11 (MAPK11 / P38 beta); Complement component 5; FL cytokine receptor (FLT3); AMPA receptor (Glutamate receptors 1-4); Nerve growth factor receptor; Acyl-CoA A: cholesterol acyltransferase 1 (ACAT1); Frizzled-like receptor smoothened homolog (SMO); G-protein-coupled receptor BONZO (STRL33, CXCR6); IKCa proteins; TGF-beta receptor type II (TGFR-2); HIV-vif protein; 5-hydroxytryptamine 2B receptor (5HT2B); Fatty acid binding protein (Non-specific); Toll-like receptor 7 (TLR7); Ghrelin; CD36 antigen (collagen type I receptor, thrombospondin receptor); Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 3 (MAP3K3 / MEKK3); FMLP-related receptor I (FMLP-RI); Sphingosine kinase SPHK1; Histidyl-tRNA synthetase; Mitogen-activated protein kinase 9 (MAPK9 / JNK2); P2X receptor (Non-specific); Casein kinase I (Non-specific); Sulfotransferases (non specific); Nuclear receptor ROR-alpha-1; Catechol O-methyltransferase (COMT); Monoamine oxidase A (MAOA); Gamma-glutamyl hydrolase; Protein kinase C alpha type (PKC-alpha); Mitogen-activated protein kinase 12 (MAPK12 / ERK6 / P38 gamma);

Alpha2Delta Calcium Channel; Tissue Factor/Factor VIIa complex; Hookworm
 neutrophil inhibitory factor; IKr potassium channel; Histamine H4 receptor (JAR3) (PFI-
 13); 5-hydroxytryptamine 2A receptor (5HT2A); Cholecystokinin type A receptor
 (CCKA); 11-beta hydroxysteroid dehydrogenase 1; Growth hormone releasing hormone;
 5 Nicotinic acetylcholine receptor protein alpha-7; 5HT2 receptor (Non-specific);
 Sodium/hydrogen exchanger isoform 1 (NHE1); Substance-K receptor (SKR / NK-2
 receptor); 5-hydroxytryptamine 1D receptor (5HT1D); 5HT1B/1D Receptors; Sucrase-
 isomaltase; Beta-3 adrenergic receptor; Calcitonin gene-related peptide (GGRP) type
 1 receptor; Cyclin-dependent kinase 4 (CDK4); Alpha-1A adrenergic receptor; P2Y12
 platelet ADP receptor; Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 5 (MAP3K5)
 (MEKK5); regulator of G-protein signalling 2; Interleukin-1 receptor-associated kinase
 (IRAK); Inorganic pyrophosphatase (ppase); ITK/TSK tyrosine kinase; RAR gamma;
 AXL tyrosine protein kinase (UFO, GAS6 receptor); Activin receptor-like kinase 1 (ALK-
 1); Runt-related transcription factor 2; AMP deaminase (Non-specific); CCR8 chemokine
 15 receptor; CCR11 chemokine receptor; Nociceptin receptor; Insulin-like growth factor I
 receptor; P2Y Receptor (Non-specific); Protein kinase C theta type (NPKC-theta); DNA-
 methyltransferase non-specific; Phosphorylase Kinase (Non-specific); C3A
 anaphylatoxin chemotactic receptor (C3AR); sphingosine kinase 2 (SPHK2); Casein
 kinase II non-specific; Phosphoglycerate kinase 1; UDP-Gal:betaGlcNAc beta 1,4-
 20 galactosyltransferase 2 (B4GALT2); sapiens solute carrier family 7 (cationic amino acid
 transporter, y+ system), member 5 (SLC7A5); MMP-17 (MT-MMP 4); Casein kinase II
 alpha chain (CK II); Growth arrest specific 6 (GAS6); MAP kinase activated protein
 kinase 3 (MAPKAPK-3); Mitogen and stress-activated protein kinase-1 (MSK1);
 Prostaglandin D2 synthase (21kD, brain); Pancreatic K+ channel (Non-specific); TGF-
 25 beta receptor type I (TGFR-1 / Activin receptor-like kinase 5 / ALK-5); Cyclin-dependent
 kinase 2 (CDK2); ACAT (ACAT Enzymes 1 and 2; Non-specific); Delta-type opioid
 receptor (DOR-1); 5-hydroxytryptamine 6 receptor (5HT6); 5-hydroxytryptamine 1A
 receptor (5HT1A); 5HT1 receptor (Non-specific); Growth hormone receptor; PDE7
 (Phosphodiesterase 7; Non-specific); IgE receptor (R1 and R2; Non-specific); Cyclin-
 30 dependent kinase 1 (CDK1); Farnesyl-protein transferase complex; Prostaglandin D2
 receptor (prostanoid DP receptor); Complement C1S component; Histone deacetylase
 5; dickkopf homolog 1 precursor; P2X purinoceptor 4 (P2X4); Lectin-like oxidized LDL
 receptor (LOX-1); Epoxide hydrolase 2 (trans-styrene oxide hydrolase) (soluble epoxide

hydrolase) (sEH); dihydrodipicolinate synthase (dhdps) (DapA); CaM Kinase II Complex; LXR alpha/beta (Non-specific LXR); Second mitochondria-derived activator of caspase; Integrin-linked kinase (ILK); Focal adhesion kinase 2 (FADK 2); Adenosine A2B receptor; WEE1-like protein kinase; Checkpoint kinase (CHK2); Bacterial SecA protein;

5 Nicotinic acetylcholine receptor protein beta-2; Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1 (MAP3K1 / MEKK1); Protein kinase C zeta type (NPKC-zeta); PDK1 (3-phosphoinositide-dependent protein kinase-1); 5-hydroxytryptamine 5A receptor (5HT5A); Steroid 5-alpha-reductase; Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 8 (MAP3K8 / COT); Protein tyrosine phosphatase 1B; P2Y purinoceptor 1 (P2Y1); Alpha-

1D adrenergic receptor; Casein kinase I epsilon (CKI-epsilon); 5-hydroxytryptamine 7 receptor (5HT7); Coagulation factor VII (Eptacog alfa); Pyruvate dehydrogenase kinase (PDHK; Non-specific); PDE7A (cAMP-specific phosphodiesterase 7A / HSPDE7A);

● Glucagon-like peptide 1 receptor (GLP-1R); Influenza rna polymerase subunit p3 (pb2 endonuclease); Viral protease (Non-specific); Topoisomerase IV; Parathyroid hormone

15 receptor (PTH2 receptor); Protein kinase C beta-I type (PKC-beta-1); Dopamine beta hydroxylase; Galactosyltransferase associated protein kinase P58/GTA; Presynaptic protein SAP97; synovial apoptosis inhibitor 1, synoviolin (SYVN1) (HRD1) (HRD-1); Squalene epoxidase (ERG1); Protein kinase C epsilon type (NPKC-epsilon);

20 Corticotropin releasing factor receptor 2 (CRF2); Intermediate conductance calcium-activated potassium channel (IK1); Nucleoside diphosphate kinase A (NDKA) (NM23-H1); Interleukin-1 receptor associated kinase 4 (IRAK-4); Glycogen synthase kinase-3 alpha (GSK-3 alpha); solute carrier family 22 (organic cation transporter), member 2 (SLC22A2); Pyruvate dehydrogenase kinase 1 (PDK1); PAK-alpha kinase (PAK-1);

● Human 14-3-3 proteins; Isoleucyl-tRNA synthetase; Prenylcysteine carboxyl

25 methyltransferase (PCCMT); CKLF1; and NAALADase II.

The compounds or salts of the invention may further be administered in combination with one or more agents such as SSRI, matrix metalloproteinase (MMP) inhibitors, aggrecanase inhibitors, inducible nitric oxide (iNOS) inhibitors, inhibitors of insulin-like growth factor (IGF) expression or activity, inhibitors of fibroblast growth factor

30 (FGF) expression or activity, inhibitors of CD 44 expression or activity, inhibitors of interleukin (IL) expression or activity, inhibitors of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) expression or activity, inhibitors of tumor necrosis factor-inducible protein 6 (TSG-6) expression or activity, inhibition of Bikunin expression or activity, inhibitors of

beta-secretase (BACE), inhibitors of PACE-4, inhibition of nuclear receptor rev-ErbA alpha (NR1D1) expression or activity, inhibition of endothelial differentiation sphingolipid G-protein-coupled receptor 1 (EDG-1) expression or activity, inhibition of proteinase-activated receptor (PAR) expression or activity, inhibition of cartilage-derived retinoic-acid-sensitive protein (CD-RAP) expression or activity, inhibitors of protein kinase C zeta (PKCz), inhibition of resistin expression or activity, inhibition of a disintegrin and metalloproteinase 8 (ADAM8), inhibition of complement component 1 s subcomponent (C1s) expression or activity, inhibition of formyl peptide receptor-like 1 (FPRL1) expression or activity.

Additional examples of agents useful in combination with compounds or salts of the invention include inhibitors of MMP -2, -3, -9, or -13; inhibitors of aggrecanase -1 or -2; inhibitors of IGF -1 or -2 expression or activity; inhibitors of FGF -2, -18, or -9 expression or activity; and inhibitors of IL -1, -4 or -6 expression or activity.

Further examples of agents useful in combination with compounds or salts of the invention include IGF -1 or -2 antibodies; FGF receptor -2 or -3 antagonists, CD 44 antibodies, IL -1, -4 or -6 antibodies, TNF-alpha antibodies; TSG-6 antibodies; bikunin antibodies; NR1D1 antagonists; EDG-1 antagonists; PAR antagonists, CD-RAP antibodies, resistin antibodies, C1s antibodies, and FPRL1 antibodies.

Additional examples of compounds that can be administered with the compounds or salts of the present invention include: Cyclooxygenase-2 (COX-2) selective inhibitors such as celecoxib, rofecoxib, parecoxib, valdecoxib, deracoxib, etoricoxib, and lumiracoxib; opioid analgesics such as morphine, hydromorphone, oxymorphone, fentanyl, codeine, dihydrocodeine, oxycodone, hydrocodone, buprenorphine, tramadol, and nalbuphine; nonsteroidal antiinflammatory drugs (NSAIDs) such as aspirin, diclofenac, diflunisal, ibuprofen, fenoprofen, naproxen, nepafenac, and acetaminophen; Phosphodiesterase V inhibitors (PDEV) such as sildenafil; alpha-2-delta ligands such as gabapentin and pregabalin; and local anaesthetics such as benzocaine, lidocaine, ropivacaine, menthol, camphor and methyl salicylate.

Examples of other types of compounds and classes of compounds that can be used in combination with the compounds or salts of the present invention include: analgesics, barbiturate sedatives; benzodiazepines; Histamine H₁ antagonists having a sedative action; sedatives; skeletal muscle relaxants; N-methyl-D-aspartic acid (NMDA) receptor antagonists; alpha-adrenergics; tricyclic antidepressants; anticonvulsants such

as carbamazepine; tachykinin (NK) antagonists, particularly NK-3, NK-2 or NK-1 antagonists; muscarinic antagonists; neuroleptics; vanilloid receptor agonists or antagonists; beta-adrenergics; corticosteroids; Serotonin (5-HT) receptor agonists or antagonists such as a 5-HT_{1B/1D}, 5-HT_{2A}, and 5-HT₃ receptor antagonists; cholinergic

5 (nicotinic) analgesics; cannabinoids; metabotropic glutamate subtype 1 receptor (mGluR1) antagonists; serotonin reuptake inhibitors such as sertraline; noradrenaline (norepinephrine) reuptake inhibitors such as reboxetine, in particular (S,S)-reboxetine; dual serotonin-noradrenaline reuptake inhibitors such as duloxetine; inducible nitric

oxide synthase (iNOS) inhibitors such as S-[2-[(1-iminoethyl)amino]ethyl]-L-homocysteine, S-[2-[(1-iminoethyl)-amino]ethyl]-4,4-dioxo-L-cysteine, S-[2-[(1-iminoethyl)amino]ethyl]-2-methyl-L-cysteine, (2S,5Z)-2-amino-2-methyl-7-[(1-iminoethyl)amino]-5-heptenoic acid, 2-[[[(1R,3S)-3-amino-4-hydroxy-1-(5-thiazolyl)-butyl]thio]-5-chloro-3-pyridinecarbonitrile; 2-[[[(1R,3S)-3-amino-4-hydroxy-1-(5-thiazolyl)butyl]thio]-4-chlorobenzonitrile, (2S,4R)-2-amino-4-[[2-chloro-5-

15 (trifluoromethyl)phenyl]thio]-5-thiazolebutanol, 2-[[[(1R,3S)-3-amino-4-hydroxy-1-(5-thiazolyl) butyl]thio]-6-(trifluoromethyl)-3 pyridinecarbonitrile, 2-[[[(1R,3S)-3-amino-4-hydroxy-1-(5-thiazolyl)butyl]thio]-5-chlorobenzonitrile, N-[4-[2-(3-chlorobenzylamino)ethyl]phenyl]thiophene-2-carboxamide, and guanidinoethyldisulfide; acetylcholinesterase inhibitors; prostaglandin E₂ subtype 4

20 (EP4) antagonists such as N-[[[(2-[4-(2-ethyl-4,6-dimethyl-1H-imidazo[4,5-c]pyridin-1-yl)phenyl]ethyl)amino)-carbonyl]-4-methylbenzenesulfonamide or 4-[[[(1S)-1-[(5-chloro-2-(3-fluorophenoxy)pyridin-3-yl)carbonyl]amino)ethyl]benzoic acid; leukotriene B4 antagonists such as 1-(3-biphenyl-4-ylmethyl-4-hydroxy-chroman-7-yl)-

cyclopentanecarboxylic acid; 5-lipoxygenase inhibitors; and sodium channel blockers.

25 Combinations with compounds or salts of the present invention also include analgesics such as acetaminophen, naproxen sodium, ibuprofen, tramadol, trazodone; cyclobenzaprine; aspirin, celecoxib, valdecoxib, indomethacin, and other NSAIDs; antidepressants such as tricyclic antidepressants and selective serotonin reuptake inhibitors, for example antidepressants such as amitriptyline, imipramine, nortriptyline,

30 doxepin, fluoxetine, sertraline, and paroxetine; muscle relaxants such as cyclobenzaprine; sleeping aids such as zolpidem.

Combinations with compounds or salts of the present invention also include analgesics such as acetaminophen, naproxen sodium, ibuprofen, tramadol, aspirin,

celecoxib, valdecoxib, indomethacin, and other NSAIDs; disease-modifying antirheumatic drugs (DMARDs) such as sulfasalazine or methotrexate; corticosteroids; and tumor necrosis factor (TNF) blockers such as etanercept and infliximab.

Combinations with compounds or salts of the present invention include topical
5 corticosteroids; vitamin D analogs such as calcipotriene; anthralin; topical retinoids (*i.e.*, vitamin A derivatives) such as acitretin and tazarotene; clobetasol propionate; methotrexate; azathioprine; cyclosporine; hydroxyurea; and immune-modulating drugs such as alefacept, efalizumab, and etanercept. Treatment with phototherapy, including
psoralen ultraviolet A (psoralen UVA or PUVA) therapy, narrow-band ultraviolet B (UVB)
therapy, and combination light therapy could be used with compounds or salts of the present invention and the aforementioned combinations.

Combinations with compounds or salts of the present invention include NSAIDs such as acetaminophen, naproxen sodium, ibuprofen, tramadol, aspirin, celecoxib, valdecoxib, and indomethacin; and corticosteroids such as prednisone.

15 Combinations with compounds or salts of the present invention include analgesics such as acetaminophen, naproxen sodium, ibuprofen, tramadol, aspirin, celecoxib, valdecoxib, indomethacin, and other NSAIDs; anti-inflammatory drugs; sulfasalazine, mesalamine, balsalazide, and olsalazine; corticosteroids; prednisone; budesonide; immunosuppressant drugs such as azathioprine, mercaptopurine, TNF
20 blockers such as infliximab and adalimumab, methotrexate, and cyclosporine; antibiotics such as metronidazole and ciprofloxacin; anti-diarrheals such as loperamide; laxatives; anticholinergic drugs; antidepressants such as tricyclic antidepressants and selective serotonin reuptake inhibitors, for example antidepressants such as amitriptyline, imipramine, nortriptyline, doxepin, fluoxetine, sertraline, and paroxetine; alosetron; and
25 tegaserod.

Compounds or salts of the present invention could also be administered with a long acting beta agonist.

Suitable examples of other therapeutic agents which may be used in combination with the compounds or salts of the invention include 5-Lipoxygenase (5-LO) inhibitors
30 or 5-lipoxygenase activating protein (FLAP) antagonists, leukotriene antagonists (LTRAs) including antagonists of LTB₄, LTC₄, LTD₄, and LTE₄, histamine receptor antagonists including H₁ and H₃ antagonists, α_1 - and α_2 -adrenoceptor agonist vasoconstrictor sympathomimetic agents for decongestant use, muscarinic M₃ receptor

W0

antagonists or anticholinergic agents, PDE inhibitors, e.g. PDE3, PDE4 and PDE5 inhibitors, theophylline, sodium cromoglycate, COX inhibitors both non-selective and selective COX-1 or COX-2 inhibitors (NSAIDs), oral and inhaled glucocorticosteroids, monoclonal antibodies active against endogenous inflammatory entities, β 2 agonists, including long-acting β 2 agonists, adhesion molecule inhibitors including VLA-4 antagonists, Kinin- B_1 - and B_2 -receptor antagonists, Immunosuppressive agents, Inhibitors of matrix metalloproteases (MMPs), tachykinin NK_1 , NK_2 and NK_3 receptor antagonists, elastase inhibitors, adenosine A2a receptor agonists, inhibitors of urokinase, compounds that act on dopamine receptors, e.g. D2 agonists, modulators of the $NF\kappa B$ pathway, e.g. IKK inhibitors, modulators of cytokine signalling pathways such as syk kinase, or JAK kinase inhibitors, agents that can be classed as mucolytics or anti-tussive, and antibiotics.

According to the present invention, compounds or salts of the invention can be combined with:

H3 antagonists, Muscarinic M3 receptor antagonists, PDE4 inhibitors, glucocorticosteroids, adenosine A2a receptor agonists, β 2 agonists, modulators of cytokine signalling pathways such as syk kinase, or, leukotriene antagonists (LTRAs) including antagonists of LTB_4 , LTC_4 , LTD_4 , and LTE_4 .

According to the present invention, compounds or salts of the invention can also be combined with: glucocorticosteroids, such as inhaled glucocorticosteroids with reduced systemic side effects, including prednisone, prednisolone, flunisolide, triamcinolone acetonide, beclomethasone dipropionate, budesonide, fluticasone propionate, ciclesonide, and mometasone furoate and mometasone furoate monohydrate; muscarinic M3 receptor antagonists or anticholinergic agents including in particular ipratropium salts, such as ipratropium bromide, tiotropium salts, such as tiotropium bromide, oxitropium salts, such as oxitropium bromide, perenzepine, and telenzepine, or β 2 agonists, such as long-acting β 2 agonists, including salmeterol, formoterol, QAB-140 and CHF-4226.

F. Use in the Preparation of a Composition or Medicament

In one embodiment, the present invention comprises methods for the preparation of a composition or medicament comprising the compounds or salts of the present invention for use in treating condition mediated by glucocorticoid receptor activity.

In another embodiment, the invention comprises the use of one or more compounds or salts of the present invention in the preparation of a composition or a medicament for inflammation, inflammation related condition, rheumatoid arthritis, dermatitis, Alzheimer's disease.

5 The present invention also includes the use of one or more compounds or salts of the present invention for preparation of a composition or a medicament for treating one or more conditions detailed in the Methods section.

G. Schemes

10 The compounds of the present invention may be prepared using the methods illustrated in the general synthetic schemes and experimental procedures detailed below. The reactions of the synthetic methods herein are carried out in suitable solvents which may be readily selected by one skilled in the art of organic synthesis, said suitable solvents generally being any solvent which is substantially nonreactive with
15 the starting materials (reactants), the intermediates, or products at the temperatures at which the reactions are carried out. A given reaction may be carried out in one solvent or a mixture of more than one solvent. Depending on the particular reaction step, suitable solvents for a particular reaction step may be selected.

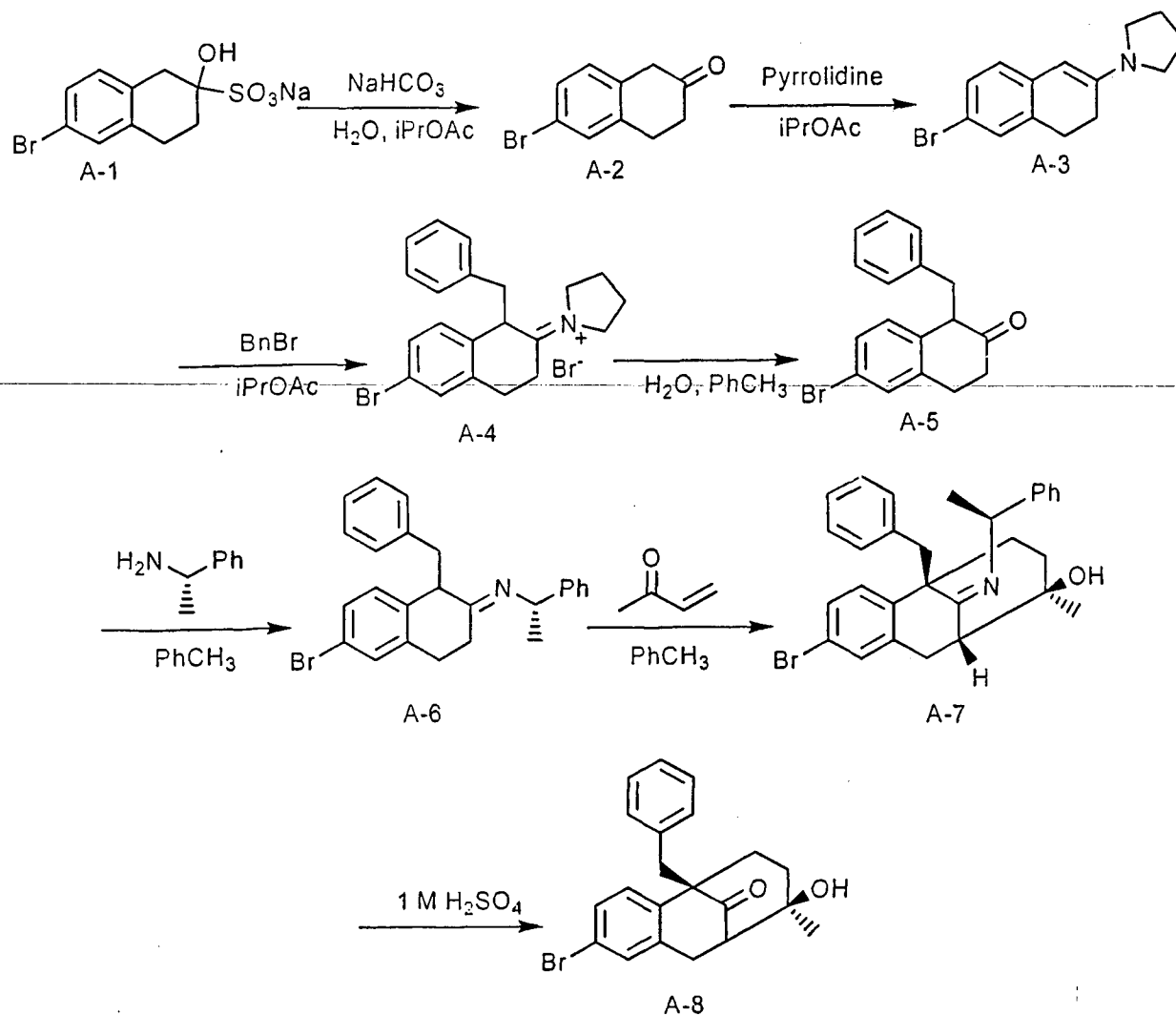
20 Preparation of compounds of the invention can involve the protection and deprotection of various chemical groups. The need for protection and deprotection, and the selection of appropriate protecting groups can be readily determined by one skilled in the art. The chemistry of protecting groups can be found, for example, in T.W. Greene and P.G.M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3rd. Ed., Wiley & Sons, Inc., New York (1999), which is incorporated herein by reference in its entirety.

25 Reactions can be monitored according to any suitable method known in the art. For example, product formation can be monitored by spectroscopic means, such as nuclear magnetic resonance spectroscopy (e.g., ^1H or ^{13}C) infrared spectroscopy, spectrophotometry (e.g., UV-visible), or mass spectrometry, or by chromatography such as high performance liquid chromatography (HPLC) or thin layer chromatography.

30 The starting materials used herein are either commercially available or may be prepared by routine synthetic methods.

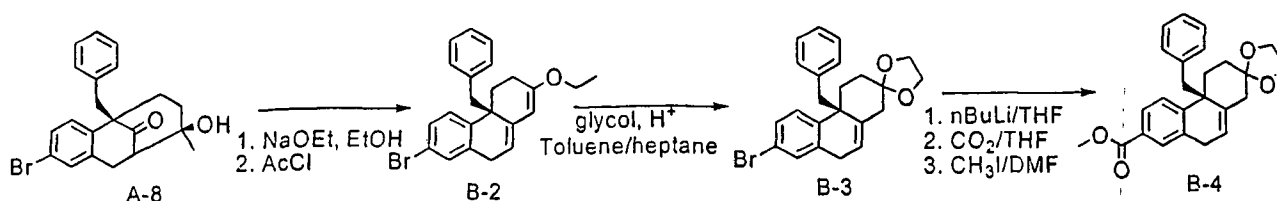
The general synthetic schemes are presented for purposes of illustration and are not intended to be limiting.

SCHEME A

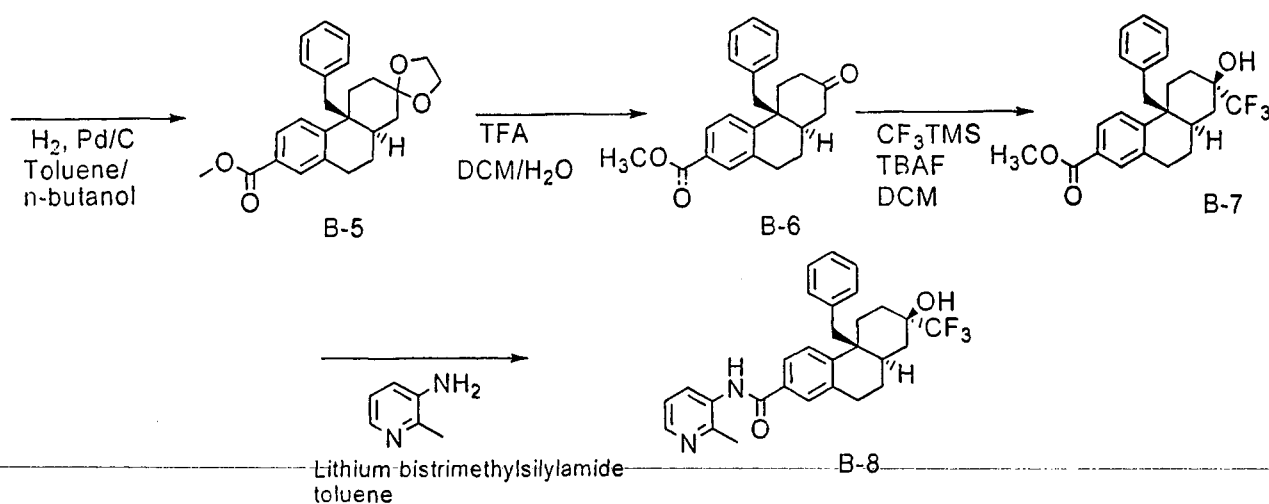


The 1(*R*)-Benzyl-5-bromo-9(*S*)-hydro-10(*R*)-hydroxy-10(*R*)-methyl-tricyclo[7.3.1.0^{2,7}]trideca-2,4,6-trien-13-one of Formula A-8 was prepared using the protocol described in Scheme A, which is generally disclosed in WO 00/66522. Ph depicts Phenyl. Bn depicts Benzyl. Compound A-1 can be purchased (for example, VOUS and Riverside; CAS No. 4133-35-1). Compound A-2 can be prepared as described in Org. Syn. 1971, 51, 109-112.

SCHEME B

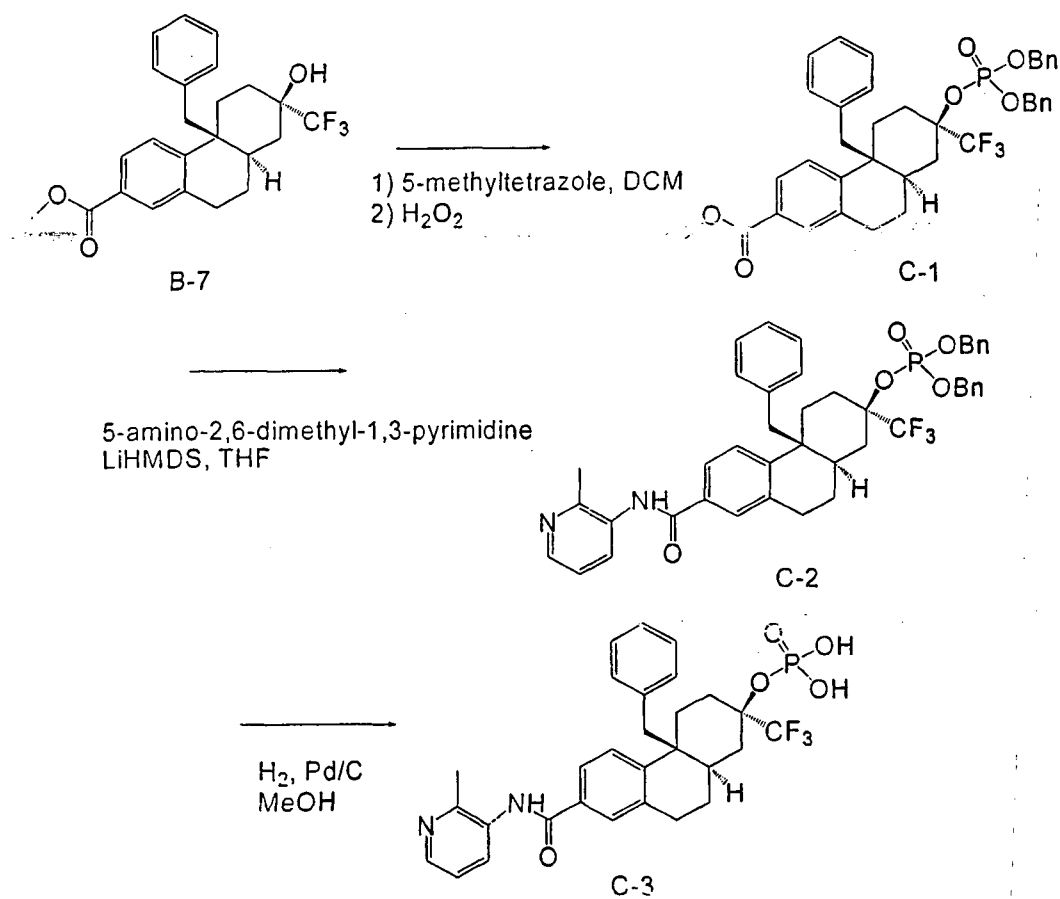


32



The (4 β S,7R,8 α R)-4 β -benzyl-7-hydroxy-N-(2-methylpyridin-3-yl)-7-(trifluoromethyl)-4b,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxamide was prepared as described in Scheme B.

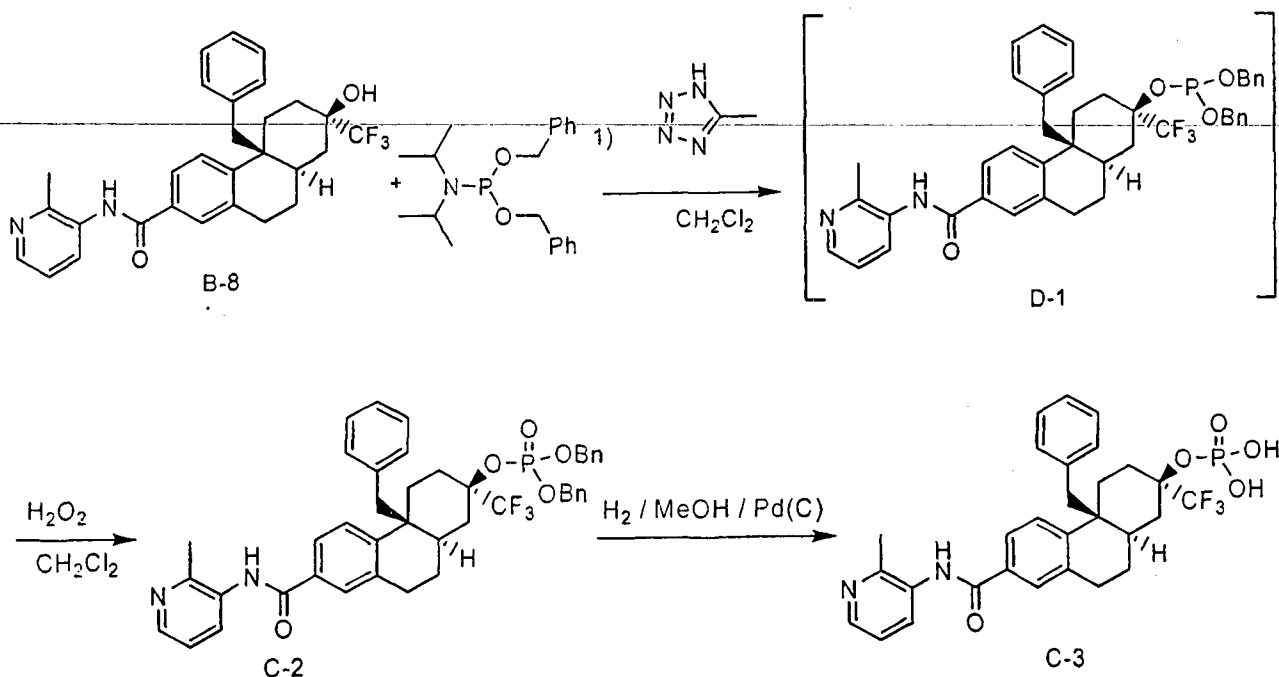
SCHEME C



M4

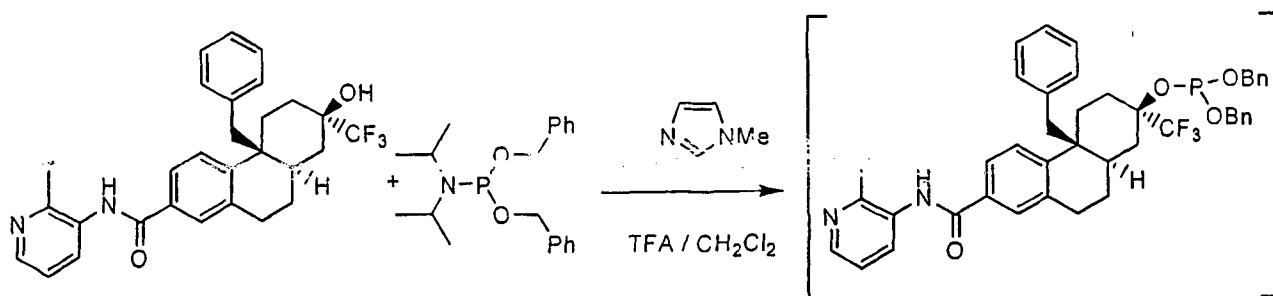
The (2*R*,4*α**S*,10*α**R*)-4*α*-benzyl-7-((2-methylpyridin-3-yl)carbamoyl)-2-(trifluoromethyl)-1,2,3,4,4*α*,9,10,10*α*-octahydrophenanthren-2-yl dihydrogen phosphate of C-3 was prepared as described in Scheme C. Bn depicts benzyl.

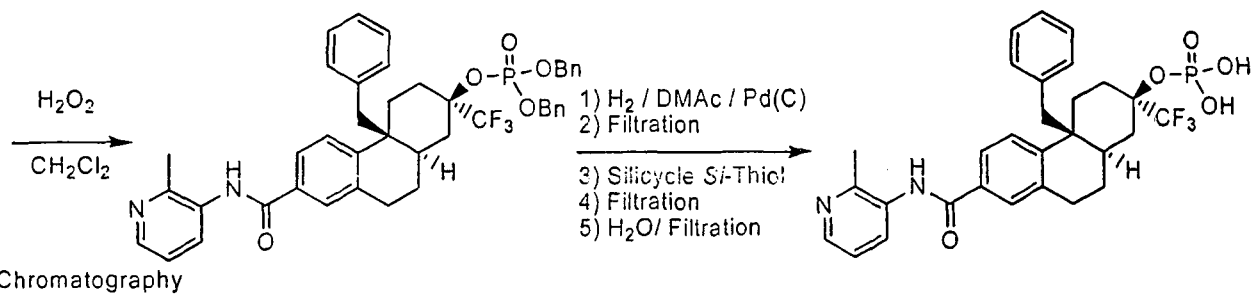
SCHEME D



The (2*R*,4*α**S*,10*α**R*)-4*α*-benzyl-7-((2-methylpyridin-3-yl)carbamoyl)-2-(trifluoromethyl)-1,2,3,4,4*α*,9,10,10*α*-octahydrophenanthren-2-yl dihydrogen phosphate of C-3 was prepared as described in Scheme D. Bn depicts benzyl. Ph depicts phenyl.

SCHEME E

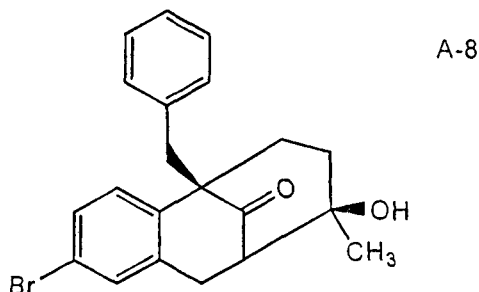




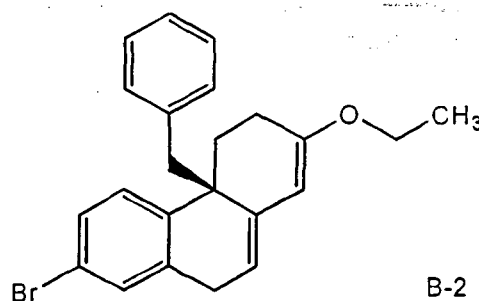
The (2*R*,4*αS*,10*αR*)-4*α*-benzyl-7-((2-methylpyridin-3-yl)carbamoyl)-2-(trifluoromethyl)-1,2,3,4,4*α*,9,10,10*α*-octahydrophenanthren-2-yl dihydrogen phosphate of C-3 was prepared as described in Scheme E. Bn depicts benzyl. Ph depicts phenyl.

H. PREPARATIONS AND EXAMPLES

Starting Material A-8 is 1(*R*)-Benzyl-5-bromo-9(*S*)-hydro-10(*R*)-hydroxy-10(*R*)-methyl-tricyclo[7.3.1.0^{2,7}]trideca-2,4,6-trien-13-one as depicted by the following formula:



Preparation 1: (*S*)-4*α*-benzyl-7-bromo-2-ethoxy-3,4,4*α*,9-tetrahydrophenanthrene

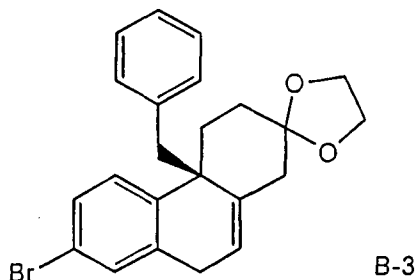


Starting Material A-8 (450 g; 1.17 moles) was dissolved in ethanol (4.5 L) at ambient temperature. 21% sodium ethoxide in ethanol (44 mL; 0.12 moles) was added and the mixture was heated to reflux for three hours. Once the Starting Material A-8 was consumed, the reaction mixture was chilled to -25°C. Acetyl chloride (250 mL; 3.51 moles) was slowly added to the mixture while the temperature was maintained near -25°C. After the addition was complete, the mixture was warmed to 0°C and held there until the intermediate enone was consumed. The mixture was slurry at this point. 21%

yb

sodium ethoxide in ethanol (1.31 L; 3.51 moles) was added to the mixture while the temperature was maintained between -5°C and 5°C. If the mixture was not basic, more sodium ethoxide was added. The temperature of the mixture was increased to 25°C and then diluted with water (5.9 L). The mixture was filtered and the solid was washed with water (3 X). The title compound (440 g; 85 area %) was obtained as a beige solid. ¹H NMR (DMSO) δ ppm: 1.27 (t, 3H), 1.65 (dt, 1H), 2.06 (d, 1H), 2.21 (dd, 1H), 2.49 (m, 1H), 2.65 (m, 2H), 2.89 (m, 2H), 3.85 (q, 2H), 5.45 (m, 2H), 6.44 (d, 2H), 6.98 (t, 2H), 7.06 (m, 2H), 7.25 (d, 1H), 7.33 (dd, 1H).

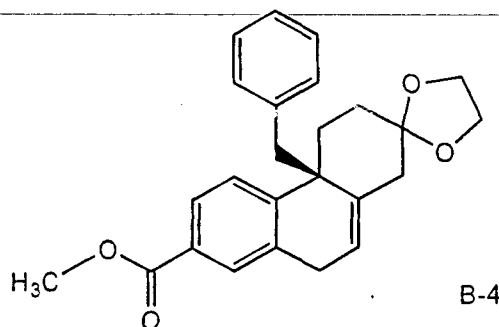
Preparation 2: (S)-4α-benzyl-7-bromo-2,2-(1,2-ethylenedioxy)-1,2,3,4,4α,9-hexahydrophenanthrene



The (S)-4α-benzyl-7-bromo-2-ethoxy-3,4,4α,9-tetrahydrophenanthrene (1270 g; 3.2 moles; 85 area %, which may be prepared as described in Preparation 1) was dissolved in toluene (6.45 L). The ethylene glycol (898 mL; 16.1 moles) and p-toluenesulfonic acid (6.1 g; 0.03 moles) were added and the reaction heated to reflux. Solvent (1 L) was distilled from the mixture and replaced with fresh toluene (1 L). This distillation process was repeated twice more. More p-toluenesulfonic acid (6.1 g) was added each time fresh toluene was added. During the reaction, two intermediates (detected by LC) were formed as the substrate was converted into product. The end point of the reaction was an equilibrium point between the two intermediates and the product. Once the endpoint was reached, the mixture was cooled to ambient temperature. The mixture was washed with 0.5 M NaOH (2 L). The phases separated quickly and both were dark with a small rag layer. The mixture was washed with water (2 L). The phases separated very slowly. The mixture was dried by azeotropic distillation. Methanol (4 L) was added to the mixture and solvent (4 L) was distilled from the mixture. The methanol addition and solvent distillation were repeated twice more. Methanol was added to the mixture and precipitation occurred a few minutes later. More methanol (4 L) was added to the mixture and then brought to reflux. After 30 minutes, the mixture was cooled to

0°C. The mixture was filtered and the solid was washed with chilled methanol (2 X 2L). The solid was dried in a vacuum oven at 65°C. The title compound (882 g; 98 area %) was obtained as a beige solid. ¹H NMR (DMSO) δ ppm: 1.71 (m, 2H), 2.06 (m, 2H), 2.31 (dd, 1H), 2.39 (m, 1H), 2.68 (d, 1H), 2.77 (m, 1H), 2.86 (dd, 1H), 3.36 (d, 1H), 3.86 (m, 4H), 5.45 (m, 1H), 6.50 (m, 2H), 7.00 (m, 4H), 7.37 (dd, 1H), 7.44 (d, 1H).

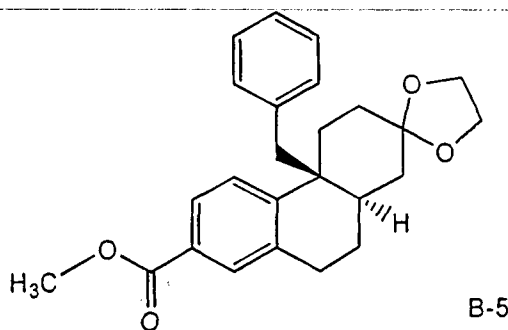
Preparation 3: (S)-methyl 4β-benzyl-7,7-(1,2-ethylenedioxy)-4β,5,6,7,8,10-hexahydrophenanthrene-2-carboxylate



The (S)-4α-benzyl-7-bromo-2,2-(1,2-ethylenedioxy)-1,2,3,4,4α,9-hexahydrophenanthrene (719 g; 1.75 moles, which may be prepared as described in Preparation 2) was dissolved in tetrahydrofuran (7.19 L) and chilled to -70°C. The 1.6 M n-butyl lithium in hexane (2270 mL; 2.27 moles) was added at a rate such that the temperature was maintained below -60°C. The mixture held an additional 15 minutes after the addition. Carbon dioxide (108 g; 2.45 moles) was added while the temperature was maintained below -60°C. The mixture held an additional 15 minutes after the addition. The mixture was warmed to ambient temperature. Solvent (7 L) was distilled from the mixture at atmospheric pressure. DMF (7 L) was added to the mixture. The mixture was cooled to ambient temperature. Methyl iodide (152 mL; 2.45 moles) was added and the mixture was held until the reaction was completed (~1 hour). The mixture was heated to 70°C and solvent was distilled by gradually reducing the pressure to 70 mmHg. Once distillation had ceased, the mixture was cooled to room temperature. Water (6.5 L) was slowly added to the mixture to precipitate the product. The mixture was filtered and the solid washed with water (3 X). The solid was dried on the filter. The crude product (736 g; 74 area %) was obtained as a beige solid. The product was purified by chromatography. 463 g of product was recovered from the chromatography. This material was separated from n-heptane (6130 mL). 394 g of the

title compound was recovered. Another 70 g of title compound was recovered from the mother liquor by chromatography. ¹H NMR (DMSO) δ ppm: 1.74 (m, 2H), 2.10 (m, 2H), 2.33 (dd, 1H), 2.45 (m, 1H), 2.72 (d, 1H), 2.79 (m, 1H), 2.94 (dd, 1H), 3.40 (d, 1H), 3.87 (m, 7H), 5.49 (m, 1H), 6.47 (m, 2H), 6.93 (m, 2H), 7.01 (m, 1H), 7.42 (d, 1H), 7.64 (d, 1H), 7.79 (dd, 1H).

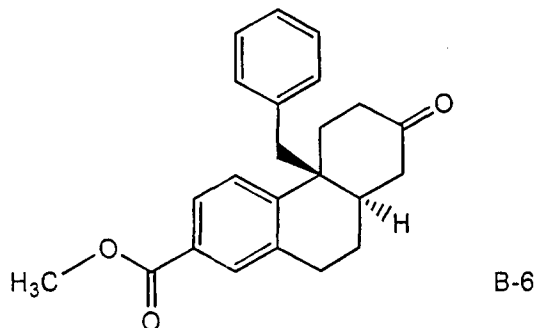
Preparation 4: (4βS,8αR)-methyl 4β-benzyl-7,7-(1,2-ethylenedioxy)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxylate



The (S)-methyl 4β-benzyl-7,7-(1,2-ethylenedioxy)-4β,5,6,7,8,10-hexahydrophenanthrene-2-carboxylate (201 g; 0.515 moles, which may be prepared as described in Preparation 3) and 50 ml of ethylene glycol was dissolved in toluene (2.0 L) in an autoclave. To this was added 10 grams of a 5% Pd/C (dry catalyst). The autoclave was then sealed and purged with nitrogen (three cycles) followed by hydrogen (three cycles). The reaction was run for 18 hours with a pressure of 80 psig and temperature of 50 °C. HPLC analysis for completion and selectivity (typical selectivity's are: 95 to 5, Trans to Cis). The suspension was filtered through Celite® to remove the catalyst and the toluene solution is concentrated at 50 °C, under vacuum, to approximately 200 ml. While still at 50 °C, 1 L of 1-butanol was added and the solution heated to 60 °C, until clear. Upon cooling, the resulting solid title compound was isolated by vacuum filtration (196 grams; 97%; Trans to Cis 95.75 to 4.24). ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 7.79 (bs, 1H, Ar-H), 7.47 (d, J = 9 Hz, 1H, Ar-H), 7.13-7.05 (cm, 3H, Ar-H), 6.56-6.53 (cm, 2H, Ar-H), 6.43 (d, J = 9 Hz, 1H, Ar-H), 4.04-3.93 (cm, 4H, 2-CH₂), 3.89 (s, 3H, CH₃), 3.08-3.03 (cm, 3H, CH₂, CH-H), 2.63 (d, J = 15 Hz, CH-H), 2.22-1.72 (cm, 8H, 4-CH₂), 1.57 (cm, 1H, CH-H); ¹³CNMR (CDCl₃, δ): 167.7, 149.2, 137.7, 136.4, 131.1, 130.5, 127.8, 127.7, 127.4, 126.3, 125.5, 108.9, 64.6, 64.5, 52.1, 40.5, 39.8, 38.3, 35.8, 31.6, 30.3, 27.9, 24.6.

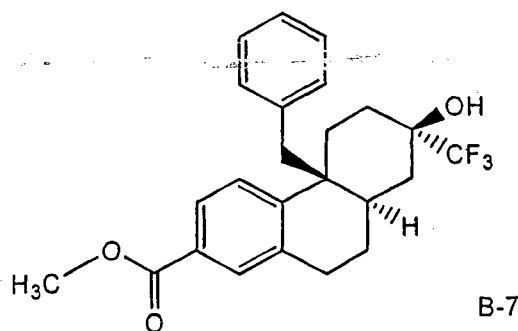
mg

Preparation 5: (4 β S,8 α R)-methyl 4 β -benzyl-7-oxo-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxylate



The (4 β S,8 α R)-methyl 4 β -benzyl-7,7-(1,2-ethylenedioxy)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxylate (150 g, 382 mmol, which may be prepared as described in Preparation 4) was dissolved in dichloromethane (630 ml). Water (270 ml) was added with stirring followed by trifluoroacetic acid (73 ml, 1150 mmol) via drop funnel over 30 minutes, maintaining the internal temperature below 30°C. After the addition was complete, the reaction was heated at 40°C for 2 hours. In process check indicated incomplete reaction with around 9% (area percent) starting material. The layers were separated and fresh water (270 ml) and trifluoroacetic acid (31 ml) was added. The reaction mixture was heated at 40°C for 1 hour. This process was continued until the starting material was consumed. The organic phase was washed with 5% aqueous sodium bicarbonate (300 ml), water (300 ml) and dried over MgSO₄ and concentrated to dryness to give 126.4 g of the title compound (representing a 95% yield). ¹H NMR (DMSO) δ ppm: 7.70 (s, 1H), 7.37 (d, J =8.4 Hz, 1H), 7.11 (m, 3H), 6.6 (d, J = 5.70 Hz, 2H), 6.45 (d, J =8.4 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.80 (m, 2H), 3.04-1.48 (m, 11H).

Preparation 6: (4 β S,7R,8 α R)-methyl 4 β -benzyl-7-hydroxy-7-(trifluoromethyl)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxylate

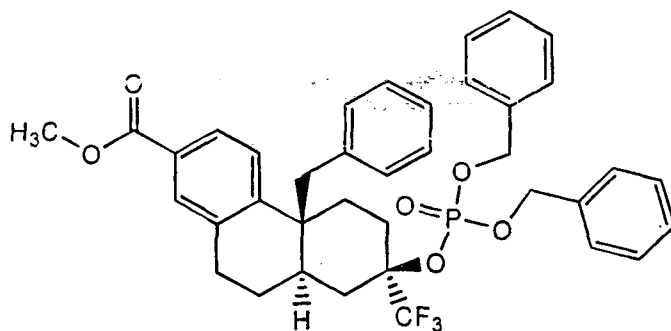




The (4 β S,8 α R)-methyl 4 β -benzyl-7-oxo-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxylate (118g, 0.339 mole, which may be prepared as described in Preparation 5) dissolved in dichloromethane was chilled to -50°C. The solution became turbid. 1.0 M Tetrabutylammonium fluoride a solution in THF (3.4 ml, 0.003 mol) was added with no appreciable temperature change. Trifluorotrimethylsilane (79 ml, 0.51 mol) was added over 20 minutes with a color change to bright orange to light red in color. The reaction mixture was held at -50 °C for about 2 hours and then allowed to warm to 0 °C.

Tetrabutylammonium fluoride (340 ml, 0.34 moles) was added very slowly at 0 °C, to the reaction mixture over 45 minutes. An exotherm was observed with gas evolution. The reaction mixture was stirred 10 minutes and HPLC analysis indicated complete desilylation. Water (1 L) was added to the reaction mixture and with vigorous stirring and allowed to warm to room temperature. The organic layer was washed with water (1 L). The organic layer was concentrated and chromatographed to produce 72 g, 51% of the title compound, with an additional 32 g of impure product. ¹H NMR (DMSO) δ ppm: 7.70 (s, 1H), 7.37 (d, J =8.1 Hz, 1H), 7.09 (m, 3H), 6.5 (dd, J =1.2, 6.6 Hz, 2H), 6.38 (d, J =8.4 Hz, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.80 (m, 2H), 3.09-1.21 (m, 13H).

Preparation 7: (4 β S,7R,8 α R)-methyl 4 β -benzyl-7-(bis(benzyloxy)phosphoryloxy)-7-(trifluoromethyl)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxylate



C-1

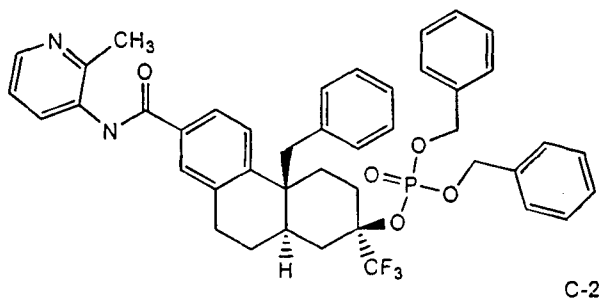
The (4 β S,7R,8 α R)-methyl 4 β -benzyl-7-hydroxy-7-(trifluoromethyl)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxylate (5.0 g; 11.9 mmol, which may be prepared as in Preparation 6) and 5-methyltetrazole (3.6 g; 43.0 mmol) were mixed together in dichloromethane (50 mL) at ambient temperature. Dibenzylphosphoramidite (8.3 mL; 25.1 mmol) was added and the mixture was stirred until the reaction was completed (1 hour). The mixture was chilled to 0°C and 30% hydrogen peroxide (10 mL) was added. The reaction was stirred until the oxidation was completed (30 minutes). The aqueous phase was separated from the organic phase. The organic phase was washed with

515

10% sodium meta-bisulfite (50 mL). The organic phase was dried with anhydrous magnesium sulfate and concentrated. The crude product was purified by silica gel chromatography with 15% ethyl acetate in hexanes. The purified title compound (8.41 g; 94% yield) was obtained as a colorless oil that contained 6% ethyl acetate by weight.

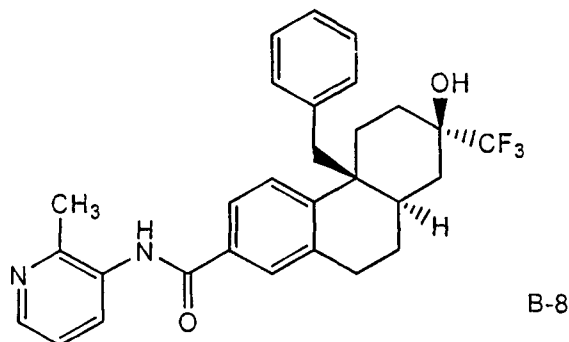
5 ^1H NMR (DMSO): δ 1.31 (t, 1H), 1.63-1.92 (m, 3H), 2.05-2.35 (m, 3H), 2.63 (d, 1H), 2.75-3.16 (m, 4H), 3.80 (s, 3H), 5.13 (m, 4H), 6.43 (d, 1H), 6.49 (m, 2H), 7.04-7.17 (m, 3H), 7.33-7.42 (m, 12H), 7.71 (d, 1H).

Preparation 8: dibenzyl (2*R*,4 α *S*,10 α *R*)-4 α -benzyl-7-((2-methylpyridin-3-yl)carbamoyl)-2-(trifluoromethyl)-1,2,3,4,4 α ,9,10,10 α -octahydrophenanthren-2-yl phosphate



The (4 β *S*,7*R*,8 α *R*)-methyl 4 β -benzyl-7-(bis(benzyloxy)phosphoryloxy)-7-(trifluoromethyl)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxylate (7.9 g; 11.6 mmol, which may be prepared as in Preparation 7) and 3-amino-2-picoline (1.3 g; 12.2 mmol) were mixed together in tetrahydrofuran (80 mL) and chilled to 0°C. The 1 M solution of lithium bis(trimethylsilyl)amide in tetrahydrofuran (24 mL; 24.4 mmol) was added while maintaining the temperature below 10°C. The mixture was stirred for 30 minutes. Water (50 mL) was added to the reaction mixture. The mixture was extracted with ethyl acetate. The organic extract was washed with water. The organic phase was dried with anhydrous magnesium sulfate and concentrated. The crude product was purified by silica gel chromatography with 70% ethyl acetate in hexanes. The purified title compound (6.79 g; 68% yield) was obtained as a yellow gum that contained 6% ethyl acetate by weight. ^1H NMR (DMSO): δ 1.33 (t, 1H), 1.66-1.93 (m, 3H), 2.08-2.34 (m, 3H), 2.41 (s, 3H), 2.68 (d, 1H), 2.76-3.19 (m, 4H), 5.14 (m, 4H), 6.47 (d, 1H), 6.56 (m, 2H), 7.07-7.19 (m, 3H), 7.20-7.53 (m, 12H), 7.71 (d, 1H), 7.76 (s, 1H), 8.32 (d, 1H), 9.93 (s, 1H).

Example 1: (4 β S,7R,8 α R)-4 β -benzyl-7-hydroxy-N-(2-methylpyridin-3-yl)-7-(trifluoromethyl)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxamide



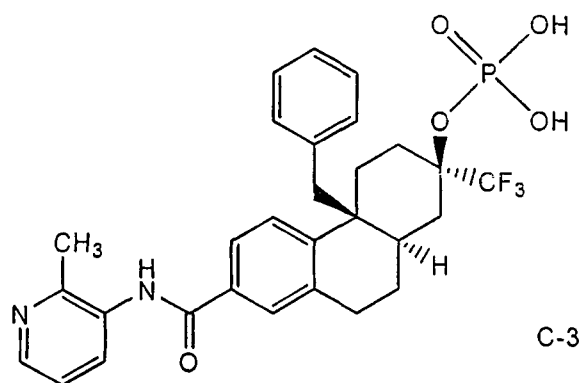
5 The (4 β S,7R,8 α R)-methyl 4 β -benzyl-7-hydroxy-7-(trifluoromethyl)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxylate (10 g; 23.9 mmol, which may be prepared as described in Preparation 6), and 3-amino-2-picoline (2.71 g; 25.1 mmol) were dissolved in toluene (200 mL). The 1M lithium bis(trimethylsilyl)amide in tetrahydrofuran (74.1 mL; 74.1 mmol) was added at a rate such that the temperature was maintained below 35°C.

10 There was a mild exotherm and a solid precipitated during the addition. The mixture was held an additional 30 minutes after the addition. Water (250 mL) was added to the mixture. There was a mild exotherm and the solid dissolved. Ethyl acetate (50 mL) was added to the mixture to ensure the product did not precipitate. Stirring was stopped to allow the phases to separate. The aqueous phase was removed. The organic phase was washed with water (250 mL). Solvent (230 mL) was distilled at atmospheric pressure from the organic phase. The mixture was cooled to ambient temperature. The mixture was filtered and the solid was washed with toluene (2 times) followed by heptane (2 times). The solid was dried in a vacuum oven at 70°C. The title compound of the present example (10 g) was obtained as a beige solid. ¹H NMR (DMSO) δ ppm:

20 1.32 (m, 1H), 1.82 (m, 4H), 2.10 (m, 4H), 2.41 (s, 3H), 2.68 (d, 1H), 3.08 (m, 3H), 6.00 (s, 1H), 6.43 (d, 1H), 6.59 (m, 2H), 7.12 (m, 3H), 7.25 (dd, 1H), 7.44 (dd, 1H), 7.71 (dd, 1H), 7.75 (d, 1H), 8.31 (dd, 1H), 9.91 (s, 1H).

Example 2: (2R,4 α S,10 α R)-4 α -benzyl-7-((2-methylpyridin-3-yl)carbamoyl)-2-(trifluoromethyl)-1,2,3,4,4 α ,9,10,10 α -octahydrophenanthren-2-yl dihydrogen phosphate

42



C-3

The dibenzyl (2*R*,4*αS*,10*αR*)-4*α*-benzyl-7-((2-methylpyridin-3-yl)carbamoyl)-2-

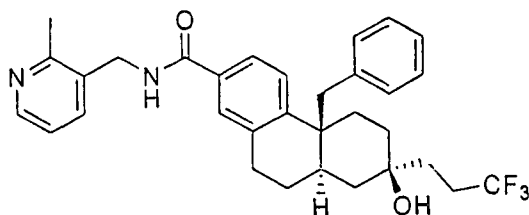
(trifluoromethyl)-1,2,3,4,4*α*,9,10,10*α*-octahydrophenanthren-2-yl phosphate (6 g; 7.9 mmol, which may be prepared as described in Preparation 8) was dissolved in methanol (120 mL). 5% palladium on carbon (63% water) (1.3 g; 0.4 mmol) was added to the mixture. The mixture was treated with hydrogen (50 psi) at room temperature. The reaction stalled with 12% of the monobenzyl intermediate remaining. The mixture was filtered through a pad of Celite®. Fresh catalyst (1.3 g) was added to the solution and resubmitted to the hydrogenation conditions. Once the reaction was completed, the mixture was filtered through a pad of Celite®. The solution was concentrated to about 60 mL by distillation and not by using a rotary evaporator. During the distillation a white solid precipitated. The mixture was cooled to ambient temperature. The mixture was filtered and the solid washed with methanol. The solid was dried in a vacuum oven at 70°C. The compound of the present example (3.36 g; 75% yield) was obtained as a white solid and had an LC purity of 98 area %. ¹H NMR (DMSO): δ 1.33 (t, 1H), 1.69-1.98 (m, 3H), 2.07-2.29 (m, 3H), 2.42 (s, 3H), 2.61-2.80 (m, 2H), 2.93-3.19 (m, 3H), 3.30 (d, 1H), 6.50 (d, 1H), 6.64 (m, 2H), 7.08-7.20 (m, 3H), 7.29 (dd, 1H), 7.48 (dd, 1H), 7.75 (dd, 2H), 8.33 (dd, 1H), 9.96 (s, 1H).

I. BIOLOGICAL DATA

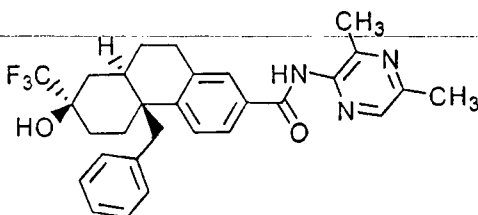
For the following descriptions, the comparators are tricyclic compounds (see e.g., WO 2000/66522). The example and comparators compounds were prepared at Pfizer. Prednisolone was used as a clinically relevant comparator (P-6004; Sigma-Aldrich, St. Louis).

Comparator A is (4*βS*,7*S*,8*αR*)-4*β*-benzyl-7-hydroxy-*N*-((2-methylpyridin-3-yl)methyl)-7-(3,3,3-trifluoropropyl)-4*β*,5,6,7,8,8*α*,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxamide, having the following structure:

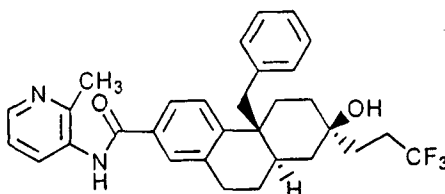
43



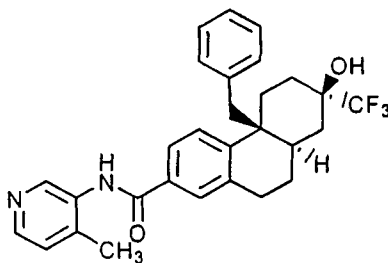
Comparator B is (4βS,7R,8αR)-4β-benzyl-N-(3,5-dimethylpyrazin-2-yl)-7-hydroxy-7-(trifluoromethyl)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxamide, having the following structure:



Comparator C is (4βS,7S,8αR)-4β-benzyl-7-hydroxy-N-(2-methylpyridin-3-yl)-7-(3,3,3-trifluoropropyl)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxamide, having the following structure:



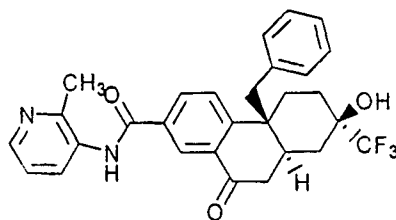
Comparator D is (4βS,7R,8αR)-4β-benzyl-7-hydroxy-N-(4-methylpyridin-3-yl)-7-(trifluoromethyl)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxamide, having the following structure:



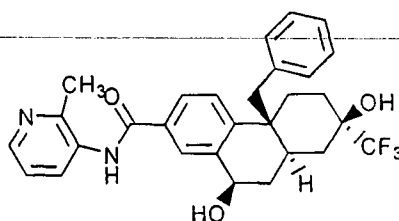
Comparator E is (4βS,7R,8αS)-4β-benzyl-7-hydroxy-N-(2-methylpyridin-3-yl)-10-oxo-7-(trifluoromethyl)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxamide, having the following structure:



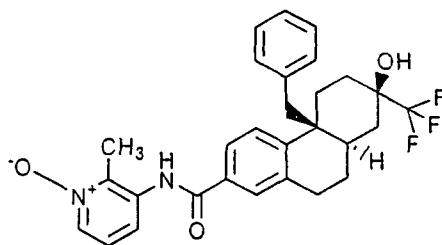
44



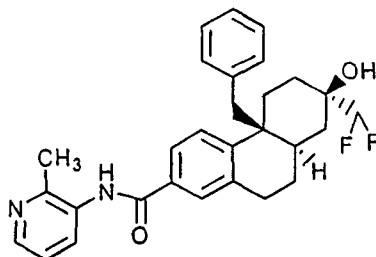
Comparator F is (4βS,7R,8αR,10R)-4β-benzyl-7,10-dihydroxy-N-(2-methylpyridin-3-yl)-7-(trifluoromethyl)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxamide, having the following structure:



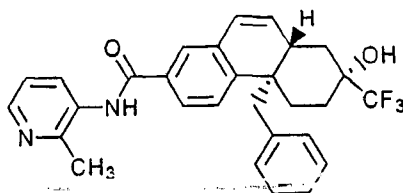
Comparator G is:



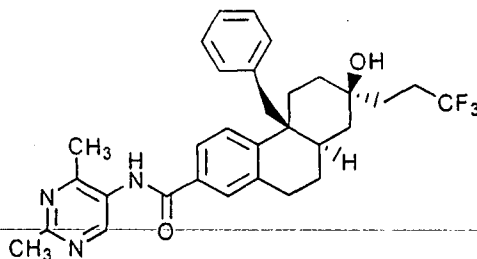
Comparator H is (4βS,7R,8αR)-4β-benzyl-7-(difluoromethyl)-7-hydroxy-N-(2-methylpyridin-3-yl)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxamide, having the following structure:



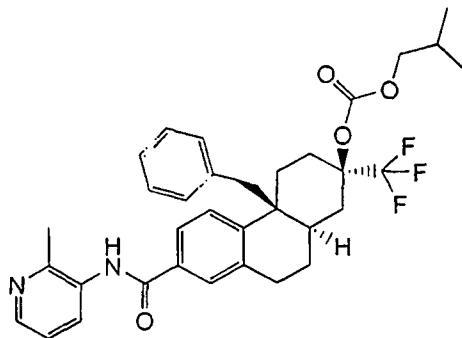
Comparator I is (4βS,7R,8αS)-4β-benzyl-7-hydroxy-N-(2-methylpyridin-3-yl)-7-(trifluoromethyl)-4β,5,6,7,8,8α-hexahydrophenanthrene-2-carboxamide, having the following structure:



Comparator J is (4 β S,7S,8 α R)-4 β -benzyl-N-(2,4-dimethylpyrimidin-5-yl)-7-hydroxy-7-(3,3,3-trifluoropropyl)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahydrophenanthrene-2-carboxamide, having the following structure:



Comparator K is (2R,4 α S,10 α R)-4 α -benzyl-7-((2-methylpyridin-3-yl)carbamoyl)-2-(trifluoromethyl)-1,2,3,4,4 α ,9,10,10 α -octahydrophenanthren-2-yl isobutyl carbonate, having the following structure:



Conversion of Example 2 into Example 1

The Caco-2 cell monolayer is an *in vitro* tissue culture model of the intestinal epithelium. These cells are of human colonic origin and become polarized, fully differentiated enterocytes in 2-3 weeks. Once differentiated, these cells have tight junctions and express various biochemical processes such as active efflux transporters including P-glycoprotein (P-gp). With this model, it is possible to determine the apparent permeability (P_{app}) of a compound across the polarized Caco-2 cell monolayer.

An A $\rightarrow$ B Assay is performed with Caco-2 cell monolayers to determine compound P_{app} from A chamber to B chamber. This P_{app} is representative of luminal (gut) to serosal (blood) compound transport across intestinal epithelium that may be seen during intestinal absorption.

Example 2 did not significantly traverse a Caco-2 cell monolayer (A $\rightarrow$ B, P_{app} = 1.15×10^{-6} cm/sec), whereas application of Example 2 to the apical compartment resulted in a significant elevation of Example 1 in both the apical and basolateral compartments.

The data indicates a mechanism involving dephosphorylation of Example 2 to Example 1 via membrane-bound alkaline phosphatases located in the intestinal epithelia, followed by absorption of Example 1 across the Caco-2 cell monolayer ($A \rightarrow B$, $P_{app} = 37.5e^{-6}$ cm/sec).

- 5 Oral dosing of Example 2 (30 and 200 mg/kg) in portal vein-cannulated rats resulted in the detection of Example 1, but not Example 2, in portal vein plasma samples over a four-hour time period. These results indicated the occurrence of intestinal first-pass hydrolysis of Example 2 to Example 1 and selective intestinal absorption of Example 1.

- Example 2 demonstrates enhanced solubility and intrinsic dissolution, which results in an improved oral absorption profile in rats via increased exposure (1.61 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ [vs. 0.46 $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$ for Example 1]) and C_{max} (0.59 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [vs. 0.13 $\mu\text{g}/\text{mL}$ for Example 1]), as well as decreased time to C_{max} (0.8 hr [vs. 1.5 hr for Example 1]) in dogs. The bioavailability of Example 2 was improved compared with Example 1 in rats (F = 59% for Example 2; F = 17% for Example 1).

IN VITRO DATA

Name	GRFP IC ₅₀ (nM)	IL-6 IC ₅₀ (nM)	IL-6 % Inhibition	TNF α IC ₅₀ (nM)	TNF α % Inhibition
Example 1 HCL salt	1.31	.400	76.9	92.1 (28.8) ^a	77.1 (62) ^a
Example 1 free base		.360	86.1		
Example 2	79.0 (42) ^a	60 (17) ^a	60.2 (80) ^a		
Comparator A	7.10	>36.4	59.9	>1000	35
Comparator B	0.35	4	75.8		
Comparator C	1.22	1.1	82.6		
Comparator D	2.06	1.3	79.8		
Comparator E	1.18	1.1	79.7		
Comparator F	1.9	7	83.3		
Comparator G	2.13	2.1	80.1		
Comparator H	8.03	4.3	64.9		
Comparator I	9.12	2.8	67.5		
Comparator J	4.58	291	55		
Comparator K	895				
Prednisolone	0.526	4.2 (4.6) ^a	102 (100) ^a	14.9 (15.6) ^a	100

^a indicates additional results that were found.

GRFP: Glucocorticoid receptor binding

The glucocorticoid receptor fluorescence polarization ligand binding (GRFP) assay is used to evaluate direct binding of testing compounds to full-length glucocorticoid (GR) protein. Reagents for this assay are purchased from Invitrogen in a test kit. A fluorescent labeled GR ligand is used as a fluorescent tracer and test compounds compete with the fluorescent tracer for GR binding. The change in polarization value in the presence of test compounds is due to binding of test compounds to GR and is used to determine IC_{50} and relative binding affinity of test compounds for GR.

IL-6 IC_{50} and % Inhibition

Human A549 lung epithelial cells (American Type Culture Collection, Rockville, MD) were cultured in Kaighn's F-12K medium with penicillin-streptomycin (10 U/mL) and 10% heat-inactivated fetal bovine serum (all from Invitrogen, Grand Island, NY). A549 cells were plated at a density of 30,000 cells/well in 96-well plates and incubated overnight at 37°C and with 5% CO_2 . The cells were serum-starved by replacing the growth medium with serum-free Kaighn's F-12K medium with penicillin-streptomycin (10 U/mL) and, again, incubating overnight at 37°C and with 5% CO_2 . On the third day, the medium was replaced with fresh serum-free medium and the cells were incubated with or without compound (vehicle was DMSO at 0.1% maximum concentration) for approximately 1 hour and then stimulated with 1 ng/mL recombinant human IL-1 β (R&D Systems, Minneapolis, MN) for 20 hours at 37°C and with 5% CO_2 . Cell supernatants were collected for determination of IL-6 levels using MSD (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD) 96-well Single Spot plates as per the manufacturer's instructions. Plates were read with an MSD Sector Imager 6000. Prednisolone (1 μ M) was used as a maximal inhibitor and defined the 100% inhibition control. Vehicle was used to define the 0% inhibition control. Percent inhibition for each compound concentration, relative to these controls, was calculated using Excel (Microsoft, Redmond, WA). IC_{50} values were generated using GraFit 5.0 data analysis software (Erithacus Software Ltd., Surrey, UK).

TNF α IC_{50} and % Inhibition

Human U937 pre-monocytic cells (American Type Culture Collection, Rockville, MD) were cultured in RPMI 1640 with glutamine (2 mM), penicillin-streptomycin (10

U/mL) and 10% heat-inactivated fetal bovine serum (all from Invitrogen, Grand Island, NY). Cells were differentiated to a monocyte/macrophage phenotype with phorbol 12-myristate 13-acetate (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), 20 ng/mL, overnight. The cells were then centrifuged, the medium aspirated, the cells resuspended in an equal volume of fresh RPMI 1640 medium with glutamine and penicillin-streptomycin and fetal bovine serum as listed above, and incubated for 48 hours at 37°C and with 5% CO₂. Following recovery, the cells were scraped, counted, and plated in accordance to the experimental design prior to stimulation with LPS, as described below.

U937 cells were differentiated and plated at a density of 200,000 cells/well in 96-well plates. Cells were incubated with or without compound (vehicle was DMSO at 1% maximum concentration) for approximately one hour and then stimulated with 100 ng/mL lipopolysaccharide (LPS), E. coli serotype 0111:B4 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) for four hours at 37°C and with 5% CO₂. Cell supernatants were collected for determination of TNF α levels using an in-house sandwich-type ELISA. Mouse anti-human TNF α monoclonal antibody (clone 28401.111) and biotinylated goat anti-human TNF α (R&D Systems, Minneapolis, MN) were used as the capture and detection antibodies, respectively. Streptavidin-horseradish peroxidase (HRP) (R&D Systems, Minneapolis, MN) and K-Blue Substrate/Red Stop (Neogen, Lexington, KY) were used as the detection system. Absorbance was measured at 650 nm. TNF α concentrations were interpolated from a human TNF α recombinant protein (R&D Systems, Minneapolis, MN) standard curve using a four parameter logistics model by Magellan 4.11 data analysis software (Tecan, Durham, NC). Prednisolone (1 μ M) was used as a maximal inhibitor and defined the 100% inhibition control. Vehicle was used to define the 0% inhibition control. Percent inhibition for each concentration of compound, relative to these controls, was calculated using Excel (Microsoft, Redmond, WA). IC₅₀ values were generated using LabStats Fit Curve V4.R7.MO data analysis software (Pfizer Sandwich Laboratories, UK and Tessella Support Services plc, Abingdon UK).

EX VIVO HUMAN WHOLE BLOOD

This study compares the inhibition of IL-1 β , IFN γ , IL-6, and TNF α production in *ex vivo* LPS-stimulated human whole blood by the glucocorticoid receptor (GR) ligands Comparator A, Example 1, and prednisolone.

60

Venous blood from human donors was collected as 10 ml aliquots in tubes containing sodium heparin (BD Vacutainer from Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NY). Blood was added to sterile polystyrene round bottom 96-well tissue culture plates (Corning Costar) at 100 μ l/well, omitting the outside wells. Media (RPMI Medium 1640 with L-glutamine, Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA) was added to the blood in 90 μ l aliquots for a total volume of 190 μ l. Outside wells were filled with 200 μ l of media. Blood was placed in a humidified 37°C incubator with 5% CO₂ while compounds were prepared (nearly 60 minutes).

Compounds were prepared from 10 mM stock solutions in dimethylsulfoxide (DMSO, Sigma-Aldrich). Stock compound was diluted serially 1/3 in DMSO (i.e. 5 μ l compound + 10 μ l DMSO), followed by diluting each serial dilution 1/167 into vehicle solution (2% DMSO, 30% ethanol (AAPER Alcohol and Chemical Company), and 68% phosphate buffered saline (Dulbecco's Phosphate Buffered Saline without calcium chloride without magnesium chloride, Invitrogen Corporation, Carlsbad CA). Compound or vehicle was added to blood in 10 μ l aliquots as triplicates. The final concentration of each prednisolone and Example 1 in the assay ranged from 1000 nM to 0.457 nM. Comparator A concentrations ranged from 3000 nM to 1.4 nM. Final DMSO and ethanol concentrations in the assay were 0.1% and 1.5%. The samples were gently triturated twice to mix and replaced in the incubator. LPS stock (E. coli serotype 0111:B4, Sigma-Aldrich), stored in aliquots of 100 μ g/ml in RPMI at -20°C, was diluted 1/50 in RPMI to make a working stock solution. After 60 minutes of incubation, 10 μ l of the prepared LPS working stock was added to the blood to a final concentration of 100 ng/ml, omitting wells to be used as negative control. The samples were again gently triturated and the plates incubated overnight for 22 hours. Following incubation, the blood was centrifuged at 1500 x g for 5 minutes and the plasma removed to either freeze at -20°C or assay for cytokine release.

IL-1 β , IFN γ , IL-6, and TNF α protein levels were measured using Meso Scale assay kits (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD). Reagents were allowed to come to room temperature. Meso Scale plates were blocked with 30 μ l of human plasma/serum assay diluent with gentle shaking for 60 minutes at room temperature. Plates were washed 3x with wash buffer (PBS, Invitrogen Corporation, with 0.05% Tween-20, Sigma-Aldrich). Calibrators for standard curves were prepared in human plasma/serum assay diluent as a 1/5 serial dilution to achieve final concentrations

b1

ranging from 50000 pg/ml to 3.2 pg/ml. Samples and calibrators were added at 20 μ l/well, then incubated at room temperature with gentle shaking for 90 minutes. Plates were again washed 3 times with wash buffer. Detection antibody was diluted in human plasma/serum antibody diluent to 1 μ g/ml and added to the plate at 20 μ l/well. Plates were incubated as before for 60 minutes and washed again. Read Buffer T (4x) was diluted 1:1 with mqH_2O to 2 times concentration and 150 μ l added to each well. Plates were analyzed on the SECTOR Imager 6000 (Meso Scale Discovery) to generate raw signal values.

IL-1 β , IFN γ , IL-6, and TNF α sample values were verified to be within the calibrator standard curves. Individual values were compared to positive and negative controls (vehicle treated blood with LPS and vehicle treated blood without LPS, respectively) to generate % inhibition. Triplicate values were averaged for each donor. The values for two donors were averaged (only one donor was used for IL-1 β) and graphed using 4-parameter fit curves in the GraFit 5.0.11 application.

Mean Values of Prednisolone Inhibition

Concentration (nM)	IFN γ (% inhibition)	TNF α (% inhibition)	IL-1 β (% inhibition)	IL-6 (% inhibition)
1000	99.95181	93.85394	94.92022	62.08045
333.3333	99.7687	88.98186	92.93646	40.25956
111.1111	94.99872	62.38366	73.1561	11.68419
37.03704	63.51763	27.66996	37.74411	5.032463
12.34568	25.733	12.86882	33.55115	-0.41737
4.115226	5.164324	5.308603	20.98221	-0.23188
1.371742	10.85844	6.613491	15.1055	-0.94069
0.457247	4.925277	0.525846	9.64873	2.220454

Mean Values of Example 1 Inhibition

Concentration (nM)	IFN γ (% inhibition)	TNF α (% inhibition)	IL-1 β (% inhibition)	IL-6 (% inhibition)
1000	78.72981	38.06288	53.51043	8.053268
333.3333	73.47381	36.04024	57.75726	2.1505
111.1111	60.63503	27.35287	39.67173	0.943985
37.03704	51.01941	18.68644	38.24203	-0.82783
12.34568	26.70902	9.415215	21.54167	-0.36893

4.115226	-3.18296	-1.31222	11.20262	-1.06692
1.371742	19.77643	7.869405	22.38355	3.32595
0.457247	16.92723	8.956175	23.37486	-1.36819

Mean Values of Comparator A Inhibition

Concentration (nM)	IFN γ (% inhibition)	TNF α (% inhibition)	IL-1 β (% inhibition)	IL-6 (% inhibition)
3000	28.02163	-3.03631	16.37219	-1.97032
1000	16.52981	-5.43701	14.96801	-0.88954
333.3333	-6.31952	-4.61436	12.23526	-2.8341
111.1111	8.737671	-3.82374	8.59594	-3.49518
37.03704	-9.80677	-4.19291	17.27236	-3.52461
12.34568	0.016012	0.030908	22.84851	-1.12581
4.115226	-1.69672	-0.86051	22.01534	-4.3436
1.371742	18.09167	18.1316	31.97474	1.459164

5 IN VIVO DATA

Name	Therapeutic mCIA (ED ₅₀ dose)	Therapeutic mCIA (ED ₈₀ dose)	TNF α Suppression (ED ₅₀ dose)	TNF α Suppression (ED ₈₀ dose)	Osteocalcin Suppression (ED ₅₀ dose)	Osteocalcin Suppression (ED ₈₀ dose)
Example 1 free base	0.4	1.5	0.46	1.82	2.91	>10
Comparator A			60		37	
Comparator B	2.9	>10	1.64	2.91	2.39	>10
Comparator C	2.0	>10	0.27	1.33	1.01	2.84
Comparator D			1.47	>20	1.18	3.06
Comparator E	0.5	2.6	0.14	1.18	0.17	1.71
Comparator F	>10	>10	2.11	5.67	1.19	>10
Comparator G	0.6	3.0	2.90	3.33	1.12	7.27
Comparator H			0.23	0.72	0.51	1.46
Comparator I	17.0	>20	0.73	5.45	5.20	>20
Comparator J	3.0	>20	0.09	0.79	0.73	3.58
Prednisolone	1.1	5.5	0.90	2.10	1.00	6.80

Example 1 is a potent compound in disease models.



Mouse Collagen-induced arthritis (mCIA)

Mouse Collagen-induced arthritis is a commonly used chronic, preclinical model of rheumatoid arthritis in which joint swelling and bone destruction occur following immunization with type II collagen. Reduction of disease incidence and severity has been shown previously to be predictive of disease-modification and signs and symptoms mitigation, respectively, in a clinical setting.

In the traditional mCIA model, male DBA/J mice were immunized with 50 µg chick type II collagen (cCII) in complete Freund's adjuvant and then boosted 21 days later with 50 µg cCII in incomplete Freund's adjuvant. Treatment with compounds was initiated on the morning of the boost and continued for 56 days. The effectiveness of treatment was measured by disease incidence (i.e., number of mice showing any sign of disease) and disease severity, both of which were measured twice a week.

In the therapeutic mCIA model, induction of disease incidence and severity was synchronized via LPS stimulation. Male DBA/J mice were immunized with 100 µg of bovine type II collagen (bCII) on day 0. All mice received an intraperitoneal injection of 20 µg of LPS on day 28 and disease was allowed to develop through day 34. At day 34, all mice had disease (incidence = 100%) with an average severity score of seven. Dosing of compounds was initiated in the therapeutic mode on day 34 and continued through day 49. Different treatments were compared by measuring the decrease in incidence (i.e., resolution of disease) and the decrease in severity of paw swelling over time.

Definition of mCIA severity scores (maximal score of 12/mouse)

Severity Score	Definition
1	Any redness or swelling of digits or paw
2	Gross swelling of the whole paw or deformity
3	Ankylosis of joints

Example 1 had scores less than 2 for mCIA (ED₈₀) and less than 1 for mCIA (ED₅₀).

TNF α and Osteocalcin (OC) Suppression

The compounds were weighed and suspended in a vehicle of 0.5% methylcellulose/0.025% tween 20 (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Compound

bl

suspensions were homogenized using a Polytron PT-3100 tissue homogenizer to create a very fine suspension and were then sonicated for 10 minutes using a water bath sonicator. Aliquots of each suspension were made for daily dosing at 0.2 ml/dose. Swiss Webster female mice, 10-12 weeks old, 28-29 grams, (Taconic, Germantown, NY) were used in accordance with the guidelines of the Institutional Animal Care and Use Committee and in accordance with NIH guidelines on laboratory animal welfare. Mice were acclimated in the Pfizer animal facility for three to seven days prior to being utilized in a study. Prednisolone and compounds were administered by oral gavage for a total of 28 days. Each treatment group contained 5-10 mice. To establish a dosing regimen for the studies, a pilot pharmacodynamic time course experiment was conducted to quantify TNF α repression after a single ED₈₀ dose. Compounds which suppressed TNF α were dosed QD, while compounds which did not suppress TNF α >50% out to 24h were dosed BID.

Body weights were measured on the first and last day of each experiment.

Blood samples were obtained after three weeks of dosing for a steady-state pharmacokinetic (PK) analysis. To assess compound effects on LPS-induced TNF α , all mice received an intraperitoneal injection of LPS (*Salmonella typhosa*, L-7895; Sigma-Aldrich, St. Louis,) 2.5 hr after the last dose on day 28. Mice were sacrificed 90 minutes after LPS administration. Serum samples were quantified for osteocalcin and TNF α using the multiplex assays (Linco Research, Inc, St. Charles, MO; Luminex 100, Austin, TX). Samples were diluted 1:20 and the assay was run according to manufacturer's instructions. The osteocalcin standard was purchased separately (Biomedical Technologies Inc., Stoughton, MA). Mice were fasted for 4 hours before serum was collected for TNF α , and osteocalcin levels. For each experiment, outliers were detected by calculating the number of standard deviations from the mean of the group. If the value being examined was more than 2.5 standard deviations from the mean, it was excluded from the rest of the calculations.

Percent inhibition values were then calculated for each mouse using the means of the vehicle and 10 mg/kg prednisolone control groups. The individual mouse percent inhibition values were fit to a four-parameter logistic model using the dose mean for each group. Since all four parameters were estimated and the lower plateau was not fixed at 0% and the upper plateau was not fixed at 100%, the ED₅₀ and ED₈₀ values

69

were calculated by using an inverse calibration formula for a response equal to 50% or 80% inhibition or activation.

ED₅₀ and ED₈₀ values are the doses (in mg/kg) required to result in a 50% or 80% effect, respectively, on a particular endpoint. ED₅₀ and ED₈₀ values were obtained for the various endpoints using a four-parameter logistic fit. For compounds which were tested multiple times, ED₅₀ and ED₈₀ values were obtained using four-parameter logistic fits of the combined data from multiple experiments. For compounds which did not achieve an 80% effect, the ED₈₀ value is designated as >10 mg/kg or >20 mg/kg, depending on the highest dose tested.

House dust mite model of asthma

Mice were treated with three doses of Example 1 (0.1, 1 and 10 mg/kg, p.o., b.i.d.) or prednisolone (0.1, 1 and 10 mg/kg, p.o., b.i.d.). Separate groups of animals were treated with the respective vehicles, and no effect inflammatory cell influx into house dust mite-induced BAL inflammatory cell influx was demonstrated.

Example 1 mitigated cell infiltration into BAL fluid dose-dependently. Evaluation of BAL fluid cell types using flow cytometry showed significant reductions in eosinophils, neutrophils, lymphocytes and T-cells. In comparison, prednisolone conferred similar reductions in BAL fluid cell infiltration at similar doses (data not shown).

Example 1 (mg/kg)	Total cells (% inhibition)	Eosinophils (% inhibition)	Neutrophils (% inhibition)	Lymphocytes (% inhibition)	T-cells (% inhibition)
0.1	22	42	29	34	39
1	72	97	97	94	88
10	83	99	100	97	96

DISSOCIATION INDEX

A dissociation index (DI) was chosen as a measurement to quantify the dissociation of compounds relative to that of prednisolone in terms of biomarkers of anti-inflammatory efficacy and side-effects. Dissociation indices were calculated using clinically relevant biomarkers that could be utilized in early clinical development. Serum

6

osteocalcin and LPS-induced serum $\text{TNF}\alpha$ are accepted clinically as predictive for bone formation and anti-inflammatory efficacy, respectively.

The dissociation index was based on the following tenets:

- 1) Dissociation required a dose-margin between biomarkers of inflammation and side-effects and was defined by the formula:

$$\text{DI} = \frac{\text{Side-effect endpoint}}{\text{Anti-inflammatory endpoint}}$$

For example: $\text{DI} = \frac{\text{osteocalcin suppression (OC) ED}_{50} \text{ (or EAUC}_{50})}{\text{TNF}\alpha \text{ suppression (TNF}\alpha) \text{ ED}_{50} \text{ (or EAUC}_{50})}$

- 2) The DI of a compound can be considered relative to that observed with prednisolone, its clinical comparator. The corrected or normalized DI was defined as compound DI divided by prednisolone DI.

DISSOCIATION INDEX (ED_{50} and ED_{80})

NAME	OC/ $\text{TNF}\alpha$ (ED_{50})	OC/ $\text{TNF}\alpha$ (ED_{80})
Example 1 free base	6.33	>5.49
Comparator A	0.62	
Comparator B	1.46	>3.44
Comparator C	3.74	2.14
Comparator D	0.80	<0.15
Comparator E	1.21	1.45
Comparator F	0.56	>1.76
Comparator G	0.39	2.18
Comparator H	2.22	2.03
Comparator I	7.12	>3.67
Comparator J	8.11	4.53
Prednisolone	1.11	3.24

Example 1, Comparator I, Comparator J had a DI greater than 5 for OC/ $\text{TNF}\alpha$ (ED_{50}). Example 1 and Comparator J had a DI greater than 4 for OC/ $\text{TNF}\alpha$ (ED_{80}).

CORRECTED DISSOCIATION INDEX (ED₅₀ and ED₈₀) BASED ON PREDNISOLONE

Name	OC/TNF α (ED ₅₀)	OC/TNF α (ED ₈₀)
Example 1 free base	5.70	>1.69
Comparator A	0.56	
Comparator B	1.32	>1.06
Comparator C	3.37	0.66
Comparator D	0.73	< 0.05
Comparator E	1.09	0.45
Comparator F	0.50	> 0.54
Comparator G	0.35	0.67
Comparator H	2.00	0.63
Comparator I	6.41	> 1.13
Comparator J	7.31	1.40

Example 1, Comparator I, Comparator J had a corrected DI greater than 5 for
 5 OC/TNF α (ED₅₀). Example 1 had a corrected DI greater than 1.50 for OC/TNF α (ED₈₀).

EAUC₅₀ AND EAUC₈₀

10 Drug exposure, defined as drug plasma concentrations integrated over time (AUC), was used to make pharmacodynamic comparisons between prednisolone and Example 1. Due to the short half-lives of prednisolone and Example 1 in the mouse, AUC(0-4 hr) values accounted for more than 95% of the AUC(0-24 hr) values. Due to blood volume sampling limitations in mice, AUC(0-4 hr) values were used to make pharmacodynamic comparisons.

	Prednisolone (AUC 0-4 hr) ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)		Example 1 (AUC 0-4 hr) ($\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{mL}$)	
	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀
Serum TNF α	0.31	0.95	0.22	0.33
Serum osteocalcin	0.56	1.60	1.30	4.20
Cortical bone formation rate (BFR)	0.09	0.60	0.27	1.55
Disease incidence (traditional mCIA)	0.25	0.60	0.04	0.10
Disease severity (therapeutic mCIA)	0.38	1.19	0.09	0.19

Dissociation Index				
OC/TNF α^a	0.7	1.7	5.9	12.7
BFR/ TNF α^a	0.1	0.6	1.2	4.7
BFR/disease incidence ^b	0.4	1.0	6.8	15.5
BFR/disease severity ^b	0.2	0.5	3.0	8.2
Corrected Dissociation Index				
OC/TNF α^a			8.4	7.5
BFR/ TNF α^a			12.0	7.8
BFR/disease incidence ^b			17.0	15.5
BFR/disease severity ^b			15.0	16.4

^a Data compared in mice in the same model.

^b Data compared across mice in different models using plasma exposure to normalize. BFR, bone formation rate.

EAUC₅₀ AND EAUC₈₀ DATA SET 2

Parameter	Example 1		Prednisolone	
	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀
28-day repeat dose model				
Serum TNF α	0.22	0.33	0.82	0.95
Serum osteocalcin (OC)	1.31	4.15	0.56	1.64
Cortical bone formation rate (BFR)	0.35	1.76	0.10	0.66
Disease incidence (traditional mCIA)	—	0.10	—	0.50
Disease severity (therapeutic mCIA)	0.09	0.19	0.38	1.19
Disease incidence (therapeutic mCIA)	0.12	0.33	0.68	1.38
Corrected dissociation indices (DI)	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀		
OC / TNF α	8.6	7.4		
BFR / TNF α	16.0	7.6		
BFR / disease incidence	14.5	10.6		
BFR / disease severity	13.0	15.5		

Example 1 is a dissociated compound. Example 1 had a DI and a corrected DI for EAUC₅₀ and EAUC₈₀ greater than 7 for OC/TNF α , BFR/TNF α , BFR/disease incidence, and BFR/disease severity.

69

Cortical Bone Histomorphometry to determine BFR

During the in-life portion of each study, mice received two intraperitoneal (i.p.) injections (20 mg/kg, 100 ml/mouse) of calcein (C-0875; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) on days 1 and 26 for bone histomorphometry measurements. Calcein incorporates into the bone mineral and allows measurement of bone formation rate. Calcein was dissolved in 2% sodium bicarbonate. During the tissue harvest, the left tibiae were excised and cleaned for cortical histomorphometry measurements. After all skin and muscle were removed, tibiae were placed in 70% ethanol (4°C) in the dark for a minimum of 24 hours.

Ground transverse sections were used for histomorphometric analysis of cortical bone. Bones were sectioned using a low-speed saw (Isomet, Buehler, Lake Bluff, IL) equipped with a diamond wafer blade. The end of each tibia was removed proximal to tibia-fibula synostosis and a 75 mm cross-section was cut. Using a roughened glass plate and a cork, sections were ground to ~25 mm until transparent and all labels were distinguishable under a fluorescent microscope. Sections were dehydrated using the following solutions for a minimum of two minutes each: 1) 70% ethanol, 2) 95% ethanol, 3) 100% ethanol, 4) 50/50 ethanol/xylene, and 5) xylene (twice) (#534056; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Sections were mounted using Eukitt Quick Mounting Medium (#03989, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) after which coverslip was applied. Using the Osteomeasure Bone Analysis Program (Osteometrics, Inc., Decatur, Georgia), bone formation rate was calculated by tracing the 1st and 3rd fluorescent labels and the inner and outer perimeter of the bone. Bone formation rate was calculated by the following equation: (Inter-label width/Label interval) * (Labeled perimeter/Bone perimeter). At least five samples were measured from each treatment group in each study.

Dissociation Index				
OC/TNF α^a	0.7	1.7	5.9	12.7
BFR/ TNF α^a	0.1	0.6	1.2	4.7
BFR/disease incidence ^b	0.4	1.0	6.8	15.5
BFR/disease severity ^b	0.2	0.5	3.0	8.2
Corrected Dissociation Index				
OC/TNF α^a			8.4	7.5
BFR/ TNF α^a			12.0	7.8
BFR/disease incidence ^b			17.0	15.5
BFR/disease severity ^b				
			15.0	16.4

^a Data compared in mice in the same model.

^b Data compared across mice in different models using plasma exposure to normalize.
BFR, bone formation rate.

EAUC₅₀ AND EAUC₈₀ DATA SET 2

Parameter	Example 1		Prednisolone	
	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀
28-day repeat dose model				
Serum TNF α	0.22	0.33	0.82	0.95
Serum osteocalcin (OC)	1.31	4.15	0.56	1.64
Cortical bone formation rate (BFR)	0.35	1.76	0.10	0.66
Disease incidence (traditional mCIA)	—	0.10	—	0.50
Disease severity (therapeutic mCIA)	0.09	0.19	0.38	1.19
Disease incidence (therapeutic mCIA)	0.12	0.33	0.68	1.38
Corrected dissociation indices (DI)	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀		
OC / TNF α	8.6	7.4		
BFR / TNF α	16.0	7.6		
BFR / disease incidence	14.5	10.6		
BFR / disease severity	13.0	15.5		

Example 1 is a dissociated compound. Example 1 had a DI and a corrected DI for EAUC₅₀ and EAUC₈₀ greater than 7 for OC/TNF α , BFR/TNF α , BFR/disease incidence, and BFR/disease severity.

69

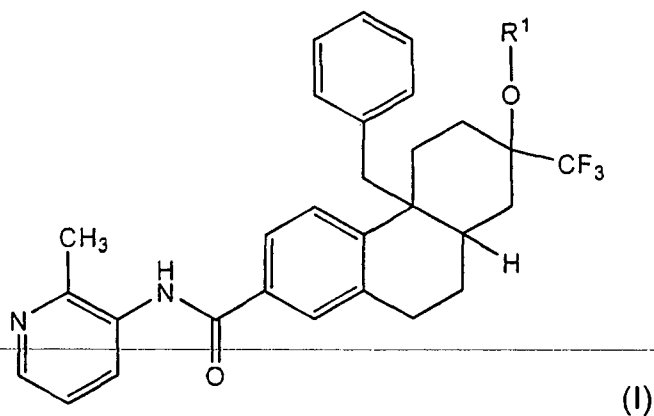
Cortical Bone Histomorphometry to determine BFR

During the in-life portion of each study, mice received two intraperitoneal (i.p.) injections (20 mg/kg, 100 ml/mouse) of calcein (C-0875; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) on days 1 and 26 for bone histomorphometry measurements. Calcein incorporates into the bone mineral and allows measurement of bone formation rate. Calcein was dissolved in 2% sodium bicarbonate. During the tissue harvest, the left tibiae were excised and cleaned for cortical histomorphometry measurements. After all skin and muscle were removed, tibiae were placed in 70% ethanol (4°C) in the dark for a minimum of 24 hours.

Ground transverse sections were used for histomorphometric analysis of cortical bone. Bones were sectioned using a low-speed saw (Isomet, Buehler, Lake Bluff, IL) equipped with a diamond wafer blade. The end of each tibia was removed proximal to tibia-fibula synostosis and a 75 mm cross-section was cut. Using a roughened glass plate and a cork, sections were ground to ~25 mm until transparent and all labels were distinguishable under a fluorescent microscope. Sections were dehydrated using the following solutions for a minimum of two minutes each: 1) 70% ethanol, 2) 95% ethanol, 3) 100% ethanol, 4) 50/50 ethanol/xylene, and 5) xylene (twice) (#534056; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Sections were mounted using Eukitt Quick Mounting Medium (#03989, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) after which coverslip was applied. Using the Osteomeasure Bone Analysis Program (Osteometrics, Inc., Decatur, Georgia), bone formation rate was calculated by tracing the 1st and 3rd fluorescent labels and the inner and outer perimeter of the bone. Bone formation rate was calculated by the following equation: (Inter-label width/Label interval) * (Labeled perimeter/Bone perimeter). At least five samples were measured from each treatment group in each study.

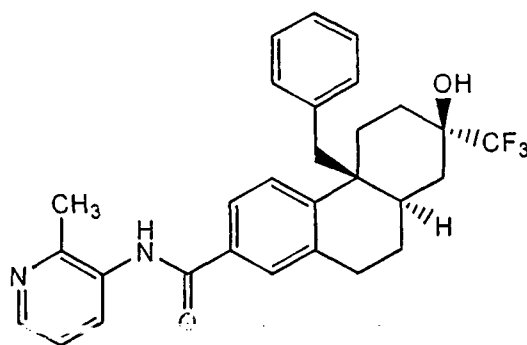
We claim:

1. A compound of Formula I:



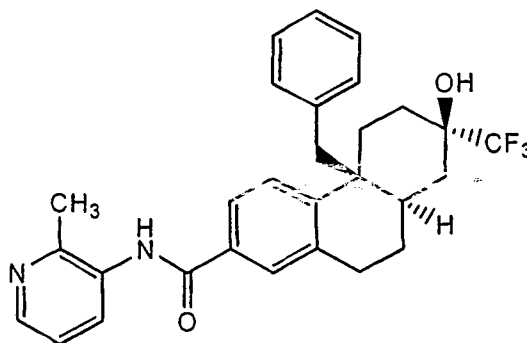
wherein R¹ is -H;
or salt thereof.

2. The compound of claim 1, wherein the compound is:



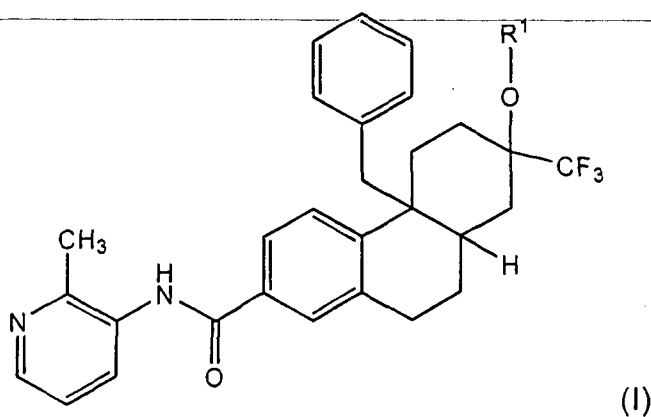
or salt thereof.

3. The compound of claim 1, wherein the compound is:



4. A hydrochloride salt of the compound of claim 1.

5. A composition comprising the compound of claim 1 or salt thereof and a carrier.
6. A method comprising contacting a glucocorticoid receptor with the compound of claim 1 or salt thereof.
7. A method of treating a condition mediated by glucocorticoid receptor activity in a subject comprising administering to the subject a compound of Formula I:



wherein R^1 is $-H$;
or salt thereof.

8. The method of claim 7, wherein the condition is an inflammation related condition.
9. The method of claim 7, wherein the condition is asthma, dermatitis, inflammatory bowel disease, Alzheimer's disease, psychotic major depression, neuropathy, transplant rejection, multiple sclerosis, chronic uveitis, or chronic obstructive pulmonary disease.
10. The method of claim 7, wherein the condition is rheumatoid arthritis.
11. The method of claim 7, wherein the condition is dermatitis.
12. The method of claim 7, wherein the condition is asthma.
13. The method of claim 7, wherein the condition is Alzheimer's disease.



14. The method of claim 7, wherein the condition is inflammatory bowel disease.

15. A method of mitigating side effects associated with glucocorticoid receptor
modulation, comprising administering a compound of claim 1 to a subject.

5

10

15

20

25

30

COMPUESTOS TRICÍCLICOS, COMPOSICIONES, Y PROCEDIMIENTOS

CAMPO DE LA INVENCIÓN

- 5 La presente invención incluye compuestos que son moduladores del receptor de glucocorticosteroides. La presente invención también incluye composiciones y procedimientos de uso de los compuestos y composiciones.
-

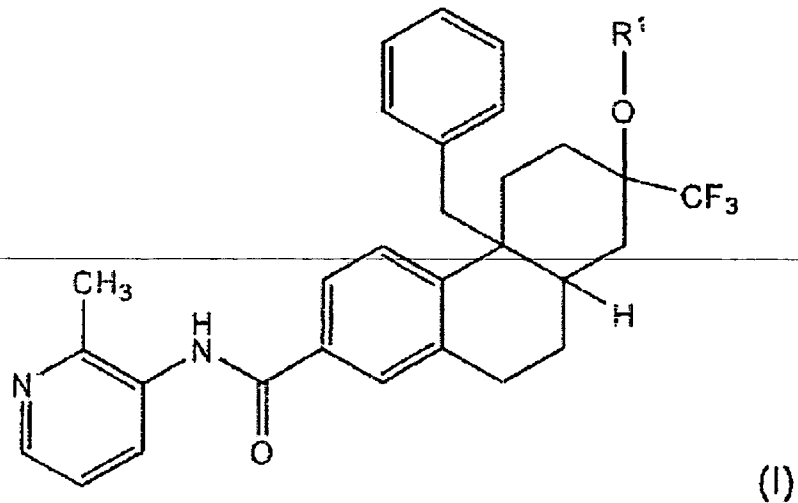
ANTECEDENTES DE LA INVENCIÓN

- 10 Los moduladores del receptor de glucocorticosteroides son ligandos del receptor de glucocorticosteroides que se usan para tratar una diversidad de afecciones debido a su potente actividad antiinflamatoria, antiproliferativa e inmunomoduladora. J. Miner, et al, Expert Opin. Investig. Drugs (2005) 14 (12): 1527 - 1545.
- 15 Los ejemplos moduladores de receptor de glucocorticosteroides incluyen dexametasona, prednisona, prednisolona, RU-486, y como se describe en los documentos WO 2000/66522 y WO 2004/005229.
- El tratamiento con moduladores del receptor de glucocorticosteroides está a menudo asociado a efectos secundarios, tales como pérdida ósea y
- 20 osteoporosis.

La identificación de un modulador del receptor de glucocorticosteroides que es eficaz, potente, y tiene efectos secundarios mitigados desempeña una función médica.

SUMARIO DE LA INVENCION

En una realización, la invención se refiere a un compuesto de Fórmula I:



5

en la que R^1 es -H o $-P(O)(OH)_2$; o una sal del mismo.

En otra realización, la invención se refiere a composiciones que comprenden un compuesto de Fórmula I y un vehículo. En otra realización, la invención se refiere a un procedimiento de poner en contacto un receptor de glucocorticosteroides con un compuesto de Fórmula I. Una realización adicional incluye procedimientos de tratamiento de una afección en un sujeto mediado por la actividad del receptor de glucocorticosteroides mediante la administración al sujeto de un compuesto de Fórmula I.

15

DESCRIPCIÓN DETALLADA

Esta descripción detallada de las realizaciones se pretende solamente para que otros expertos en la técnica se familiaricen con las invenciones, los principios, y las aplicaciones prácticas de manera que otros expertos en la

técnica puedan adaptar y aplicar las invenciones en sus numerosas formas, de manera que se adecuen de la mejor manera a los requerimientos de un uso particular. Por lo tanto, estas invenciones, no se limitan a las realizaciones descritas en esta memoria descriptiva, y se pueden modificar.

5

A. Definiciones

Para los términos definidos a continuación, se aplicarán estas definiciones, salvo que se proporcione una definición diferente en las reivindicaciones o en otra parte en esta memoria descriptiva.

- 10 El término "vehículo" describe un ingrediente distinto de un compuesto. Los vehículos pueden ser material o vehículo farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos incluyen carga, diluyente, excipiente, disolvente o material de encapsulación líquido o sólido.

- La frase "poner en contacto un receptor de glucocorticosteroides" significa que los contactos *in vivo*, *ex vivo*, o *in vitro* se hacen con un receptor de glucocorticosteroides e incluye la administración de un compuesto o sal de la presente invención a un sujeto que tiene un receptor de glucocorticosteroides, así como, por ejemplo, la introducción de un compuesto o sal de la invención en una muestra que contiene una preparación celular, no purificada, o purificada que contiene el receptor de glucocorticosteroides. Por ejemplo, poner en contacto incluye las interacciones entre el compuesto y el receptor, tal como unión.
- 15
- 20

- La frase "afección relacionada con inflamación" incluye artritis, fibromialgia, espondilitis anquilosante, psoriasis, lupus sistémico eritematoso, gota, espondiloartropía no diferenciada, espondiloartritis de aparición juvenil,
- 25

enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, síndrome del intestino irritable, enfermedad inflamatoria del intestino y dolor asociado a las afecciones anteriormente mencionadas. Los ejemplos específicos de artritis incluyen artritis reumatoide, osteoartritis, artritis reactiva, artritis infecciosa, artritis psoriática, poliartritis, artritis juvenil, artritis reumatoide juvenil, artritis reactiva juvenil, y artritis psoriática juvenil.

El término "modulación" o "moduladores" incluye antagonista, agonista, antagonistas parciales, y agonistas parciales.

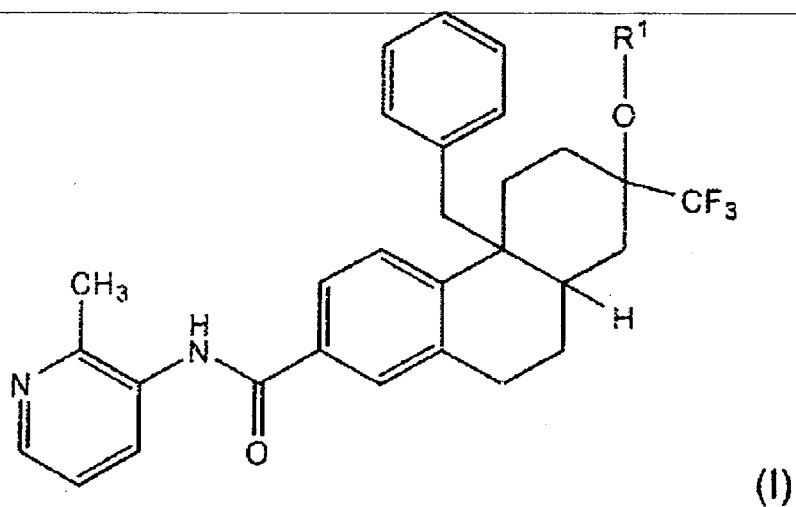
El término "sujeto" se refiere a cualquier animal, incluyendo mamíferos, tales como ratones, ratas, otros roedores, conejos, perros, gatos, cerdos, ganado, ovejas, caballos, primates, o seres humanos.

El término "tratando" (y términos correspondientes "tratar" y "tratamiento") incluye tratamiento paliativo, restaurador, y preventivo ("profiláctico") de un sujeto. El término "tratamiento paliativo" se refiere a tratamiento que elimina o reduce el efecto o intensidad de una afección en un sujeto sin curar la afección. El término "tratamiento preventivo" (y el término correspondiente "tratamiento profiláctico") se refiere a tratamiento que previene la aparición de una afección en un sujeto. El término "tratamiento restaurador" ("curativo") se refiere al tratamiento que detiene la progresión de, reduce las manifestaciones patológicas de, o elimina enteramente una afección en un sujeto. El tratamiento se puede hacer con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto, sal o composición que provoca la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema o sujeto que pretende un individuo tal como un investigador, doctor, veterinario, o clínico.

B. Compuestos

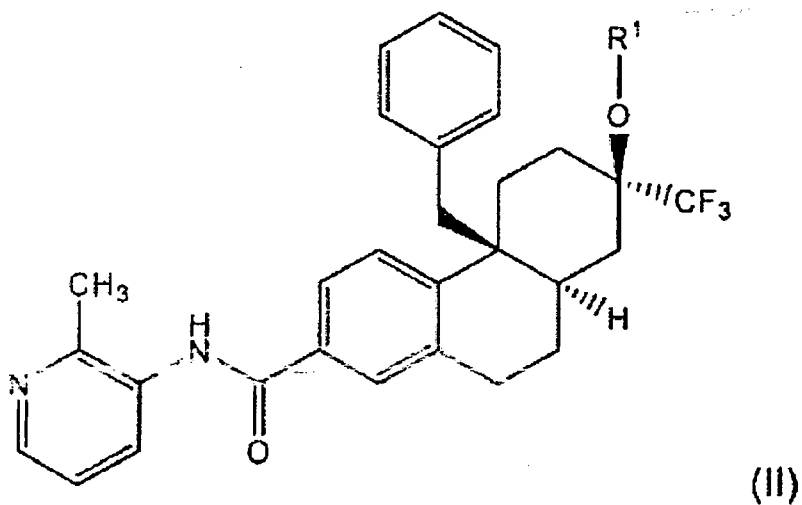
La presente invención comprende, en parte, compuestos tricíclicos de fórmula I. Estos compuestos son útiles como moduladores del receptor de 5 corticoides.

La presente invención incluye un compuesto de fórmula I



en la que R¹ es -H o -P(O)(OH)₂; o sal del mismo.

La presente invención incluye un compuesto de fórmula II:



en la que R^1 es -H o $-P(O)(OH)_2$; o sal del mismo.

La presente invención incluye los compuestos de Fórmula I o II en la que R^1 es -H o - sal del mismo.

La presente invención incluye los compuestos de Fórmula I o II en la que
5 R^1 es $-P(O)(OH)_2$; o sal del mismo.

La presente invención incluye (4 β S,7R,8 α R)-4 β -bencil-7-hidroxi-N-(2-metilpiridin-3-il)-7-(trifluorometil)-4 β -5,6,7,8,8 α ,9,10-octahidropfenantren-2-

carboxamida o sal del mismo; y fosfato ácido (2R, 4 α S,10 α R)- 4 α -bencil-7-((2-metilpiridin-3-il)carbamoil)-2-(trifluorometil)-1,2,3,4,4 α ,9,10,10 α -

10 octahidropfenantren-2-il dihidrógeno fosfato o sal del mismo.

Las sales de los compuestos de la presente invención incluyen las sales de adición de ácidos y sales básicas (incluyendo disales) de los mismos. En una realización, la presente invención incluye una sal clorhidrato del compuesto de fórmula I. En otra realización, la presente invención incluye una sal de calcio
15 del compuesto de Fórmula I. En otra realización, la presente invención incluye una sal de sodio del compuesto de Fórmula I.

Las sales de adición de ácido adecuadas se forman a partir de ácidos que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales acetato, aspartato, benzoato, besilato, bicarbonato/carbonato, bisulfato/sulfato, borato,
20 camsilato, citrato, edisilato, esilato, formiato, fumarato, gluceptato, gluconato, glucuronato, hexafluorofosfato, hibenzato, clorhidrato/cloruro, bromhidrato/bromuro, yodhidrato/yoduro, isetionato, lactato, malato, maleato, malonato, mesilato, metilsulfato, naftilato, 2-napsilato, nicotinato, nitrato, orotato, oxalato, paimitato, pamoato, fosfato/fosfato ácido/fosfato diácido,
25 sacarato, estearato, succinato, tartrato, tosilato y trifluoroacetato.

Las sales básicas adecuadas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales de aluminio, de arginina, de benztatina, de calcio, de colina, de dietilamina, de diolamina, de glicina, de lisina, de magnesio, de meglumina, de olamina, de potasio, de sodio, de
5 trometamina y de cinc.

Para una revisión sobre las sales adecuadas, véase "Handbook of Pharmaceutical Salts: Properties, Selection, and Use" por Stahl y Wermuth
(Wiley - VCH, Weinheim, Alemania, 2002).

Una sal se puede preparar fácilmente mezclando conjuntamente
10 soluciones de compuestos de la presente invención y el ácido o base deseado, según sea apropiado. La sal puede precipitar de la solución y recogerse mediante filtración o se puede recuperar mediante evaporación del disolvente. El grado de ionización en la sal puede variar desde completamente ionizada a casi no ionizada.

15 Los compuestos de la presente invención se pueden administrar como profármacos. De este modo, ciertos derivados que pueden tener poca o ninguna actividad farmacológica por ellos mismos pueden, cuando se administran en el interior o sobre el cuerpo, convertirse en compuestos de la presente invención que tienen la actividad deseada, por ejemplo, mediante
20 escisión hidrolítica. Tales derivados se denominan 'profármacos'. Información adicional sobre el uso de profármacos se puede encontrar en 'Pro - drugs as Novel Delivery Systems', Vol. 14, ACS Symposium Series (T. Higuchi y W. Stella) y 'Bioreversible Carriers in Drug Design', Pergamon Press, 1987 (ed. E. B. Roche, American Pharmaceutical Association).

25 Los profármacos pueden, por ejemplo, producirse reemplazando

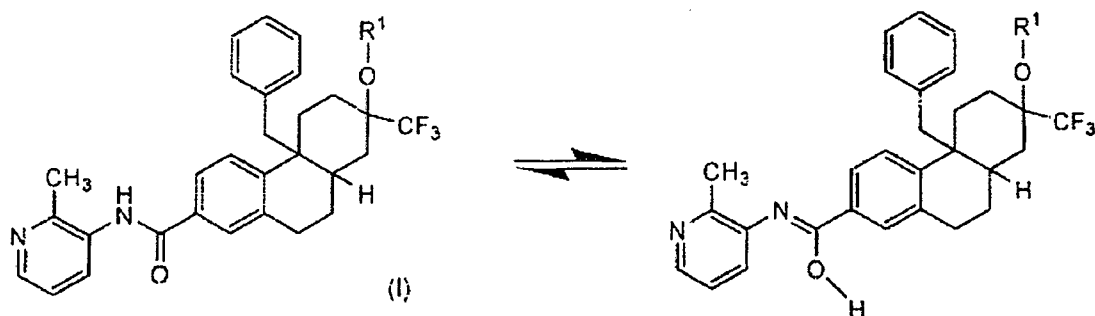
funcionalidades apropiadas presentes en los compuestos de la presente invención con ciertos restos conocidos por los expertos en la técnica como 'pro - restos' como se describe, por ejemplo, en "Design of Prodrugs" por H. Bundgaard (Elsevier, 1985).

5 Algunos ejemplos de dichos profármacos incluyen:

- (i) cuando el compuesto contiene una funcionalidad alcohol (-OH),
un éter del mismo, por ejemplo, reemplazo del hidrógeno por
alcanoil ($C_1 - C_6$) oximetilo; y
- (ii) cuando el compuesto contiene una funcionalidad amino
secundaria, una amida de la misma, por ejemplo, reemplazo
del hidrógeno por alcanoilo ($C_1 - C_{10}$).

10 Finalmente, ciertos compuestos de la presente invención pueden por sí mismos actuar como profármacos de otros compuestos de la presente invención. Por ejemplo, ciertos compuestos de Fórmula I o II se pueden
15 considerar como un profármaco de otros compuestos abarcados por la Fórmula I o II.

Todos los isómeros, tales como estereoisómeros, isómeros geométricos (*cis/trans* o Z/E) y las formas tautómeras de los compuestos o sales están incluidos dentro del alcance de la presente invención, incluyendo los
20 compuestos o sales que tienen más de un tipo de isomería, y las mezclas de uno o más de los mismos. Por ejemplo, lo siguiente muestra un compuesto de Fórmula I y un tautómero.



También se incluyen las sales de adición de ácidos o básicas en las que el contraion es ópticamente activo, por ejemplo, *D*-lactato o *L*-lisina, o racémico, por ejemplo, *DL*-tartrato o *DL*-arginina.

Los isómeros se pueden separar mediante técnicas convencionales bien conocidas por los expertos en la técnica.

La presente invención incluye los compuestos isotópicamente marcados de la invención en los que uno o más átomos se reemplazan por átomos que tienen el mismo número atómico, pero una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra habitualmente en la naturaleza.

Los compuestos marcados isotópicamente de la invención se pueden preparar generalmente mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica o mediante procedimientos análogos a los descritos en los ejemplos y preparaciones acompañantes que usan un reactivo marcado isotópicamente apropiado en lugar del reactivo no marcado previamente empleado.

Para el tratamiento de las afecciones mencionadas más adelante, se pueden administrar los compuestos de la presente invención. También se

pueden usar las sales de los compuestos de la presente invención.

C. Composiciones

Los compuestos o sales de la presente invención pueden ser parte de
5 una composición. Las composiciones pueden incluir también uno o más
compuestos o sales de la presente invención. La composición también puede
incluir un exceso enantiomérico de uno o más compuestos de la presente
invención. Se pueden incluir en la composición otras sustancias
farmacológicamente activas y vehículos.

10 Una realización es una composición que comprende un compuesto de
fórmula I o una sal del mismo. Otra realización es una composición que
comprende un compuesto de Fórmula I o una sal del mismo y un vehículo.

Por ejemplo el vehículo puede ser un excipiente. La elección del
excipiente dependerá en gran grado de factores tales como el modo particular
15 de administración, el efecto del excipiente en la solubilidad y estabilidad, y la
naturaleza de la forma de dosificación.

La composición puede ser un sólido, un líquido, o ambos, y se puede
formular con el compuesto como una composición de dosificación unitaria, por
ejemplo, un comprimido, que puede contener entre 0,05% y 95% en peso de
20 los compuestos activos. Los compuestos o sales de la presente invención
pueden estar acoplados a polímeros adecuados como vehículos fármacos que
se pueden dirigir.

D. Procedimientos

25 La presente invención incluye un procedimiento de poner en contacto un



receptor de glucocorticosteroides con un compuesto o sal de la presente invención.

La presente invención también incluye un procedimiento de tratamiento de una afección mediada por la actividad del receptor de glucocorticosteroides en un sujeto que comprende la administración al sujeto de un compuesto o sal de la presente invención.

Una afección mediada por la actividad del receptor de glucocorticosteroides incluye:

- 10 a) trastornos endocrinos, tales como insuficiencia adrenocortical primaria o secundaria, hiperplasia adrenal congénita, tiroiditis no supurativa, e hipercalcemia asociada a cáncer;
- 15 b) trastornos reumáticos, tales como artritis psoriática, artritis reumatoide, que incluye artritis reumatoide juvenil, espondilitis anquilosante, bursitis aguda y subaguda, tenosinovitis aguda no específica, artritis gotosa aguda, osteoartritis postraumática, sinovitis de osteoartritis, y epicondilitis;
- 20 c) enfermedades de colágeno, tales como lupus sistémico eritematoso, y carditis reumática aguda;
- d) afecciones dermatológicas, tales como pénfigo, dermatitis herpetiforme bulosa, eritema multiforme grave (síndrome de Stevens - Johnson), dermatitis exfoliante, micosis por hongos, psoriasis, y dermatitis seborreica;
- 25 e) estados alérgicos, tales como alergias estacionales o perennes, rinitis alérgica, asma bronquial, dermatitis de contacto, dermatitis atópica, enfermedad de suero, y reacciones de

hipersensibilidad a los fármacos;

- f) enfermedades y afecciones oftálmicas, tales como úlceras marginales de la córnea alérgicas, herpes zoster oftálmico, inflamación del segmento anterior, uveitis y coroiditis posterior difusa, uveitis crónica, oftalmia simpática, conjuntivitis alérgica, queratitis, coriorretinitis, neuritis óptica, iritis e iridociclitis;

5

- g) enfermedades respiratorias, tales como sarcoidosis sintomática, síndrome de Loeffler, beriliosis, tuberculosis pulmonar fulminante o diseminada, y neumonitis por aspiración;

10

- h) Trastornos hematológicos, tales como púrpura trombocitopénica idiopática, trombocitopenia secundaria, anemia adquirida (autoinmune) hemolítica, eritroblastopenia (anemias RBC), y anemia congénita (eritroide) hipoplásica;

15

- i) Enfermedades neoplásicas, tales como leucemia y linfoma;
- j) Estados edematosos, tales como los que incluyen diuresis o emisión de proteinuria en el síndrome nefrótico, sin uremia, de tipo idiopático o el debido a lupus eritematoso;

20

- k) Enfermedades gastrointestinales, tales como colitis ulcerosa, enteritis regional, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Crohn, gastritis, síndrome de intestino irritable;

- l) Afecciones misceláneas, tales como meningitis tuberculosa y triquinosis; y

- m) Afecciones neurológicas, tales como enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington,

25

esclerosis lateral amiotrófica, lesión de la médula espinal, depresión mayor psicótica, y neuropatía periférica.

Una afección mediada por la actividad del receptor de glucocorticosteroides también incluye rechazo de transplantes (por ejemplo, riñón, hígado, corazón pulmón, páncreas, (por ejemplo células islotes), médula ósea, córnea, intestino delgado, aloinjertos de piel, homoinjertos de piel (tales como los empleados en tratamiento de quemaduras), xenoinjertos de válvula cardíaca, enfermedad del suero, e injertos contra enfermedad de huésped, enfermedades autoinmunes, tales como artritis reumatoide, artritis psoriática, esclerosis múltiple, diabetes de tipo I y Tipo II, diabetes juvenil, obesidad, asma, enfermedad inflamatoria del intestino (tales como enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), pioderma gangrenosa, lupus (lupus sistémico eritematoso), miastenia grave, psoriasis, dermatitis, dermatomiositis; eccema, seborrea, inflamación pulmonar, uveitis del ojo, hepatitis, enfermedad de Grave, tiroiditis de Hashimoto, tiroiditis autoinmune, síndrome de Behcet o Sjorgen (ojos / boca secos), anemia perniciosa o inmunohemolítica, aterosclerosis, enfermedad de Addison (enfermedad autoinmune de las glándulas adrenales), insuficiencia adrenal idiopática, enfermedad poliglandular autoinmune (también conocido como síndrome poliglandular autoinmune), glomerulonefritis, escleroderma, morfea, liquen plano, viteligo (despigmentación de la piel), alopecia areata, alopecia autoinmune, hipopituitarismo autoinmune, síndrome de Guillain - Barre, y alveolitis; trastornos de hipersensibilidad mediados por las células T, incluyendo hipersensibilidad de contacto, hipersensibilidad de tipo retrasado, dermatitis de contacto (incluyendo la debida a hiedra venenosa), urticaria, alergias de la piel, alergias respiratorias (fiebre del heno, rinitis alérgica) y

6

enteropatía sensible al gluten (enfermedad celíaca); enfermedades inflamatorias tales como osteoartritis, pancreatitis aguda, pancreatitis crónica, síndrome de insuficiencia respiratoria aguda, síndrome de Sezary y enfermedades vasculares que tienen un componente inflamatorio y/o un
5 componente proliferativo tal como reestenosis, estenosis y arterosclerosis.

Una afección mediada por actividad del receptor de glucocorticosteroides también incluye:

- 10 a) asma de cualquier tipo, etiología, o patogénesis, en particular, asma que es un miembro seleccionado del grupo constituido por asma atópica, asma no atópica, asma alérgica, asma bronquial atópica mediada por IgE, asma bronquial, asma esencial, asma verdadera, asma intrínseca ocasionada por alteraciones patofisiológicas, asma extrínseca ocasionada por factores ambientales, asma esencial de causa desconocida o
15 inaparente, asma no atópica, asma bronquítica, asma enfisematosa, asma inducida por el ejercicio, asma inducida por alérgenos, asma inducida por aire frío, asma ocupacional, asma infectiva ocasionada por infección bacteriana, fúngica, por protozoos, o viral, asma no alérgica, asma incipiente, síndrome infantil de jadeo y bronquiolitis;
- b) broncoconstricción crónica o aguda, bronquitis crónica, obstrucción de las vías respiratorias pequeñas y enfisema;
- c) enfermedades de las vías respiratorias obstructivas o
20 inflamatorias de cualquier tipo, etiología, o patogénesis, en particular una enfermedad de las vías respiratorias obstructiva
25

88

- 5 o inflamatoria que es un miembro seleccionado del grupo constituido por neumonía eosinófila crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), COPD que incluye bronquitis crónica, enfisema pulmonar o disnea asociada o no asociada con COPD, COPD que se caracteriza por obstrucción progresiva e irreversible de las vías respiratorias, síndrome de insuficiencia respiratoria en adultos (ARDS), exacerbación de hiper - reactividad de las vías respiratorias consecuente con otra terapia de fármacos y enfermedad de vías respiratorias que se asocia con hipertensión pulmonar;
- 10 d) bronquitis de cualquier tipo, etiología, o patogénesis, en particular bronquitis que es un miembro seleccionado del grupo constituido por bronquitis aguda, bronquitis laringotraqueal aguda, bronquitis araquídica, bronquitis catarral, bronquitis cruposa, bronquitis seca, bronquitis asmática infecciosa, bronquitis productiva, bronquitis ocasionada por estreptococos o estafilococos y bronquitis vesicular,
- 15 lesión pulmonar aguda; y
- 20 e) bronquiectasia de cualquier tipo, etiología, o patogénesis, en particular bronquiectasia que es un miembro seleccionado del grupo constituido por bronquiectasia tubular, bronquiectasia sacular, bronquiectasia fusiforme, bronquiectasia capilar, bronquiectasia cística, bronquiectasia seca y bronquiectasia folicular.
- 25 Otra realización incluye un uso de un compuesto o sal de la presente

- invención para uso en el tratamiento de enfermedades de las vías respiratorias obstructivas o inflamatorias de cualquier tipo, etiología, o patogénesis, en particular, una enfermedad de las vías respiratorias obstructiva o inflamatoria que es un miembro seleccionado entre el grupo constituido por neumonía eosinófila crónica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD), COPD que incluye bronquitis crónica, enfisema pulmonar o disnea asociada o no asociada con COPD, COPD que se caracteriza por obstrucción progresiva e irreversible de las vías respiratorias, síndrome de insuficiencia respiratoria en adultos (ARDS), exacerbación de hiper - reactividad de las vías respiratorias
- 10 consecuente con otra terapia de fármacos y enfermedad de vías respiratorias que se asocia con hipertensión pulmonar, o asma de cualquier tipo, etiología, o patogénesis, en particular, asma que es un miembro seleccionado del grupo constituido por asma atópica, asma no atópica, asma alérgica, asma bronquial atópica mediada por IgE, asma bronquial, asma esencial, asma verdadera,
- 15 asma intrínseca ocasionada por alteraciones patofisiológicas, asma extrínseca ocasionada por factores ambientales, asma esencial de causa desconocida o inaparente, asma no atópica, asma bronquítica, asma enfisematosa, asma inducida por el ejercicio, asma inducida por alérgenos, asma inducida por aire frío, asma ocupacional, asma infectiva ocasionada por infección bacteriana,
- 20 fúngica, por protozoos, o viral, asma no alérgica, asma incipiente, síndrome infantil de jadeo y bronquiolitis.

La presente invención incluye un procedimiento de tratamiento de afección relacionada con inflamación en un sujeto que comprende la administración al sujeto de un compuesto o sal de la presente invención.

- 25 La presente invención incluye un procedimiento de tratamiento de

afecciones tales como asma, dermatitis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Alzheimer, depresión mayor psicótica, neuropatía, rechazo de transplantes, esclerosis múltiple, uveitis crónica, o enfermedad pulmonar obstructiva crónica en un sujeto que comprende la administración al sujeto de

5 un compuesto o sal de la presente invención.

La presente invención incluye un procedimiento de tratamiento de artritis reumatoide en un sujeto que comprende la administración al sujeto de un compuesto o sal de la presente invención.

La artritis reumatoide se considera una enfermedad autoinmune e

10 inflamatoria crónica que produce articulaciones inflamadas, que eventualmente se hinchan, se hacen dolorosas, y experimentan degradación del cartilago, hueso, y ligamentos de la articulación. Un resultado de la artritis reumatoide es la deformidad, inestabilidad, y entumecimiento de la articulación y cicatrización dentro de la articulación. Las articulaciones se deterioran a una velocidad

15 altamente variable. Muchos factores, que incluyen la predisposición genética, pueden influir en el patrón de la enfermedad. Las personas con artritis reumatoide pueden tener un curso suave, destellos de subida ocasionales con largos períodos de remisión sin enfermedad, o una enfermedad que progresa de manera constante, que puede ser lenta o rápida. La artritis reumatoide

20 puede comenzar de pronto, con muchas articulaciones que aparecen inflamadas al mismo tiempo. Más a menudo, comienza sutilmente, afectando de manera gradual a diferentes articulaciones. Usualmente, la inflamación es simétrica, con articulaciones afectadas en ambos lados del cuerpo. Típicamente, las articulaciones pequeñas en los dedos, puntas del pie, manos,

25 pies, muñecas, codos, y tobillos se llegan a inflamar primero, seguido de las

90

rodillas y caderas.

El dolor asociado a artritis reumatoide es típicamente dolor de articulación nociceptivo somático. Las muñecas hinchadas pueden pizcar un nervio y dar como resultado entumecimiento o comezón debido a síndrome del

5 túnel carpiano. Se pueden desarrollar quistes detrás de las rodillas afectadas, pueden romperse, provocando dolor e hinchazón en la parte inferior de las piernas.

La presente invención incluye un procedimiento de tratamiento de dermatitis en un sujeto que comprende la administración al sujeto de un

10 compuesto o sal de la presente invención.

La presente invención incluye un procedimiento de tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica en un sujeto que comprende la administración al sujeto de un compuesto o sal de la presente invención.

La presente invención incluye un procedimiento de tratamiento de asma

15 en un sujeto que comprende la administración al sujeto de un compuesto o sal de la presente invención.

La presente invención incluye un procedimiento de tratamiento de enfermedad de Alzheimer en un sujeto que comprende la administración al sujeto de un compuesto o sal de la presente invención.

20 La presente invención incluye un procedimiento de mitigación de los efectos secundarios asociados a la modulación del receptor de glucocorticosteroides, que comprende la administración al sujeto de un compuesto de Fórmula I.

La presente invención incluye un procedimiento de mitigación de los

25 efectos secundarios asociados al tratamiento con prednisolona, que comprende

al

la administración al sujeto de un compuesto de Fórmula I.

La presente invención comprende además procedimientos de tratamiento de las afecciones, enfermedades, y trastornos anteriormente mencionados en un sujeto o un sujeto susceptible de tener tal afección, mediante la administración al sujeto de uno o más compuestos o sales de la presente invención.

En una realización, el tratamiento anteriormente mencionado es un tratamiento preventivo.

En otra realización, el tratamiento anteriormente mencionado es un tratamiento paliativo.

En otra realización, el tratamiento anteriormente mencionado es un tratamiento restaurativo.

E. Dosificación y Administración

Para seleccionar la forma de dosificación más apropiada y vía de administración más apropiada para el tratamiento de la indicación propuesta, los compuestos o sales de la invención se pueden evaluar por sus propiedades biofarmacéuticas, tales como solubilidad y estabilidad en solución (a través del pH); y permeabilidad.

Las dosis para los compuestos o sales de la invención varían entre 0,1 mg y 100 mg para la administración oral y dosis varían entre 2 mg o menos para la administración inhalada. La dosis se puede administrar en dosis individuales o divididas y puede caer fuera del intervalo típico dado en el presente documento.

Las dosificaciones se basan en un sujeto humano medio que tiene un

peso de aproximadamente 60 kg a 70 kg. La dosificación y régimen de dosificación depende del sujeto y una diversidad de afecciones que pueden afectar a la dosificación (edad, sexo, peso corporal, etc). El médico será capaz de determinar fácilmente las dosis para los sujetos cuyo peso cae fuera de este

5 intervalo, tales como niños y ancianos.

Administración oral

Los compuestos de la invención y sales de los mismos, se pueden administrar por vía oral. La administración oral puede implicar tragar, de modo

10 que el compuesto o sal entra en el tracto gastrointestinal, y/o administración bucal, lingual, o sublingual, en las que el compuesto o sal entra directamente desde la boca a la corriente sanguínea.

Las formulaciones adecuadas para administración oral incluyen sistemas

15 sólidos, semisólidos y líquidos tales como comprimidos; cápsulas sólidas o blandas que contienen multi- o nano partículas, líquidos, o polvos; pastillas masticables (incluyendo rellenas de líquido), gomas de mascar; geles; formas de dosificación de dispersión rápida; películas; óvulos; pulverizaciones; y parches bucales / mucoadhesivos. Además, el compuesto o sales de la

20 invención se pueden administrar como una dispersión secada por pulverización.

Las formulaciones líquidas incluyen suspensiones, soluciones, jarabes y elixires. Dichas formulaciones pueden emplearse como cargas en cápsulas blandas o duras (hechas, por ejemplo, a partir de gelatina o

25 hidroxipropilmetilcelulosa) y comprenden típicamente un vehículo, por ejemplo

93

agua, etanol, polietilen glicol, propilenglicol, metilcelulosa o un aceite adecuado, y uno o más agentes emulsionantes y/o agentes de suspensión. Las formulaciones líquidas también se pueden preparar mediante la reconstitución de un sólido, por ejemplo, a partir de un sobre.

- 5 Los compuestos de la invención y sales de los mismos también se pueden utilizar en formas de dosificación de disolución rápida, disgregación rápida tales como las descritas en Expert Opinión in Therapeutic Patents, 11 (6), 981 - 986 de Liang y Chen (2001).

Para las formas de dosificación en comprimidos, dependiendo de la

10 dosis, el fármaco puede estar entre el 1% en peso y el 80% en peso de la forma de dosificación, más típicamente entre el 5% en peso y 60% en peso de la forma de dosificación. Además del fármaco, los comprimidos contienen en general un disgregante. Los ejemplos de disgregantes incluyen almidón glicolato de sodio, carboximetilcelulosa de sodio, carboximetilcelulosa de calcio,

15 croscarmelosa de sodio, crospovidona, polivinilpirrolidona, metilcelulosa, celulosa microcristalina, hidroxipropilcelulosa sustituida con alquilo inferior, almidón, almidón pregelatinizado y alginato de sodio. En general, el disgregante comprenderá entre 1% en peso y 25% en peso, preferiblemente entre 5% en peso y 20% en peso de la forma de dosificación.

20 Los aglutinantes se usan en general para impartir cualidades cohesivas a una formulación en comprimido. Los aglutinantes adecuados incluyen celulosa microcristalina, gelatina, azúcares, polietilenglicol, gomas naturales y sintéticas, polivinilpirrolidona, almidón pregelatinizado, hidroxipropilcelulosa e hidroxipropilmetilcelulosa. Los comprimidos también pueden contener

25 diluyentes tales como lactosa (monohidrato, monohidrato secado por

pulverización, anhidra y similares), manitol, xilitol, dextrosa, sacarosa, sorbitol, celulosa microcristalina, almidón y fosfato cálcico dibásico dihidrato.

Los comprimidos también pueden comprender opcionalmente agentes tensioactivos, tales como lauril sulfato sódico y polisorbato 80, y deslizantes
5 tales como dióxido de silicio y talco. Cuando están presentes, los agentes tensioactivos pueden comprender entre 0,2% en peso y 5% en peso del comprimido y los deslizantes pueden comprender entre 0,2% en peso y 1% en peso del comprimido.

Los comprimidos también contienen en general lubricantes tales como
10 estearato de magnesio, estearato de calcio, estearato de cinc, estearil fumarato sódico y mezclas de estearato de magnesio con lauril sulfato sódico. Los lubricantes comprenden generalmente entre 0,25% en peso y 10% en peso, preferiblemente entre 0,5% en peso y 3% en peso del comprimido.

Otros posibles ingredientes incluyen anti-oxidantes, colorantes,
15 aromatizantes, conservantes y agentes de enmascaramiento del sabor.

Los comprimidos ejemplares contienen hasta aproximadamente 80% de fármaco, entre aproximadamente 10% en peso y aproximadamente 90% en peso de aglutinante, entre aproximadamente 0% en peso y aproximadamente
20 85% en peso de diluyente, entre aproximadamente 2% en peso y aproximadamente 10% en peso de disgregante y entre aproximadamente 0,25% en peso y aproximadamente 10% en peso de lubricante.

Las formulaciones sólidas para la administración oral se pueden formular para ser de liberación inmediata y/o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retardada, sostenida, por púlsos,
25 controlada, dirigida y programada.

AS

Las formulaciones de liberación modificada adecuadas para los propósitos de la invención se describen en la Patente de Estados Unidos N° 6.106.864. Los detalles de otras tecnologías de liberación adecuadas tales como dispersiones de alta energía, y partículas osmóticas y recubiertas se encuentran en Pharmaceutical Technology On-line, 25 (2), 1 - 14 por Verma y col., (2001).

Los intervalos de dosis para la administración oral también incluyen entre 0,1 mg y 80 mg, 15 mg y 80 mg, 0,1 mg y 25 mg.

10 *Administración parenteral*

Los compuestos o sales de la invención se pueden administrar también directamente a la corriente sanguínea, al músculo o a un órgano interno. El Ejemplo 2 se podría administrar a la corriente sanguínea. Los medios adecuados para administración parenteral incluyen intravenoso, intraarterial, intraperitoneal, intratecal, intraventricular, intrauretral, intrasternal, intracraneal, intramuscular, intrasinovial y subcutáneo. Los dispositivos adecuados para la administración parenteral incluyen inyectores de aguja (incluyendo microaguja), inyectores sin aguja y técnicas de infusión.

Las formulaciones parenterales son típicamente soluciones acuosas que pueden contener excipientes tales como sales, carbohidratos y agentes de tamponación (preferiblemente a un pH de 3 a 9) pero, para algunas aplicaciones, se pueden formular más adecuadamente en forma de una solución no acuosa estéril o en una forma secada a utilizar junto con un vehículo adecuado tal como agua estéril exenta de pirógenos.

25 La preparación de formulaciones parenterales en condiciones estériles,

por ejemplo mediante liofilización, puede realizarse fácilmente utilizando técnicas farmacéuticas estándar bien conocidas por los expertos en la técnica.

La solubilidad de los compuestos de la presente invención y las sales de los mismos utilizados en la preparación de soluciones parenterales se puede
5 aumentar mediante el uso de técnicas de formulación apropiadas, tales como la incorporación de agentes potenciadores de la solubilidad.

Las formulaciones para administración parenteral se pueden formular para ser de liberación inmediata y/o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retardada, sostenida, por pulsos,
10 controlada, dirigida y programada. De esta manera los compuestos de la invención se pueden formular en forma de una suspensión o en forma de un sólido, semisólido, o líquido tixotrópico para la administración en forma de un dispositivo de liberación prolongada implantado que proporciona la liberación modificada del compuesto activo. Los ejemplos de tales formulaciones incluyen
15 dilatadores vasculares permanentes recubiertos de fármaco y semisólidos y suspensiones que comprenden microesferas de ácido poli (DL-láctico-coglicólico) (PGLA) cargadas de fármaco.

Administración tópica

20 Los compuestos o sales de la invención se pueden administrar también por vía tópica, (intra) dérmica, o transdérmica a la piel o mucosa. El ejemplo 1 se puede administrar a la piel. Las formulaciones típicas con este fin incluyen geles, hidrogeles, lociones, soluciones, cremas, ungüentos, polvos finos, apósitos, espumas, películas, parches dérmicos, obleas, implantes, esponjas,
25 fibras, vendas y microemulsiones. También pueden utilizarse liposomas. Los

vehículos típicos incluyen alcohol, agua, aceite mineral, vaselina líquida, vaselina blanca, glicerina, polietilen glicol y propilenglicol. Pueden incorporarse potenciadores de la penetración, véase por ejemplo J. Pharm. Sci., 88 (10), 955 - 958 por Finnin y Morgan (octubre de 1999).

- 5 Otros medios para la administración tópica incluyen administración mediante electroporación, iontoforesis, fonoforesis, sonoforesis e inyección por microaguja o sin aguja (por ejemplo, Powderject TM, Bioject TM, etc).

- Las formulaciones para la administración tópica se pueden formular para que sean de liberación inmediata y/o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen liberación retrasada, sostenida, por pulsos, controlada, dirigida y programada.
- 10

Administración inhalada/intranasal

- Los compuestos o sales de la invención se pueden también administrar por vía intranasal o mediante inhalación, típicamente en forma de un polvo seco (solo o bien en forma de mezcla, por ejemplo en una combinación seca con lactosa, o en forma de partículas de componentes mixtos, por ejemplo mezclados con fosfolípidos, tales como fosfatidilcolina) a partir de un inhalador de polvo seco, en forma de un aerosol pulverizador a partir de un envase a presión, bomba, pulverizador, atomizador (preferiblemente un atomizador que utiliza la electrohidrodinámica para producir una niebla fina), o nebulizador, con o sin el uso de un propelente adecuado, tal como 1,1,1,2,-tetrafluoroetano o 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano, o como gotas nasales. Para uso intranasal, el polvo puede comprender un agente bioadhesivo, por ejemplo quitosan o ciclodextrina.
- 15
- 20
- 25

El envase a presión, bomba, pulverizador, atomizador o nebulizador contiene una solución o suspensión del (de los) compuesto (s) de la invención que comprende, por ejemplo, etanol, etanol acuoso, o un agente alternativo adecuado para dispersar, solubilizar o extender la liberación del compuesto activo, un (unos) propelente (s) como disolvente y un tensioactivo opcional, tal como trioleato de sorbitán, ácido oléico, o un ácido oligoláctico.

Antes del uso en una formulación de polvo seco o suspensión, el producto fármaco se microniza a un tamaño adecuado para liberación por inhalación (típicamente menor de 5 micrómetros). Esto se puede conseguir mediante cualquier procedimiento de trituración apropiado, tal como molido de chorro en espiral, molido de chorro en lecho fluido, procesamiento con fluido supercrítico para formar nanopartículas, homogeneización a alta presión; o secado por pulverización.

Pueden formularse cápsulas (preparadas por ejemplo a partir de gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), envases blister y cartuchos para uso en un inhalador o insuflador para contener una mezcla en polvo del compuesto de la invención, una base de polvo adecuada tal como lactosa o almidón y un modificador de la actividad tal como *L*-leucina, manitol o estearato de magnesio. La lactosa puede estar en forma anhidra o en forma del monohidrato, preferiblemente esta última. Otros excipientes adecuados incluyen dextrano, glucosa, maltosa, sorbitol, xilitol, fructosa, sacarosa y trehalosa.

Una formulación en solución adecuada para uso en atomizador que usa electrohidrodinámica puede comprender un compuesto de la presente invención, propilen glicol, agua estéril, etanol y cloruro sódico. Los disolventes

99

alternativos que se pueden usar en lugar de propilenglicol incluyen glicerol y polietilenglicol.

Las formulaciones para administración inhalada/intranasal se pueden formular para que sean de liberación inmediata y/o modificada usando, por ejemplo, PGLA. La liberación modificada incluye liberación retrasada, sostenida, por pulsos, controlada, dirigida y programada.

En el caso de inhaladores de polvo seco y aerosoles, la unidad de dosificación se determina mediante una válvula que libera una cantidad medida. Las unidades de acuerdo con la invención se disponen de manera típica para que puedan administrar una dosis medida o "puff" que se puede administrar en una sola dosis o, más usualmente, como dosis divididas a lo largo del día.

Los intervalos de dosificación para la administración inhalada varían entre 2 mg a menos 1 mg a menos.

15

Combinación

Los compuestos o sales de la invención se pueden administrar en combinación con uno o más agentes terapéuticos diferentes, tal como un fármaco. El compuesto de la presente invención o sal del mismo se puede administrar al mismo tiempo o tiempo diferente como uno o más agentes terapéuticos distintos.

Por ejemplo, "en combinación" incluye: administración simultánea de una combinación del compuesto o sal de la invención y un agente terapéutico a un sujeto, cuando tales componentes se formulan conjuntamente en una forma de dosificación unitaria que libera dichos componentes a sustancialmente la

25

100

- misma vez a dicho sujeto; administración sustancialmente simultánea de una combinación del compuesto o sal de la invención y un agente terapéutico a un sujeto en necesidad de tratamiento, cuando tales componentes se formulan aparte entre sí en formas de dosificación separadas que se toman
- 5 sustancialmente a la vez por dicho sujeto, después de lo cual dichos componentes se liberan sustancialmente a la vez a dicho sujeto; la ~~administración secuencial de una combinación del compuesto o sal de la~~ invención y un agente terapéutico a un sujeto, cuando se formulan tales componentes aparte entre sí en formas de dosificación separadas que se
- 10 toman en momentos consecutivos por parte del sujeto con un intervalo de tiempo significativo entre cada administración, después de lo cual dichos componentes se liberan a tiempos sustancialmente diferentes a dicho sujeto; y la administración secuencial de tal combinación de compuesto o sal de la invención y un agente terapéutico a un sujeto, cuando tales componentes se
- 15 formulan conjuntamente en una forma de dosificación unitaria que libera dichos componentes de una manera controlada, después de lo cual se administran simultáneamente, consecutivamente, y / o de manera superpuesta a la misma o diferente vez a dicho sujeto, donde cada parte se puede administrar mediante la misma vía o diferente.
- 20 Por ejemplo, los compuestos o sales de la presente invención se pueden usar en combinación, parcialmente o completamente, además de otros antiinflamatorios. Los antiinflamatorios adecuados incluyen ciclosporina, ácido zoledrónico, efalizumab, alefacept, etodolac, lornoxicam, OM-89, valdecocixib, tocilizumab, abatacept, meloxicam, etanercept, nambumetona, rimexolona,
- 25 ¹⁵³Sm-EDTMP, prosorba, imidazol salicilato, oprelvekin, ácido hialurónico,

naproxen, piroxicam, diacereína, lumericoxib, tacrolimus, aceclofenac, actarit, tenoxicam, rosiglitazona, deflazacort, adalimumab, leflunomida, risedronato de sodio, misoprostol y diclofenac, SK-1306X, infliximab, anakinra, celecoxib, diclofenac, etoricoxib y felbinac, reumacon, golimumab, denosumab, 5 ofatumumab, anticuerpo 10rT1, pelubiprofeno, licofelona, temsirolimus, eculizumab, iguratimod, y prednisona. Otros antiinflamatorios adecuados

incluyen CP-481715, ABN-912, MLN-3897, HuMax-IL-15, RA-1, paclitaxel, Org-37663, Org 39141, AED-9056, AMG-108, fontolizumab, pegsunercept, pralnasacan, apilimod, GW-274150, AT-001, 681323 (GSK) K-832, R-1503, 10 ocrelizumab, DE-096, Cpn 10, THC + CBD (GW Pharma), 856553 (GSK), ReN-1869, inmunoglobulina, mm-093, amelubant, SCIO-469, ABT-874, LenkoVAX, LY-2127399, TRU-015, KC-706, dipiridamol, amoxapinet y dipiridamol, TAK-715, PG 760564, VX-702, prednisolona y dipiridamol, PMX-53, belimumab, prinaberel, CF-101, tgAAV-TNFR:Fc, R-788, prednisolona y 15 SSRI, dexametasona, CP-690550 y PMI-001.

Los expertos en la técnica apreciarán también que cuando se usan los compuestos de la invención o las sales de los mismos en el tratamiento de una enfermedad específica que los compuestos de la invención se pueden combinar con diversos agentes terapéuticos existentes usados para esa 20 enfermedad.

Por ejemplo, los compuestos o sales de la invención se pueden combinar con agentes que modulan una o más de las siguientes dianas. Ciclooxygenasa 2 (prostaglandina endoperóxido sintasa 2); TNF-R (receptor del factor de necrosis tumoral tipo 1); Ciclooxygenasa (Cox 1 y 2; no específica); 25 Map Quinasa p38 (no específica); receptor II1 (tipo I y II, no específico),

Araquidonato 5-lipooxigenasa; receptor de glucocorticosteroides (GR); NF-kB;
 factor de necrosis tumoral (TNF-alfa); receptor de quimioquina CCR1; receptor
 de Leukotrieno B4 (no específico); PDE4 (fosfodiesterasa 4; no específico);
 receptor de IL6; Integrina (no específica); ADAM-17 (enzima convertora de
 5 TNF- alfa); ICE (Caspasa 1/ Interleuquina-1 beta convertasa); enzimas de la
 síntesis de Prostaglandinas (no específicas); Receptor de la Sustancia - P
 (SPR / receptor NK-1); receptor de Prostanoides (no específico); proteína 1 de
 adhesión de las células vasculares (VCAM 1); MMP-13 (colagenasa 3);
 receptor VEGF (no específico); receptor quimiotáctico anafilatoxina C5A
 10 (C5AR); factor inhibidor de la migración de macrófagos (MIF); Purina
 nucleósido fosforilasa (PNP); interferón Beta 1; MMP-3 (estromelisin 1);
 receptor de quimioquinas CCR2; MMP-2 (gelatinasa A); receptor 5 del factor de
 necrosis tumoral (CD40); antígeno de CD44 (función de querencia y sistema
 del grupo sanguíneo indio); receptor de quimioquinas CCR5; Prostaglandina E
 15 sintasa; receptor gamma activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR-
 gamma); receptor de quimioquinas CXCRa, catepsina S; Proto-oncogen LCK
 tirosina quinasa; receptor de quimioquinas CXCR3; receptor de PDGF; FKBP
 (12_FK-506); CTLA-4 de la superfamilia de Ig; Proteína quinasa C (PKC, no
 específica); Integrina alfa-V / beta-5; catepsina K; 26S Proteasoma; receptor
 20 mineralocorticoide (MR); subunidad beta de la quinasa Ikb (IKK BETA);
 receptor del factor activador de plaquetas (PAF-R); farnesil pirofosfatasa FPP
 sintetasa; receptor de quimioquinas CXCR1, receptor del factor estimulador de
 la colonia de macrófagos (CSF-1R); receptor 1 de IL 18; receptor de Adenosina
 A3; factor estimulador de la colonia de granulocitos - macrófagos (GM-CSF);
 25 SYK tirosina quinasa; receptor CRF (no específico); heterodímero de tubulina

- Alfa 7 Beta; Tirsina quinasa (no específica); amiloide beta; factor estimulador de la colonia de macrófagos (MCSF); miembro 11 de la superfamilia de ligandos del factor de necrosis tumoral (activador del receptor del factor nuclear kappa b); Fosfolipasa (no específica); receptor de estrógenos (alfa / beta; no específico; MMP-9 (gelatinasa B); óxido nítrico sintasa (no específica); óxido nítrico sintasa inducible (no específica); antígeno de tumor celular p53; factor 1
-
- de crecimiento de tipo insulina (somatomedin C); complejo del receptor nicotínico acetilcolina; receptor opioide de tipo Mu (MOR-1); IL11; tirosina quinasa receptora ERBD/EGF (no específica); receptor H2 de Histamina;
- 10 dipeptidil peptidasa IV (DPP IV, CD26); Topoisomerasa II; receptor de quimioquinas CCR7; Dihidrofolato reductasa bacteriana (no específica); Beta-tubulina; ADN polimerasa (Humana, cualquier composición); receptor de quimioquinas CCR4; receptor de quimioquinas CCR3; canal de K⁺ (potasio) (no específico); proteína quinasa 14 activada por mitógenos (MAPK14 / P38-
- 15 alfa); canales de calcio de tipo L (no específico); receptor de quimioquinas CCR6; PDE3 ((fosfodiesterasa 3; no específico); cisteína proteasa (no específica); transportador de noradrenalina dependiente de sodio (NAT); MAP2 quinasa (MEKs; no específica) RAK Quinasa (no específica); factor 1 alfa inducible por hipoxia; receptor NMDA; receptor beta de estrógenos (ER-beta);
- 20 ADN humano; receptor de tipo B de colecistoquinina (CCKB); receptor de bradiquinina B1 (BK1); purinorreceptor 7 de P2X (P2X7); receptor A2A de adenosina; receptor 2 de cannabinoides (CB2); receptor opioide Sigma; receptor 1 de cannabinoides (CB1); receptor de quimioquinas CXCR2; factor I de complemento (inactivador C3B /C4B); Proteína Quinasa B (RAC-quinasa)
- 25 (no específica); complejo de secretasa gamma; CRTH2 (GPR44); gen asociado

109

- a p53 (MDM2 ubiquitina - proteína ligasa E3); receptor VIP (no específico); receptor de IL1, tipo I; IL6 (interferón, beta 2); MMP (no específico); Insulina; MMP-2/3/9; Calcitonina / polipéptido relacionado con calcitonina, alfa; Lipooxigenasa (no específica); factor de crecimiento endotelial vascular
- 5 (VEGF); Trombina; receptor de andrógenos, Map Quinasa (no específica); globulina de unión a la hormona del sexo; quimioquina CCL2 (MCP1/MCAF); Fosfolipasa A2; Eritropoyetina (EPO); Plasminogen; bomba de protones gástrica (H⁺ K⁺ ATPasa); Caspasa (no específica); receptor de FGF (no específico); receptor alfa activado por el proliferador de peroxisomas (PPAR-
- 10 alfa); receptor MIP1a (no específico); proteína de unión de calcio S100 (no específico); receptor de PGE (no específico); peptidil arginina desiminasa, tipo IV; complejo PDGF (a/b); Beta - lactamasa y PBPs (biosíntesis de la pared celular); receptor opioide (no específico); enzima 1 convertora de la angiotensina (ACE 1); activador de plasminógeno de tipo uroquinasa (UPA);
- 15 fosfodiesterasa (PDE no específica); receptor de progesterona (PR); receptor de 5HT (serotonina) (no específico); superfamilia del factor de necrosis tumoral (ligando), miembro 5 (ligando CD40); timidilato sintasa; interacción integrina Alfa 4 - Paxilina; Integrina alfa - 4 (VLA-4 / CD49D); ERK1; glucosa fosfatasa isomerasa (factor de motilidad de autocina); receptor de la Dopamina (no
- 20 específico); quimioquina CXCL 12 (SDF-1); proteína de transferencia de triglicéridos microsomal; integrina alfa-5 / beta - 1; transductor de señal y activador de la transcripción 3 (factor de respuesta de fase aguda); inhibidor - 1 del activador de plasminógeno (PAI-1); receptor de la vitamina D3 (VDR / receptor de la 1,25-dihidroxitamina D3); complejo de aromatasa (P450arom y
- 25 NADPH-citocromo P450 reductasa); Proteína tirosina Fosfatasa (no específica);

105

- 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa; Integrina beta - 1 (subunidad beta del receptor de Fibronectina); integrina beta-1 / alfa 11; P Selectin (GMP 140 / proteína - 140 de la membrana de gránulos); proteína activadora de la lipooxigenasa - cinco (FLAP); H⁺ / K⁺ ATPasa (no específica);
- 5 canal de Na⁺ (sodio) (no específico); Peroxidasa de tiroides; canal alfa - 1 de sodio activado por tensión del cerebro; receptor adrenérgico Beta - 2; BCL1 (ciclina D1); receptor de la hormona de tiroides (no específico); receptor 2 del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR-2 / FLK1); alfa - V / integrina Beta - 6; integrina alfa - V (subunidad alfa del receptor de Vitronectina / CD51);
- 10 SRC quinasa; Pleyotrofina (factor 8 del crecimiento de unión a heparina, factor 1 de promoción de crecimiento de neuritas); osteopontina (fosfoproteína 1 secretada); receptor 4 de tipo Toll (TLR4); receptor vainilloide (no específico); Pi3Quinasa (no específico); Poli (ADP-ribosa) polimerasa (PARP); receptor PPAR (no específico); receptor adrenérgica Beta (no específico); canal de
- 15 cationes potencial de receptor transitorio, subfamilia V, miembro 1 (TRPV 1); Topoisomerasa I; receptor de Histamina H1; quinínógeno; IKK Quinasa (no específica); Proteína TAT del VIH; receptor 2 de tipo Toll; familia 22 del vehículo de soluto (transportador de catión orgánico), miembro 4 (SLC22A4); receptor de RXR (no específico); Renina (angiotensinogenasa); receptor de
- 20 hormona de liberación de Gonadotropina (NGR.-R); proteínas de unión a Penicilina (peptidasas de la pared celular); Calmodulina; proteína quinasa 1 activada por mitógenos (MAPK1 / ERK2); canal de calcio (no específico); Agrecanasa ; JNK quinasa (no específica); transtiretina (TTR); receptor CX3CR1; factor III de coagulación (tromboplastina, factor de tejido);
- 25 transportador de serotonina dependiente de sodio (5HTT); factor 1 estimulador

106

- de colonias (macrófago); transglutaminasa de tejidos (transglutaminasa 2/TGM2); receptor específico del producto final de glicosilación avanzada; Monoamina oxidasa (A y B; no específico); receptor de Histamina (no específico); transportador de dopamina dependiente de sodio (DAT);
- 5 Trombopoyetina (ligando de oncogen de virus de leucemia mieloproliferativa, factor de crecimiento y desarrollo de megacariocitos); molécula de activación de linfocitos de señalización; endopeptidasa neutra (NEP / Neprilisina); Receptor de Endotelina - 1 (ETA); Tirosinasa; proteína quinasa 8 activada por mitógenos (MAPK8 / JNK1); IAP (inhibidor de apoptosis) no específico;
- 10 Fosfoinosítido 3-quinasa; receptor alfa de la prostaglandina F2 (receptor FP Prostanoides); hormona de crecimiento humano; Receptor de Vasopresina (no específico); receptor del factor de crecimiento de células Mastocitos 7 tronco (C-KIT); CDK (no específico); D4 / 5HT1a (receptor de la Dopamina D4, receptor 1a de serotonina); receptor de la angiopoyetina 1 (TIE-2) (TEK);
- 15 receptor alfa de estrógenos (ER-alfa); receptor del factor de crecimiento epidérmico; Quinasa de adhesión focal (no específica); receptor de benzodiazepina periférico (PBS.); oxitoquinasa; fosfolipasa A2 citosólica; Endopeptidasa (no específica); receptor 1 de FGF FGFR1; receptor de neuroquinina NK1 / NK2; complejo Prolil 4-hidroxilasa, integrina alfa 5
- 20 (subunidad alfa del receptor de Fibronectina / VLA 5 / CD49E); receptor muscarínico de la acetilcolina (no específico); Tirosina - Proteína Quinasa JAK3 (QUINASA 3 de JANUS); odc-1 ornitina descarboxilasa; receptor 5HT3; Adrenomedulina; homólogo de fosfatidil 3-quinasa (gen mutado de ataxia - telangiectasia / ATM); receptor de eritropoyetina; factor de crecimiento del
- 25 tejido conectivo, RAC-alfa serina / treonina quinasa (Proteína quinasa B);

- receptor 9 de tipo Toll; óxido nítrico sintasa neuronal (NOS1); receptor opioide de tipo Kappa (KOR - 1); complejo del canal de Na⁺ cardiaco; proteína tirosina quinasa del receptor ERBB-2 (receptor de la superficie celular de tipo tirosina quinasa HER2); receptor de trombina (PAR-1); PDE4B (fosfodiesterasa 4B
- 5 específica de AMPc / HSPDE4B); polipéptido del factor beta de crecimiento derivado de plaquetas; proteína asociada a FEBO - rapamicina (FRAP, mTOR);
-
- trombomodulina; proteasa de VIH (retropepsina); PDE4D (fosfodiesterasa 4D específica de AMPc / HSPCEAD); Adenosina quinasa; Desacetilasa de Histona (no específica); subtipo EP4 del receptor de la prostaglandina E2 (receptor EA4
- 10 prostanoide); proteína quinasa quinasa 3 activada por mitógenos (MAP2K3); MMP-12 (metaloelastasa); receptor OX40; ubiquitin ligasa humana no específica; receptor de sulfonilurea (SUR 1 (pancreático) y SUR 2 (cardíaco / músculo liso)); factor X de coagulación); proteína quinasa 2 activada por la MAP quinasa (MAPKAPK-2); región constante de la cadena pesada de IgE;
- 15 receptores de Dopamina D2 + 5HT2A; receptor de 5-hidroxitriptamina 4 (5HT4); Tipo 1 del receptor de la angiotensina II (AT1); Citocromo P450 3A4; ciclofilina de las células T (ciclofilina A); receptor de Neuromedina K (NKR / receptor NK-3); receptor de leucotrieno B4; Brutons tirosina quinasa (BKT); proteína quinasa
- quinasa 6 activada por mitógenos (MAP2K6); endoglina; M1/D2/5HT2;
- 20 transportador de noradrenalina dependiente de sodio + receptor de Dopamina D4; proteína quinasa quinasa 4 activada por mitógenos (MAP2K4); proteína de choque térmico Hsp90 A/B; descarboxilasa de histidina; familia 22 del vehículo de soluto (transportador del catión orgánico). miembro 5 (SLC22A5); tirosina quinasa CSK; Prolil endopeptidasa; receptor de Cisteinil leucotrieno (CYSLT1);
- 25 receptor nuclear NURR1 (proteína NOT de respuesta inmediata - temprana);

108

receptor 3 de tipo Toll; receptor 2 activado por proteinasa (PAR-2); receptor de prostaciclina (receptor IP prostanoide); inhibidor de la serina (o cisteína) proteinasa, clade F (factor derivado de epitelio de pigmento, antiplasmina alfa - 2), miembro 1; receptor de tipo I de polipéptido activador de adenilato ciclasa de pituitaria (PACAP-R-1); superfamilia del factor de necrosis tumoral (ligando), miembro 10; C-MAF (forma corta); acetilcolinoesterasa (ACHE); receptor adrenérgico alfa 1 (no específico); unión al receptor Bz de GABA A; receptor de lisoesfingolípido EDG-1; molécula - 1 de adhesión celular de adreína mucosal (MadCam); receptor adrenérgico alfa - 1 L; receptor del factor de crecimiento de hepatocitos (MET Proto-oncogen tirosinaquinasa); receptor M 3 muscarínico de la acetilcolina; MEK1; receptor de insulina, receptor GABA (A + B; no específico); subunidad gamma catalítica de la fosfatidilinositol 3-quinasa (PI3 quinasa gamma); proteína 2 morfogenética de hueso (BMP2); receptor de la proteína quinasa SKY (TYRO3) (RSE); familia del receptor del dominio de discoidina, miembro 2 (DDR2); canal de potasio activado por la tensión KV (no específico); esfingosina quinasa (no específica); receptor del factor de crecimiento nervioso de alta afinidad (TKR-A); carbónico anhidrasas (todas); receptor de trombopoyetina; factor C de crecimiento endotelial vascular; angiotensinógeno; módulo de unión a ATP, subfamilia B (MDR/TAP), miembro 1 (ABCB1) (glicoproteína P de resistencia a fármacos múltiples (MDR1); Quinasa 7 de la proteína quinasa activada por mitógenos (MAP2K7); receptor M1 muscarínico de la acetil colina; transcriptasa inversa de VIH; PDE5A (fosfodiesterasa 5A de unión a CMPc, específica de GMPc / HSPDE5A); receptor alfa adrenérgico (no específico); inhibidor de la coagulación asociado a Lipoproteína; Carboxipeptidasa B2 (TAFI); Colinesterasa (no específica);

109

receptor de la bradiquinina B2 (BK2); aldosa reductasa; factor XI de coagulación (antecedente de tromboplastina de plasma); serina / proteína quinasa P78; metionina aminopeptidasa 2; guanilato ciclasa soluble (no específica); proteína S6 quinasa ribosómica; receptor 1 de glutamato

5 metabotrópico; tirosina - proteína quinasa no receptora TYK2; receptor de glutamato metabotrópico (no específico); receptor 3 del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGFR-3 / FLT₃); proteína quinasa 3 activada por

mitógenos (MAPK 13 / P38 delta); proteína de activación de fibroblastos (seprasa); receptor del factor de liberación de corticotropina (CRF1); proteína

10 quinasa 11 activada por mitógenos (MAPK 11 / P38 beta); componente complementario 5; receptor de la citoquina FL (FLT3); receptor AMPA (receptores 1 - 4 de glutamato); receptor del factor de crecimiento nervioso; Acil-CoA A; colesterol aciltransferasa 1 (ACAT1); homólogo igualado del receptor de tipo Frizzled (SMO); receptor BONZO acoplado a proteína G

15 (STRL33, CXCR6); proteínas IKCa; receptor TGF - beta de tipo II (TGFR-2); proteína vif de VIH; receptor de 5-hidroxitriptamina 2 B (5HT2B); proteína de unión a ácidos grasos (no específica); receptor 7 de tipo Toll (TLR7); Ghrelin; antígeno CD36 (recepto de colágeno de tipo 1, receptor de trombospondina); proteína quinasa quinasa quinasa 3 (MAP3K3 / MEKK3receptor

20 relacionado con FMLP (FMLP-RI); esfingosina quinasa SPHK1; I-ARnt sintetasa; proteína quinasa 9 activada por mitógenos (MAPK9 / JNK2); receptor P2X (no específico); caseína quinasa (no específica); sulfotransferasas (no específicas); receptor nuclear ROR-alfa-1; catecol O-metiltransferasa (COMT); monoamino oxidasa A (MAOA); Gamma-glutamil hidrolasa; proteína quinasa C

25 de tipo alfa (PKC- alfa); proteína quinasa 12 activada por mitógenos (MAPK 12

110

- / P38 gamma); canal de calcio Alfa2Delta; complejo factor de tejido / factor VIIa; factor inhibidor de neutrófilos de anquilostomiasis; canal de potasio Ikr; receptor de Histamina H4 (JAR3) (PFI-13); receptor de 5-hidroxitriptamina 2 A (5HT2A); receptor de colecistoquinina de tipo A (CCKA); 11-beta hidroxisteroide
- 5 deshidrogenasa; hormona de liberación de la hormona de crecimiento; proteína alfa-7 del receptor muscarínico de acetilcolina; receptor 5HT2 (no específico);
-
- isoforma 1 intercambiador de sodio / hidrógeno (NHE1); receptor de la sustancia K (SKR / receptor NK-2); receptor de 5-hidroxitriptamina 1D (5HT1D); receptores 5HT1B / 1D; sucrasa isomaltasa; receptor adrenérgico Beta-3;
- 10 péptido relacionado con el gen de la calcitonina (GGRP) de tipo 1; quinasa 4 dependiente de ciclina (CDK4); receptor adrenérgico alfa 1A; receptor ADP de plaquetas P2Y12; proteína quinasa quinasa quinasa 5 activada por mitógenos (MAP3K5) (MEKK5); regulador de la señalización 2 de proteína G; quinasa asociada al receptor de la interleucina - 1 (IRAK); pirofosfatasa inorgánica
- 15 (ppasa); ITK / TSK tirosina quinasa; RAR gamma; AXL tirosina proteína quinasa (UFO, receptor GAS6); quinasa 1 de tipo del receptor de activita (ALK-1); factor 2 de transcripción relacionado con Runt; AMP desaminasa (no específica); receptor de quimioquina CCR8; receptor de quimioquina CCR11; receptor de nociceptina; receptor del factor de crecimiento de tipo insulina;
- 20 receptor P2Y (no específico); proteína quinasa C de tipo teta (NPKC-teta); metiltransferasa de ADN no específica; fosforilasa quinasa (no específica); receptor quimiotáctico de anafilatoxina C3A (C3AR); esfingosina quinasa 2 (SPHK2); Caseína quinasa II no específica; fosfoglicerato quinasa 1; UDPGal:beatGlcNAc beta 1,4-galactosil transferasa 2 (B4GALT2); familia 7 del
- 25 vehículo de soluto de sapiens (transportador de aminoácidos catiónicos,

sistema y+), miembro 5 (SLC7A5); MMP-17 (MT-MMP 4); Caseína tirosina quinasa II cadena alfa (CK II); detención de crecimiento específico 6 (GAS6); proteína quinasa 3 activada por la MAO quinasa (MAPKAPK-3); proetean quinasa - 1 activada por mitógenos y estrés (MSK1); Prostaglandina D2 sintasa

5 (21 kD, cerebro); canal de potasio pancreático (no específico); receptor de tipo I de TGP-beta (TGFR-1 / quinasa 5 de tipo receptor de activina / ALK-5); quinasa

2 dependiente de ciclina (CDK2); ACAT (enzimas ACAT 1 y 2; no específicas); receptor opioide de tipo Delta (DOR-1); receptor 6 de 5-hidroxitriptamina (5HT6); receptor 1 A de hidroxitriptamina (5HT1A); receptor 5HT1 (no

10 específico); receptor de la hormona de crecimiento; PDE7 (fosfodiesterasa 7; no específico); receptor IgE (R1 y R2 no específico); quinasa 1 dependiente de ciclina (CDK1); complejo de farnesil - proteína transferasa; receptor de la Prostaglandina D2 (receptor DP prostanoide); componente complementario C1S; Histona desacetililasa 5; precursor del homólogo 1 dickkopf; purinoceptor

15 4 de P2X (P2X4); receptor de LDL oxidado de tipo lecitin (LOX-1); Epóxido hidrolasa 2 (trans-estireno óxido hidrolasa) (epóxido hidrolasa soluble)(sEH); dihidrodipicolinato sintasa (dhdps) (DapA); complejo CaM Quinasa II; LXR alfa / beta (LXR no específico); segundo activador derivado de mitocondrias de caspasa; quinasa unida a integrina (ILK); quinasa 2 de adhesión Focal (FADO

20 2); receptor de adenosina A2B; proteína quinasa de tipo WEE; quinasa de punto de control (CHK2); proteína SecA bacteriana; proteína beta 2 del receptor nicotínico de la acetilcolina; proteína quinasa quinasa quinasa 1 activada por mitógenos (MAP3K1 / MEKK1); proteína quinasa C de tipo zeta (NPKC-zeta); PDK1 (proteína quinasa - 1 dependiente de 3-

25 fosfoinosítido)receptor de 5-hidroxitriptamina 5A (5HT5A); Esteroide alfa-5-

reductasa; proteína quinasa quinasa quinasa 8 activada por mitógenos (MAP3K8 / COT); Proteína tirosina fosfatasa 1 B; purinorreceptor P2Y (P2Y1); receptor adrenérgico alfa-1D; caseína quinasa I epsilon (Cki-epsilon); receptor de 5-hidroxitriptamina 7 (5HT7); factor VII de coagulación (Eptacog alfa);

5 Piruvato deshidrogenasa quinasa (PDHK, no específico) PDE7A (fosfodiesterasa específica de AMPc / HSPDE7A); receptor del péptido 1 de tipo glucagón (GLP-1R); subunidad p3 de la influenza ma polimerasa (pb2 endonucleasa); proteasa viral (no específica); Topoisomerasa IV; receptor de la hormona paratiroide (receptor PTH2); Proteína quinasa C beta de tipo I (PKC-beta-1);

10 Dopamina beta hidroxilasa; proteína quinasa asociada a Galactosiltransferasa P58/GTA; proteína presináptica SAP97; inhibidor 1 de la apoptosis sinovial; sinoviolin (SYVN1) (HDR1) (HDR-1); escualeno epoxidasa (ERG1); proteína quinasa C de tipo epsilon (NPKC-epsilon); receptor 2 del factor de liberación de corticotropina (CRF2); canal de potasio activado por

15 calcio de conductancia intermedia (IK1); nucleósido difosfato quinasa A (NDKA) (NM23-H1); quinasa 4 asociada al receptor de interleuquina 1 (IRAK-4); Glicógeno sintasa quinasa 3 alfa (GSK-3 alfa); familia 22 del vehículo de soluto (transportador del catión orgánico), miembro 2 (SLC22A2); piruvato deshidrogenasa quinasa 1 (PDK1); PAK-alfa quinasa (PAK-1); proteínas 14-3-3

20 humanas; Isoleucil-ARNt sintetasa; Prenilcisteína carboxil metiltransferasa (PCCMT); CKLF1; y NAALADasa II.

Los compuestos o sales de la invención se pueden además administrar en combinación con uno o más agentes tales como SSRI, inhibidores de la metaloproteínasa de matriz (MMP), inhibidores de agrecanasa, inhibidores de

25 óxido nítrico inducible (iNOS), inhibidores de la expresión o actividad del factor

de crecimiento de tipo insulina (IGF), inhibidores de la expresión o actividad del factor de crecimiento de tipo fibroblastos (FGF), inhibidores de la expresión o actividad de CD 44, inhibidores de la expresión o actividad de interleuquina (IL), inhibidores de la expresión o actividad del factor de necrosis tumoral alfa (TNF-
 5 α) inhibidores de la expresión o actividad de la proteína 6 inducible por de necrosis tumoral (TSG-6), inhibidores de la expresión o actividad de Bikunina, inhibidores de la beta-secretasa (BACE), inhibidores de PACE-4, inhibición de la expresión o actividad del receptor nuclear rev-ErbA alfa (NR1D1), inhibición de la expresión o actividad del receptor 1 acoplado a la proteína G de
 10 esfingolípido de diferenciación endotelial (EDG-1), inhibición de la expresión o actividad del receptor activado por la proteinasa (PAR), inhibición de la expresión o actividad de la proteína sensible a ácido retinoico derivado de cartílago (CD-RAP), inhibidores de la proteína quinasa C zeta (PKCz), inhibición de la expresión o actividad de resistina, inhibición de una disintegrina
 15 y metaloproteinasa 8 (ADAM8), inhibición de la expresión o actividad del subcomponente del componente 1s complementario (C1s), inhibición de la expresión o actividad del receptor de tipo 1 del formil péptido (FPRL 1).

Los ejemplos adicionales de agentes útiles en combinación con los compuestos o sales de la invención incluyen inhibidores de MMP-2, -3, -9, o -
 20 13; inhibidores de la agreganasa -1 ó 2; inhibidores de la expresión o actividad de IGF-1 ó -2; inhibidores de la expresión o actividad de FGF -2, -18, ó -9; e inhibidores de la expresión o actividad de IL -1, -4 ó -6.

Los ejemplos adicionales de agentes útiles en combinación con los compuestos o sales de la invención incluyen anticuerpos IGF-1 o - 2;
 25 antagonistas del receptor -2 ó -3 de FGF, anticuerpos de CD44, anticuerpos de

IL - 1, -4 o -6, anticuerpos de TNF-alfa; anticuerpos de TSG-6; anticuerpos de bikunina; antagonistas de NR1D1; antagonistas de EDG-1; antagonistas de PAR; anticuerpos de CD-RAP, anticuerpos de resistina, anticuerpos de C1s, y anticuerpos de FPRL1.

- 5 Los ejemplos adicionales de los compuestos que se pueden administrar con los compuestos o sales de la presente invención incluyen: Inhibidores selectivos de la Ciclooxygenasa - 2 (COX-2) tales como celecoxib, rofecoxib, parecoxib, valdecoxib, deracoxib, etoricoxib, y lumiracoxib; analgésicos opioides tales como morfina, hidromorfona, oximorfona, fentanilo, codeína,
- 10 dihidrocodeína, oxicodona, hidrocodona, buprenorfina, tramadol, y nalbufina; fármacos antiinflamatorios no esteroideos (NSAID) tales como aspirina, diclofenac, diflunisal, ibuprofeno, fenoprofeno, naproxeno, nepafenac, y acetaminofeno; inhibidores de la fosfodiesterasa V (PDEV) tales como sildenafil; ligandos alfa - 2 - delta tales como gabapentina y pregabalina; y
- 15 anestésicos locales tales como benzocaína, lidocaína, ropivacaína, mentol, alcanfor, y metil salicilato.

- Los ejemplos de otros tipos de compuestos y clases de compuestos que se pueden usar en combinación con los compuestos o sales de la presente invención incluyen: analgésicos, sedantes barbitúricos; benzodiazepinas;
- 20 antagonistas de la Histamina H₁ que tienen una acción sedante; sedantes; relajantes del músculo esquelético; antagonistas del receptor de ácido N-metil-D-aspartico (NMDA); alfa adrenérgicos; antidepresivos tricíclicos; anticonvulsivos tales como carbamazepina; antagonistas de taquiquinina (NK), particularmente antagonistas de NK-3, NK-2 o NK-1; antagonistas
- 25 muscarínicos; neurolépticos; agonistas o antagonistas del receptor vainilloide;

15

beta-adrenérgicos; corticosteroides; agonistas o antagonistas del receptor de serotonina (5-HT) tales como antagonistas de receptor de 5-HT_{1B/1D}, y 5-HT_{2A}, y 5-HT₃; analgésicos colinérgicos (nicotínicos); cannabinoides; antagonistas del receptor de subtipo 1 de glutamato metabotrópico (mGluR1); inhibidores de la

5 recaptación de serotonina tales como sertralina; inhibidores de la recaptación de noradrenalina (norepinefrina) tales como reboxetina, en particular (S,S)-reboxetina; inhibidores de la recaptación dual de serotonina - noradrenalina tales como duloxetina; inhibidores de la óxido nítrico sintasa inducible (iNOS) tales como S-[2-[(1-iminoetil)amino]etil]-L-homocisteína, S-[2-[(1-

10 iminoetil)amino]etil]-4,4- dioxo-L-cisteína, S-[2-[(1-iminoetil)amino]etil]-2-metil-L-cisteína, ácido (2S,5Z)- 2-amino-2-metil-7-[(1-iminoetil)amino]-5-heptenoico, 2-[[[(1R, 3S)-3-amino-4- hidroxil-1-(5-tiazolil)-butil]tio]-5-cloro-3-piridinacarbonitrilo; 2-[[[(1R, 3S)-3-amino- 4-hidroxil-1-(5-tiazolil)-butil]tio]-4-clorobenzonitrilo; (2S, 4R)-2-amino-4-[[2-cloro-5-(trifluorometil)fenil]tio]-5-

15 tiazolbutanol, 2-[[[(1R, 3S)-3-amino-4-hidroxil-1-(5-tiazolil)-butil]tio]-6-(trifluorometil)-3-piridinacarbonitrilo; 2-[[[(1R, 3S)-3-amino-4- hidroxil-1-(5-tiazolil)-butil]tio]-5-clorobenzonitrilo, N-[4-[2-(3-clorobencilamino)etil]fenil]tiofeno-2-carboxamida, y guanidinoetildisulfuro; inhibidores de la acetilcolinesterasa; antagonistas del subtipo 4 de la prostaglandina E₂ (EP4)

20 tales como N-[[[2-[4-(2-etil-4,6-dimetil-1H-imidazo[4,5-c]piridin-1-il)fenil]etil]amino)-carbonil]-4- metilbencenosulfonamida o ácido 4-[(1S)-1- ([5-cloro-2-(3-fluorofenoxi)piridin-3-il]carbonil)amino]etil]benzoico; antagonistas de leucotrieno B₄ tales como ácido 1-(3-bifenil-4-ilmetil-4-hidroxil-croman-7-il)-ciclopentanocarboxílico; inhibidores de la 5-lipooxigenasa; y bloqueadores de

25 los canales de calcio.

Las combinaciones con los compuestos o sales de la presente invención también incluyen analgésicos tales como acetaminofeno, naproxen de sodio, ibuprofeno, tramadol, trazodona; ciclobenzaprina; aspirina, celecoxib, valdecoxib, indometacina, y otros NSAID; antidepresivos tales como antidepresivos tricíclicos e inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, por ejemplo antidepresivos tales como amitriptilina, imipramina, nortriptilina, doxepina, fluoxetina, sertralina, y paroxetina; relajantes musculares tales como ciclobenzaprina; ayudas del sueño tal como zolpidem.

Las combinaciones con los compuestos o sales de la presente invención también incluyen analgésicos tales como acetaminofeno, naproxen de sodio, ibuprofeno, tramadol, aspirina, celecoxib, valdecoxib, indometacin, y otros NSAID; fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (DMARDs) tales como sulfasalazina o metotrexato; corticoesteroides; y bloqueadores del factor de necrosis tumoral (TNF) tales como etanercept e infliximab.

Las combinaciones con los compuestos o sales de la presente invención incluyen corticosteroides tópicos; análogos de la vitamina D tales como calcipotrieno; antralin; retinoides tópicos (es decir, derivados de la vitamina A) tales como acitretina y tazaroteno; clobetasol propionato; metotrexato; azatioprina; ciclosporina; hidroxiurea; y fármacos moduladores inmunes tales como alefacept, efalizumab, y etanercept. El tratamiento con fototerapia, que incluye terapia con psoralen ultravioleta A , (psoralen UVA o PUVA), terapia con ultravioleta de banda estrecha B (UVB), y la terapia de luz de combinación se puede usar con los compuestos o sales de la presente invención y las combinaciones anteriormente mencionadas.

Las combinaciones con los compuestos o sales de la presente invención

117

incluyen NSAID tales como acetaminofeno, naproxen de sodio, ibuprofeno, tramadol, aspirina, celecoxib, valdecoxib, e indometacina; y corticosteroides tales como prednisona.

- Las combinaciones con los compuestos o sales de la presente invención
- 5 incluyen analgésicos tales como acetaminofeno, naproxen de sodio, ibuprofeno, tramadol, aspirina, celecoxib, valdecoxib, indometacina, y otros NSAID; fármacos antiinflamatorios; sulfasalazina, mesalamina, balsalazida, y olsalazina; corticosteroides; prednisona; budesonida; fármacos inmunosupresores tales como azatioprina, mercaptopurina, bloqueadores del
- 10 TNF tales como infliximab y adalimumab, metotrexato, y ciprofloxacina; antibióticos tales como metronidazol y ciclofloxacina; antidiarreicos tales como loperamida; laxantes; fármacos anticolinérgicos; antidepresivos tales como antidepresivos tricíclicos e inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina, por ejemplo antidepresivos tales como amitriptilina, imipramina,
- 15 nortriptilina, doxepina, fluoxetina, sertralina, y paroxetina; alosetron; y tegaserod.

Los compuestos o sales de la presente invención también se pueden administrar con un agonista beta de larga duración.

- Los ejemplos adecuados de otros agentes terapéuticos que se pueden
- 20 usar en combinación con los compuestos o sales de la presente invención incluyen inhibidores de la 5-lipooxigenasa (5-LO) o antagonistas de la proteína activadora de la 5-lipooxigenasa (FLAP), antagonistas de leucotrieno (LTRAs) que incluyen antagonistas de LTB₄, LTC₄, LTD₄, y LTE₄, antagonistas del receptor de histamina incluyendo antagonistas de H₁ y H₃, agentes
- 25 simpaticomiméticos vasoconstrictores del agonista adrenorreceptor α_1 - y α_2

116

para uso descongestivo, antagonistas muscarínicos del receptor M3 o agentes anticolinérgicos, inhibidores de PDE, por ejemplo, inhibidores de PDE3, PDE4 y PDE5, teofilina, cromoglicato de sodio, inhibidores de la COX tanto inhibidores no selectivos como selectivos de COX-1 o COX-2 (NSAIDs),
5 glucocorticosteroides orales e inhalados, anticuerpos monoclonales activos contra las entidades inflamatorias endógenas, agonistas β_2 , incluyendo
agonistas β_2 de larga duración, inhibidores de la molécula de adhesión incluyendo antagonistas de VLA-4, antagonistas de los receptores Kinin-B₁- y B₂, agentes inmunosupresores, inhibidores de las metaloproteinasas de matriz
10 (MMP), antagonistas del receptor NK₁, NK₂ y NK₃ de taquiquina, inhibidores de elastasa, agonistas del receptor A2a de adenosina, inhibidores de uroquinasa, compuestos que actúan sobre los receptores de dopamina, por ejemplo, agonistas de D2, moduladores de la ruta NF κ B, por ejemplo, inhibidores de IKK, moduladores de las rutas de señalización de citoquinas tales como syk
15 quinasa, o inhibidores de la JAK quinasa, agentes que se pueden clasificar como mucolíticos o antitusivos, y antibióticos.

De acuerdo con la presente invención, los compuestos o sales de la invención se pueden combinar con:

Antagonistas de H3, antagonistas del receptor muscarínico M3,
20 inhibidores de la PDE4, glucocorticosteroides, agonistas del receptor A2a de adenosina, agonistas de β_2 , moduladores de las rutas de señalización de citoquinas tales como syk quinasa, o, antagonistas de leucotrieno (LTRA) que incluyen antagonistas de LTB₄, LTC₄, LTD₄, y LTE₄.

De acuerdo con la presente invención, los compuestos o sales de la
25 invención también se pueden combinar con: glucocorticosteroides, tales como

119

glucocorticosteroides inhalados con efectos secundarios sistémicos reducidos, incluyendo prednisona, prednisolona, flunisolida, triamcinolona acetona, beclometasona dipropionato, budesonida, fluticasona propionato, ciclesonida, y mometasona fuorato y mometasona furoato monohidrato; antagonistas

5 muscarínicos del receptor M3 o agentes anticolinérgicos que incluyen en particular sales de ipratropio, tales como bromuro de ipratropio, sales de tiotropio, tales como bromuro de tiotropio, sales de oxitropio, tales como bromuro de oxitropio, perenzepina, y telenzepina, o agonistas de β_2 , tales como agonistas de β_2 de larga duración, incluyendo salmeterol, formoterol,

10 QAB-149 y CHF-4226.

F. Uso en la preparación de una composición o medicamento

En una realización, la presente invención comprende procedimientos para la preparación de una composición o medicamento que comprende los

15 compuestos o sales de la presente invención para uso en el tratamiento de la afección mediada por la actividad del receptor de glucocorticosteroides.

En otra realización, la invención comprende el uso de uno o más compuestos o sales de la presente invención en la preparación de una composición o un medicamento para inflamación, afección relacionada con

20 inflamación, artritis reumatoide, dermatitis, enfermedad de Alzheimer.

La presente invención también incluye el uso de uno o más compuestos o sales de la presente invención para la preparación de una composición o un medicamento para tratar una o más afecciones detalladas en la sección de Procedimientos.

no

G. Esquemas

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar usando los procedimientos ilustrados en los esquemas de síntesis general y procedimientos experimentales detallados más adelante. Las reacciones de los procedimientos de síntesis en el presente documento se llevan a cabo en disolventes adecuados que se pueden seleccionar fácilmente por los expertos en la técnica de la síntesis orgánica, siendo dichos disolventes adecuados en general cualquier disolvente que es sustancialmente no reactivo con los materiales de partida (reactivos), los intermedios, o productos a las temperaturas a las que se llevan a cabo las reacciones. Una reacción dada se puede llevar a cabo en un disolvente o una mezcla de más de un disolvente. Dependiendo de la etapa de reacción particular, se pueden seleccionar los disolventes adecuados para una etapa de reacción particular.

La preparación de los compuestos de la invención puede implicar la protección y desprotección de diversos grupos químicos. La necesidad para la protección y desprotección, y la selección de los grupos protectores adecuados se puede determinar fácilmente por los expertos en la técnica. La química de los grupos protectores se puede encontrar, por ejemplo, en T. W. Greene y P. G. M. Wuts, *Protective Groups in Organic Synthesis*, 3^o edición, Wiley & Sons, Inc., Nueva York (1999), que se incorpora en el presente documento como referencia en su totalidad.

Las reacciones se pueden controlar de acuerdo con cualquier procedimiento conocido en la técnica. Por ejemplo, la formación del producto se puede controlar mediante medios espectroscópicos, tales como espectroscopía de resonancia magnética nuclear (por ejemplo, ^1H o ^{13}C),

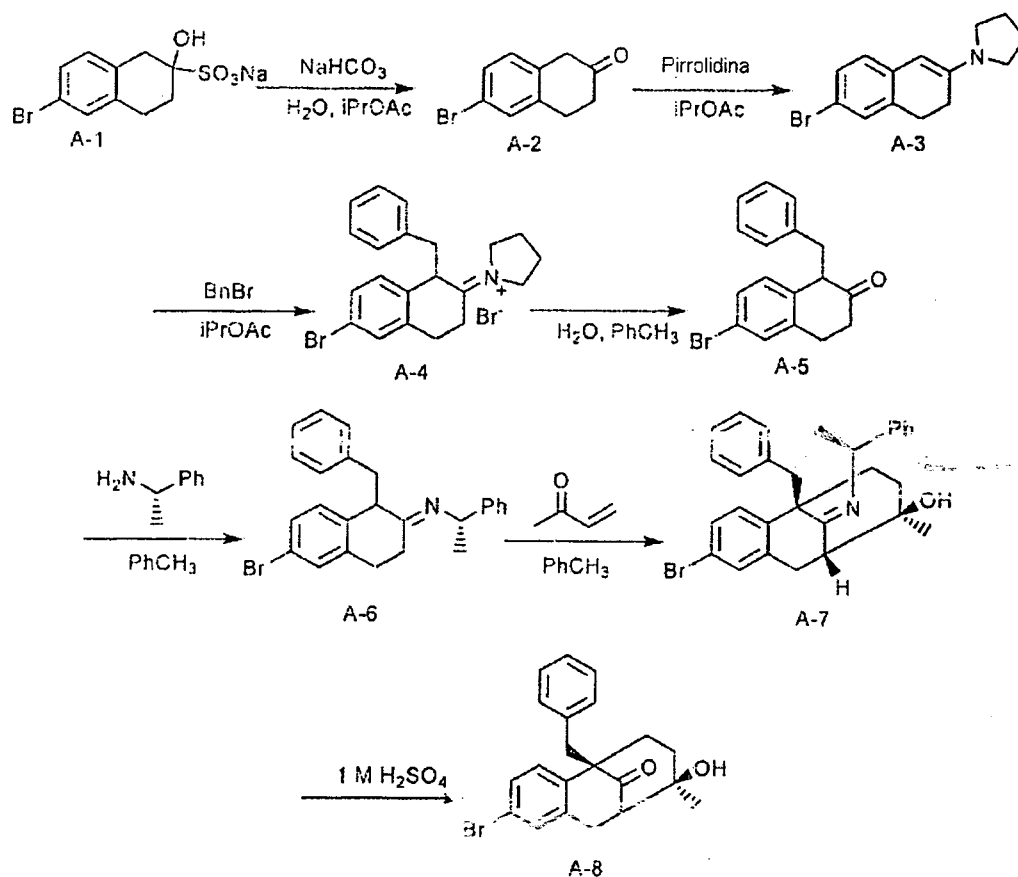
121

espectroscopía infrarroja, espectrofotometría (por ejemplo, UV-visible), o espectrometría de masas, o mediante cromatografía tal como cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o cromatografía en capa fina.

Los materiales de partida usados en el presente documento están o bien comercialmente disponibles o se pueden preparar mediante procedimientos de síntesis de rutina.

Los esquemas de síntesis general se presentan con el fin de ilustración y no se pretende que sean limitantes.

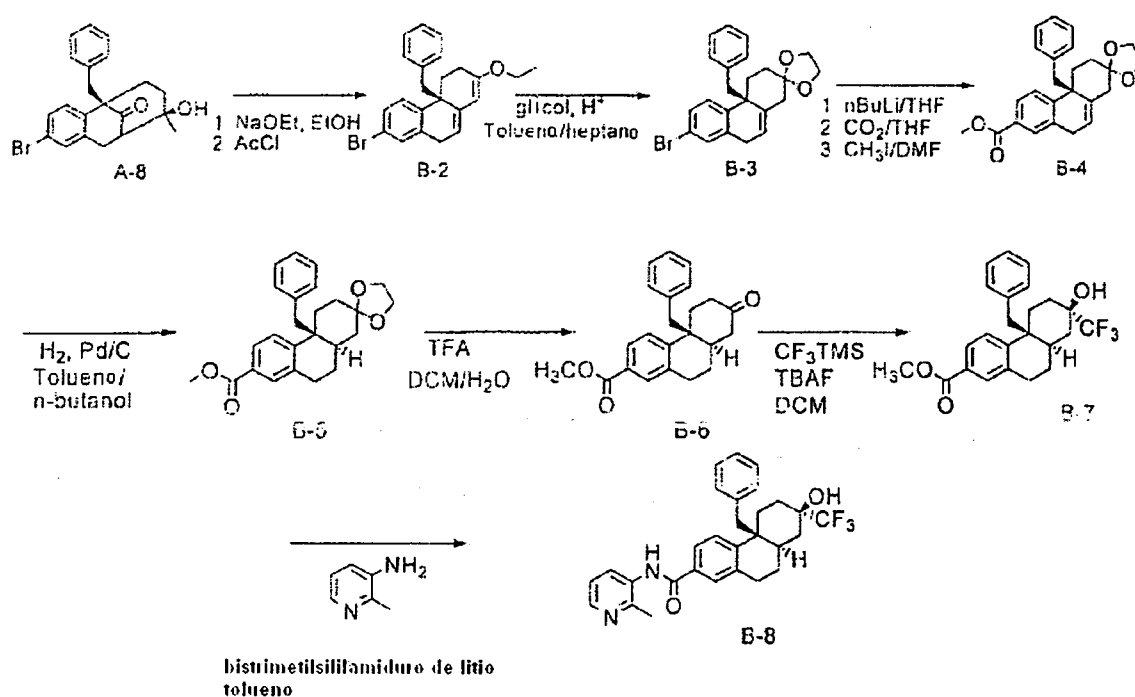
10

ESQUEMA A

El 1(R)-bencil-5-bromo-9-(S)-hidro-10(R)-hidroxi-10(R)-metil-triciclo [7.3.1.0^{2,7}]trideca-2,4,6-trien-13-ona de la fórmula A-8 se preparó usando el protocolo descrito en el Esquema A, que se describe en general en el documento WO 00/66522. Ph representa Fenilo. Bn representa Bencilo. El compuesto A-1 se puede comprar (por ejemplo, VOUS y Riverside; CAS N° 4133-35-1). El compuesto A-2 se puede preparar como se describe en Org. Syn. 1971, 51, 109 - 112.

10

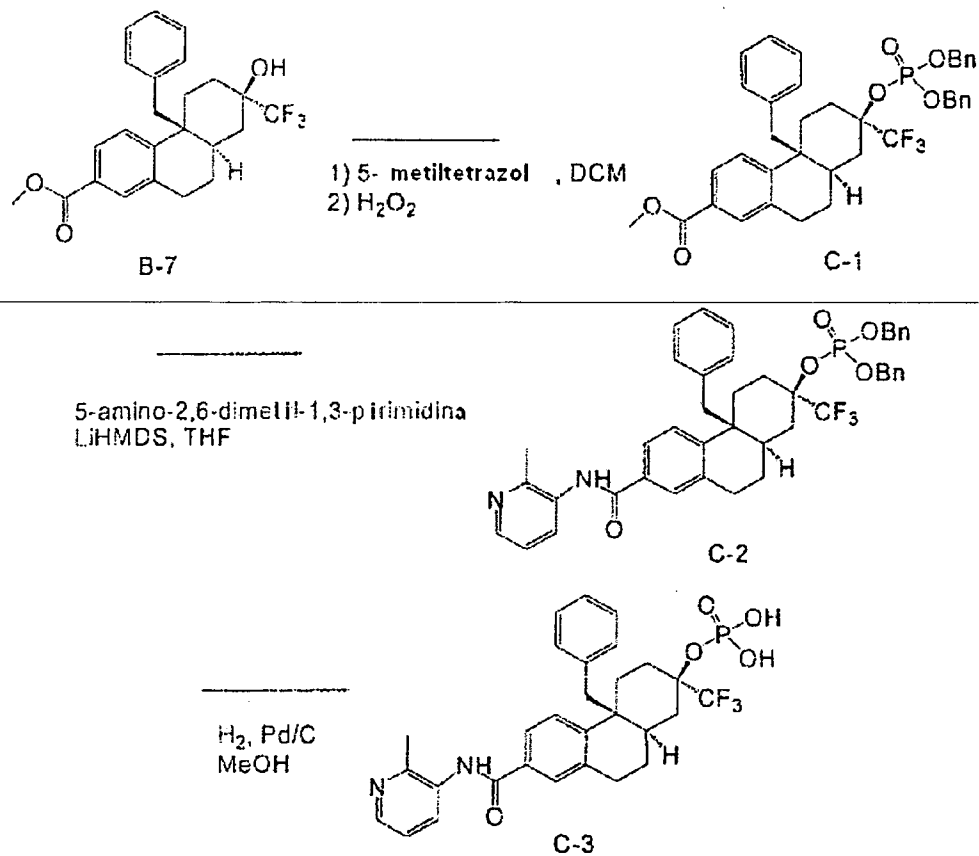
ESQUEMA B



El (4βS,7R,8αR)-4β-bencil-7-hidroxi-N-(2-metilpiridin-3-il)-7-(trifluorometil)-4b,5,6,7,8,8α,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxamida se preparó como se describe en el Esquema B.

123

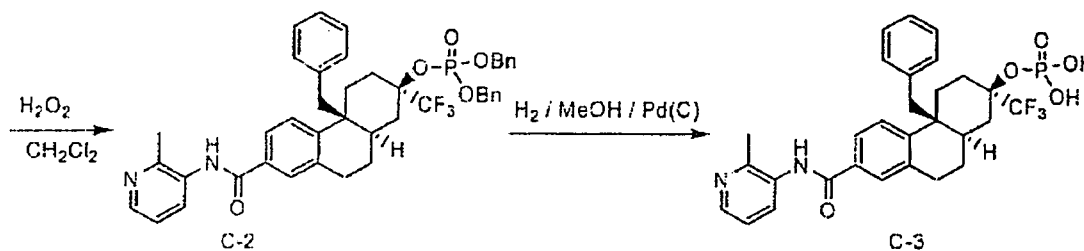
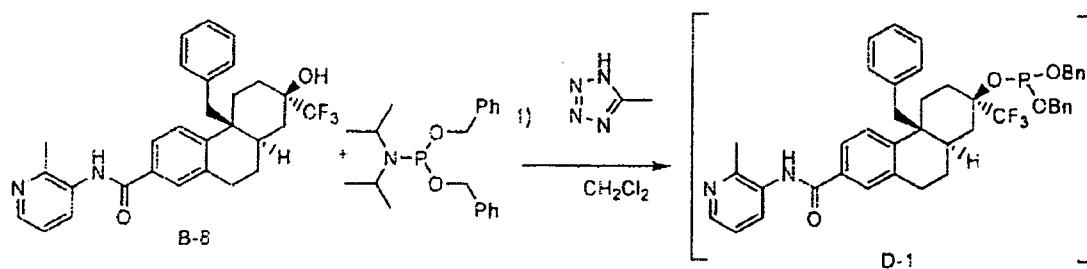
ESQUEMA C



El (2R, 4aS, 10aR)-4a-bencil-7-((2-metilpiridin-3-il)carbamoil)-2-(trifluorometil)-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahidrofenantren-2-il dihidrógeno fosfato de C-3 se preparó como se ha descrito en el Esquema C. Bn representa bencilo

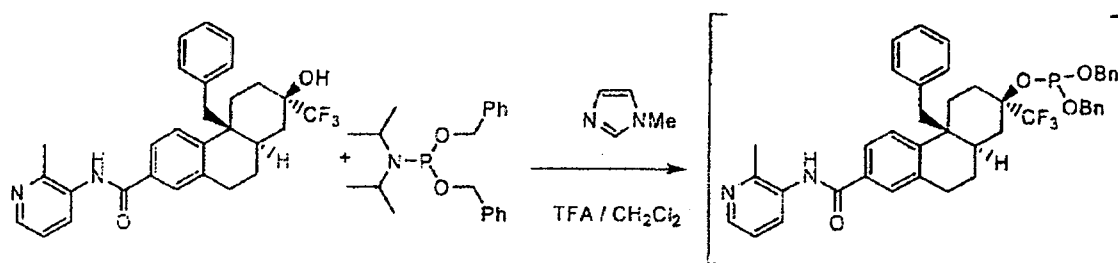
124

ESQUEMA D

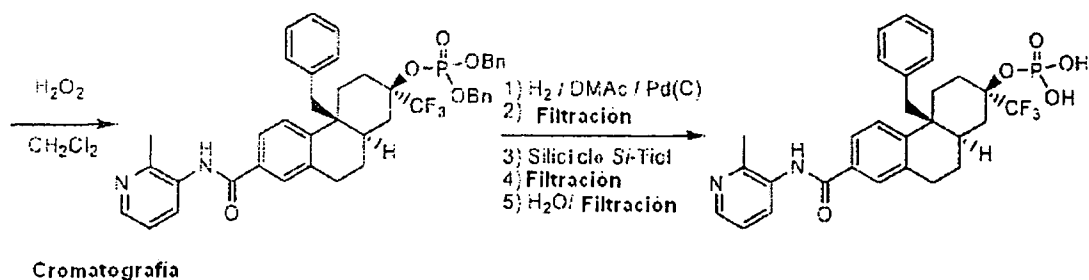


El (2R, 4 α S, 10 α R)-4 α -bencil-7-((2-metilpiridin-3-il)carbamoil)-2-5 (trifluorometil)-1,2,3,4,4 α ,9,10,10 α -octahidrofenantren-2-il dihidrógeno fosfato de C-3 se preparó como se ha descrito en el Esquema D. Bn representa bencilo. Ph representa fenilo.

ESQUEMA E



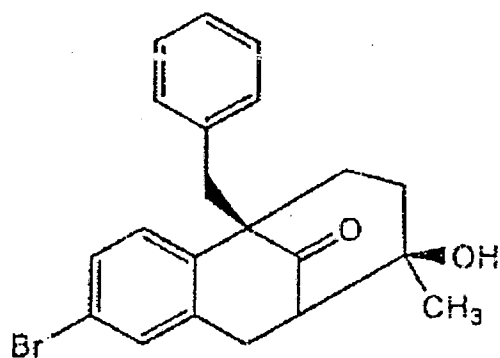
OS



El (2R, 4αS, 10αR)-4α-bencil-7-((2-metilpiridin-3-il)carbamoil)-2-(trifluorometil)-1,2,3,4,4α,9,10,10α-octahidrofenantren-2-il dihidrógeno de C-3 se preparó como se ha descrito en el Esquema E. Bn representa bencilo. Ph representa fenilo.

H. PREPARACIONES Y EJEMPLOS

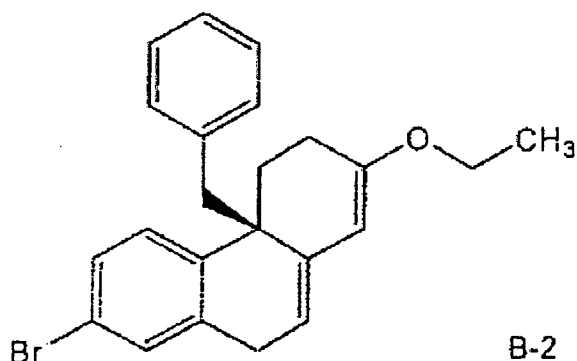
El material de partida A-8 es 1(R)-bencil-5-bromo-9-(S)-hidro-10(R)-hidroxi-10(R)-metil-triciclo[7.3.1.0^{2,7}]trideca-2,4,6-trien-13-ona como se muestra en la siguiente fórmula:



A-8

15 Preparación 1: (S)-4α-bencil-7-bromo-2-etoxi-3,4,4α,9-tetrahidrofenantreno

126

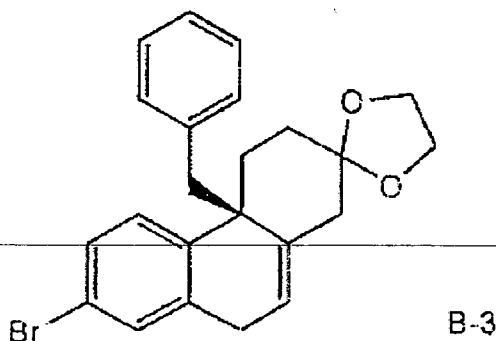


El material de partida A-8 (450 g, 1,17 moles) se disolvió en etanol (4,5 l) a temperatura ambiente. Se añadió etóxido de sodio al 21% en etanol (44 ml; 0,12 moles) y la mezcla se calentó a reflujo durante tres horas. Una vez que se consumió el material de partida A-8, se enfrió la mezcla de reacción hasta -25°C. Se añadió lentamente cloruro de acetilo (250 ml; 3,51 moles) a la mezcla mientras que la temperatura se mantenía a aproximadamente -25°C. Después que se completó la adición, la mezcla se calentó hasta 0°C y se mantuvo hasta que la enona intermedia se consumió. En este momento la mezcla era una suspensión, se añadió etóxido de sodio al 21% en etanol (1,31 l; 3,51 moles) a la mezcla mientras se mantenía la mezcla entre -5°C y 5°C. Si la mezcla no era básica, se añadió más etóxido de sodio. La temperatura de la mezcla aumentó hasta 25°C y después se diluyó con agua (5,9 l). Se filtró la mezcla y el sólido se lavó con agua (3 X). El compuesto del título (440 g; 85% de área) se obtuvo en forma de un sólido de color beige. ¹H RMN (DMSO) δ ppm: 1,27 (t, 3 H), 1,65 dt, 1 H), 2,06 (d, 1 H), 2,21 (dd, 1 H), 2,49 (m, 1 H), 2,65 (m, 2 H), 2,89 (m, 2 H), 3,85 (c, 2 H), 5,45 (m, 2 H), 6,44 (d, 2 H), 6,98 (t, 2 H), 7,06 (m, 2 H), 7,25 (d, 1 H), 7,33 (dd, 1 H).

Preparación 2: (S)-4α-bencil-7-bromo-2,2-(1,2-etilendioxi)-1,2,3,4,4α,9-

123

hexahidrofenantreno



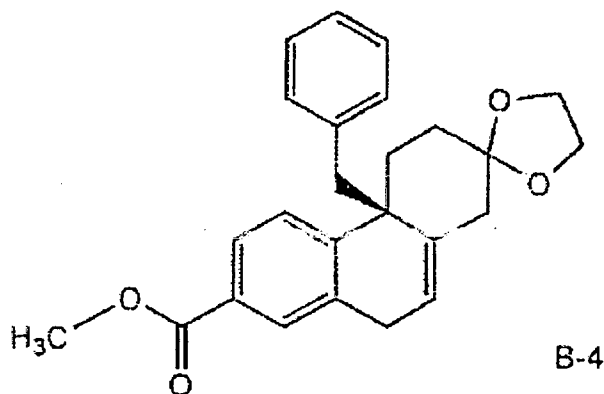
- 5 El (S)-4α-bencil-7-bromo-2-etoxi-3,4,4α,9-tetrahidrofenantreno (1720 g, 3,2 moles, 85% de área, que se puede preparar como se ha descrito en la preparación 1) se disolvió en tolueno (6,45 l). Se añadieron el etilen glicol (898 ml; 16,1 moles) y ácido p-toluenosulfónico (6,1 g; 0,03 moles) y la reacción se calentó a reflujo. Se destiló el disolvente (1 l) de la mezcla y se reemplazó con
- 10 tolueno reciente (1 l). Este proceso de destilación se repitió dos veces más. Se añadió más ácido p-toluenosulfónico (6,1 g) cada vez que se añadía tolueno reciente. Durante la reacción, se formaron dos intermedios (detectados por LC) a medida que el sustrato se convertía en producto. El punto final de la reacción era un punto de equilibrio entre los dos intermedios y el producto. Una vez que
- 15 se alcanzó el punto final, la mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla se lavó con NaOH 0,5 M (2 l). Se separaron las fases rápidamente y ambas eran oscuras con una pequeña fase deshilachada. La mezcla se lavó agua (2 l). se separaron las fases lentamente. La mezcla se secó mediante destilación azeotrópica. Se añadió metanol (4 l) a la mezcla y se destiló el
- 20 disolvente (4 l) de la mezcla. Se repitió la adición de metanol y destilación de

128

disolvente dos veces más. Se añadió metanol a la mezcla y se produjo precipitación unos minutos más tarde. Se añadió más metanol (4 l) a la mezcla y después se llevó a reflujo. Después de 30 minutos. La mezcla se enfrió hasta 0°C. La mezcla se filtró y se lavó el sólido con metanol enfriado (2 X 2 l). Se
 5 secó el sólido en una estufa de vacío a 65°C. Se obtuvo el compuesto del título (882 g; 98% de área) en forma de un sólido de color beige. ^1H RMN (DMSO) δ ppm: 1,71 (m, 2 H), 2,06 (m, 2 H), 2,31 (dd, 1 H), 2,39 (m, 1 H), 2,68 (d, 1 H), 2,77 (m, 1 H), 2,86 (dd, 1 H), 3,36 (d, 1 H), 3,86 (m, 4 H), 5,45 (m, 1 H), 6,50 (m, 2 H), 7,00 (m, 4 H), 7,37 (dd, 1 H), 7,44 (dd, 1 H).

10

Preparación 3: (S)-4 β -bencil-7,7-(1,2-etilendioxi)-4 β ,5,6,7,8,10-hexahidrofenantreno-2-carboxilato de metilo



15

El (S)-4 α -bencil-7-bromo-2,2-(1,2-etilendioxi)-1,2,3,4,4 α ,9-hexahidrofenantreno (719 g, 1,75 moles. que se puede preparar como se ha descrito en la preparación 2) se disolvió en tetrahidrofurano (7,19 l) y se enfrió hasta -70°C. Se añadió el n-butil litio 1,6 M en hexano (2270 ml; 2,27 moles) a

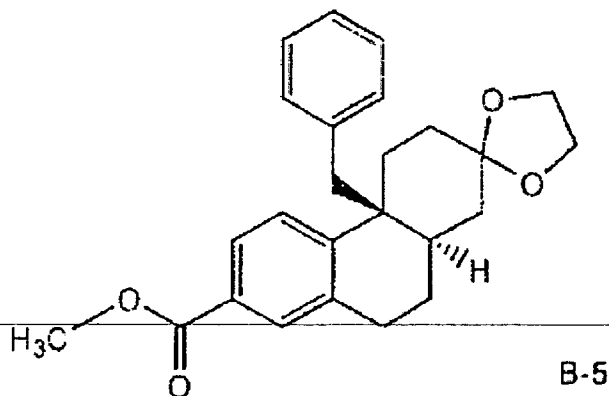
129

una velocidad que la temperatura se mantuvo por debajo de -60°C . Se mantuvo la mezcla 15 minutos adicionales después de la adición. Se añadió dióxido de carbono (108 g; 2,45 moles) mientras que la temperatura se mantenía por debajo de -60°C . Se mantuvo la mezcla 15 minutos adicionales después de la adición. La mezcla se calentó hasta temperatura ambiente. Se destiló el disolvente (7 l) de la mezcla a presión atmosférica. Se añadió DMF (7 l) a la mezcla. Se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente. Se añadió yoduro de metilo (152 ml; 2,45 moles) y la mezcla se mantuvo hasta que se completó la reacción (~ 1 hora). La mezcla se calentó hasta 70°C y se destiló el disolvente reduciendo la presión gradualmente hasta 70 mm Hg (9,3326 kPa). Una vez que cesó la destilación, la mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente. Se añadió lentamente agua (6,5 l) a la mezcla para precipitar el producto. Se filtró la mezcla y el sólido se lavó con agua (3 X). Se secó el sólido sobre el filtro.

. Se obtuvo el compuesto del título (736 g; 74% de área) en forma de un sólido de color beige. El producto se purificó mediante cromatografía. 463 g de producto se recuperaron de la cromatografía. Este material se separó en n-heptano (6130 ml). Se recuperaron 394 g del compuesto del título. Se recuperaron otros 70 g del compuesto del título a partir de las aguas madre mediante cromatografía. ^1H RMN (DMSO) δ ppm: 1,74 (m, 2 H), 2,10 (m, 2 H), 2,33 (dd, 1 H), 2,45 (m, 1 H), 2,72 (d, 1 H), 2,79 (m, 1 H), 2,94 (dd, 1 H), 3,40 (d, 1 H), 3,87 (m, 4 H), 5,49 (m, 1 H), 6,47 (m, 2 H), 6,93 (m, 2 H), 7,01 (m, 1 H), 7,42 (d, 1 H), 7,64 (d, 1 H), 7,79 (dd, 1 H).

Preparación 4: (4 β S,8 α R)-4 β -bencil-7,7-(1,2-etilendioxi)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-
octahidrofenantreno-2-carboxilato de -metilo

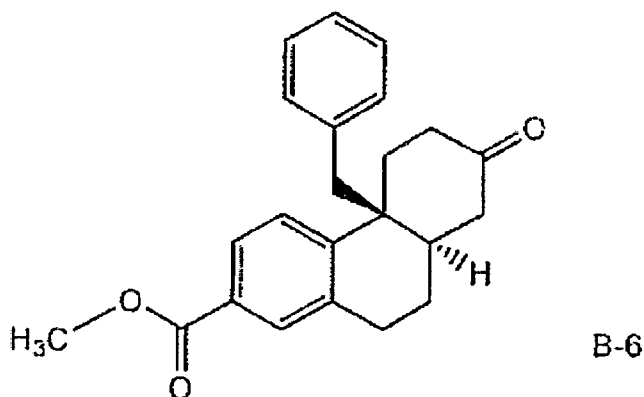
130



El 4β-bencil-7,7-(1,2-etilendioxi)-4β,5,6,7,8,10-hexahidrofenantreno-2-carboxilato de (S)-metilo (201 g, 0,515 moles, que se puede preparar como se ha descrito en la preparación 3) y se disolvieron 50 ml de etilen glicol en tolueno (2,0 l) en un autoclave. A esto se añadieron 10 gramos de Pd al 5% / C (catalizador seco). Después el autoclave se selló y se purgó con nitrógeno (tres ciclos) seguido de hidrógeno (tres ciclos). Se desarrolló la reacción durante 18 horas con una presión de 80 psig (551,58 kPa) y temperatura de 50°C. El análisis de HPLC para la finalización y selectividad (las selectividades típicas son: 95 a 5, Trans a Cis). La suspensión se filtró a través de Celite ® para retirar el catalizador y se concentra la solución de tolueno a 50°C, bajo vacío, hasta aproximadamente 200 ml. Mientras se mantenía a 50°C, se añadió 1 l de 1-butanol y la solución se calentó hasta 60°C, hasta que se volvió transparente. Tras el enfriamiento, el compuesto del título sólido resultante se aisló mediante filtración a vacío (196 g; 97%; Trans a Cis 95,75 a 4,24). ¹H RMN (CDCl₃, 300 MHz) δ ppm: 7,79 (s a, 1 H, Ar-H), 7,47 (d, J = 9 Hz, 1 H, Ar-H), 7,13 - 7,05 (cm, 3 H, Ar-H), 6,56 - 6,53 (d, J = 9 Hz, 1 H, Ar-H), 4,04 - 3,93 (cm, 4 H, 2-CH₂), 3,89 (s, 3 H, CH₃), 3,08 - 3,03 (cm, 3 H, CH₂, CH-H), 2,63 (d, J = 15 Hz,

CH-H), 2,22 - 1,72 (cm, 8 H, 4-CH₂), 1,57 (cm, 1 H, CH-H).; ¹³C RMN (CDCl₃, δ): 167,7, 149,2, 137,7, 136,4, 131,1, 130,5, 127,8, 127,7, 127,4, 126,3, 125,6, 108,9, 64,6, 64,5, 52,1, 40,5, 39,8, 38,3, 35,8, 31,6, 30,3, 27,9, 24,6.

5 Preparación 5: (4βS,8αR)-4β-bencil-7-oxo-4β,5,6,7,8,8α,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxilato de metilo

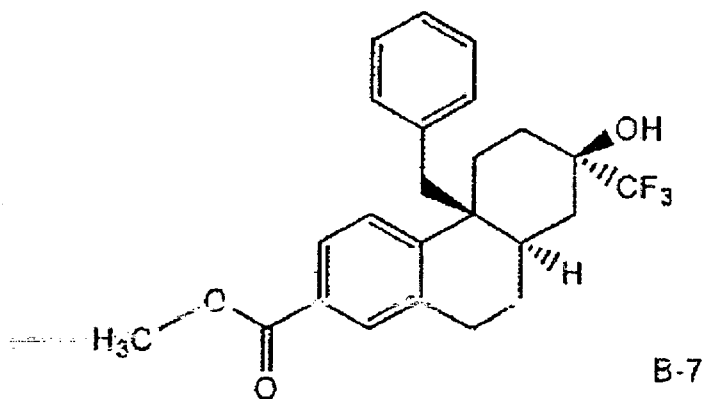


- 10 El 4β-bencil-7,7-(1,2-etilendioxi)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxilato de (4βS,8αR)-metilo (150 g, 382 mmoles, que se puede preparar como se ha descrito en la preparación 4) se disolvió en diclorometano (630 ml). Se añadió agua (270 ml) con agitación seguido de ácido trifluorocético (73 ml, 1150 mmol) mediante un embudo de adición durante 30 minutos,
- 15 manteniendo la temperatura interna por debajo de 30°C. Después de que se completó la adición, la reacción se calentó a 40°C durante 2 horas. En el proedimiento la comprobación indicó la reacción incompleta con aproximadamente 9% (porcentaje de área) de material de partida. Se separaron las fases y se añadió agua reciente (270 ml) y ácido trifluoroacético

132

(31 ml). La mezcla de reacción se calentó a 40°C durante 1 hora. Este procedimiento se continuó hasta que se consumió el material de partida. Se lavó la fase orgánica con bicarbonato sódico acuoso al 5% (300 ml), agua (300 ml) y se secó sobre MgSO_4 y se concentró hasta sequedad proporcionando 126,4 g del compuesto del título (que representa un 95% de rendimiento). ^1H RMN (DMSO) δ ppm: 7,70 (s, 1 H), 7,37 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 7,11 (m, 3 H), 6,6 (d, $J = 5,70$ Hz, 2 H), 6,45 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 3,80 (s, 3 H), 3,80 (m, 2 H), 3,04 - 1,48 (m, 11 H).

10 Preparación 6: (4 β S,7R,8 α R)-4 β -bencil-7-hidroxi-7-(trifluorometil)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10- octahidrofenantreno-2-carboxilato de metilo

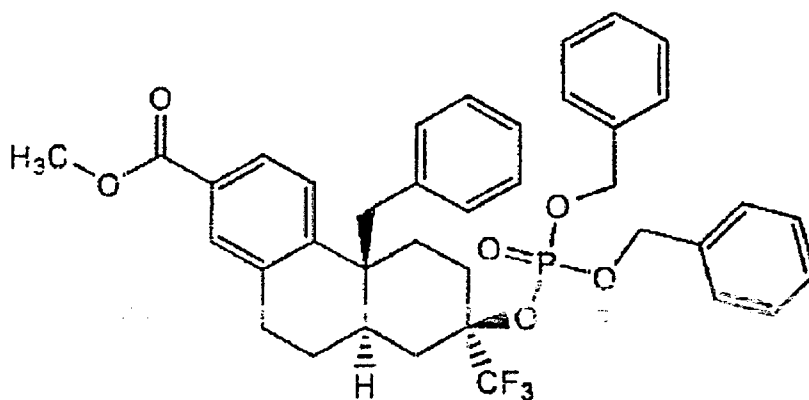


15 El 4 β -bencil-7-oxo)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxilato de (4 β S,8 α R)-metilo (118 g, 0,339 moles, que se puede preparar como se ha descrito en la preparación 5) disuelto en diclorometano se enfrió hasta -50°C. La solución se volvió turbia. Se añadió una solución en THF (3,4 ml, 0,003 mol) de fluoruro de tributilamonio sin cambio apreciable de temperatura. Se añadió

133

- trifluorometilsilano (79 ml, 0,51 mol) durante 20 minutos con un cambio de color de naranja brillante a color rojo oscuro. La mezcla de reacción se mantuvo a -50°C durante aproximadamente 2 horas y después se dejó calentar hasta 0°C. Se añadió bromuro de tetrabutilamonio (340 ml, 0,34 moles) muy lentamente a
- 5 0°C, a la mezcla de reacción durante 45 minutos. Se observó una exotermia con desprendimiento de gas. La mezcla de reacción se agitó 10 minutos y el análisis de HPLC indicó la desililación completa. Se añadió agua (1 l) a la mezcla de reacción y con agitación vigorosa y se dejó calentar hasta temperatura ambiente. Se lavó la fase orgánica con agua (8 l). Se concentró la fase
- 10 orgánica y se cromatografió produciendo 72 g, 51% del compuesto del título, con 32 g adicionales de producto impuro. ^1H RMN (DMSO) δ ppm: 7,70 (s, 1 H), 7,37 (d, $J = 8,1$ Hz, 1 H), 7,09 (m, 3 H), 6,5 (d, $J = 1,2, 6,6$ Hz, 2 H), 6,38 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 3,80 (s, 3 H), 3,80 (m, 2 H), 3,09 - 1,21 (m, 13 H).

- 15 **Preparación 7: (4 β S,7R,8 α R)-4 β -bencil-7-(bis(benciloxi)fosforiloxi)-7-(trifluorometil)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxilato de metilo**



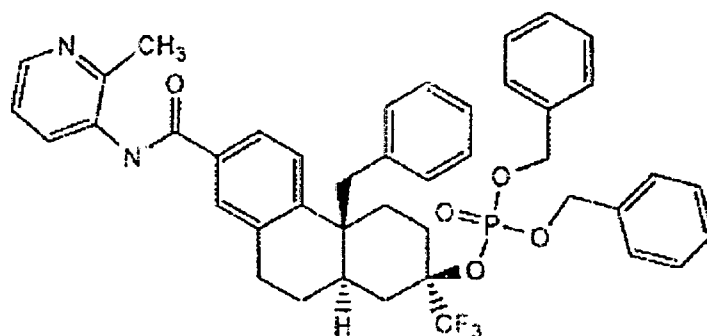
C-1

134

El 4 β -bencil-7-hidroxi)-7-(trifluorometil)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxilato de (4 β S,7R,8 α R)-metilo (5,0 g, 11,9 mmol, que se puede preparar como se ha descrito en la preparación 6) y 5-
5 metiltetrazol (3,6 g; 43,0 mmol) se mezclaron conjuntamente en diclorometano (50 ml) a temperatura ambiente. Se añadió dibencilfosforamidita (8,3 ml; 25,1 mmol) y la mezcla se agitó hasta que la reacción se completó (1 hora). La mezcla se enfrió hasta 0°C y se añadió peróxido de hidrógeno al 30%. La reacción se agitó hasta que se completó la oxidación (30 minutos). Se separó
10 la fase acuosa de la fase orgánica. La fase orgánica se lavó con metabisulfito de sodio al 105. Se secó la fase orgánica con sulfato de magnesio anhidro y se concentró. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía en gel de sílice con acetato de etilo al 15% en hexanos. Se obtuvo el compuesto del título purificado (8,41 g; 94% de rendimiento) en forma de un aceite incoloro que
15 contenía acetato de etilo al 6% en peso. ¹H RMN (DMSO) δ : 1,31 (t, 1 H), 1,63 - 1,92 (m, 3 H), 2,05 - 2,35 (m, 3 H), 2,63 (d, 1 H), 2,75 - 3,16 (m, 4 H), 3,80 (s, 3 H), 5,13 (m, 4 H), 6,43 (d, 1 H), 6,49 (m, 2 H), 7,04 - 7,17 (m, 3 H), 7,33 - 7,42 (m, 12 H), 7,71 (d, 1 H).

Preparación 8: (2R,4 α S,10 α R)-4 α -bencil-7-((2-metilpiridin-3-il)carbamoil)-2-(trifluorometil)-1,2,3,4,4 α ,9,10,10 α -octahidrofenantreno-2-ilfosfato de dibencilo
20

135



C-2

El 4 β -bencil-7-hidroxi)-7-(bis(benciloxi)fosforiloxi)-7-(trifluorometil)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxilato de (4 β S,7R,8 α R)-metilo

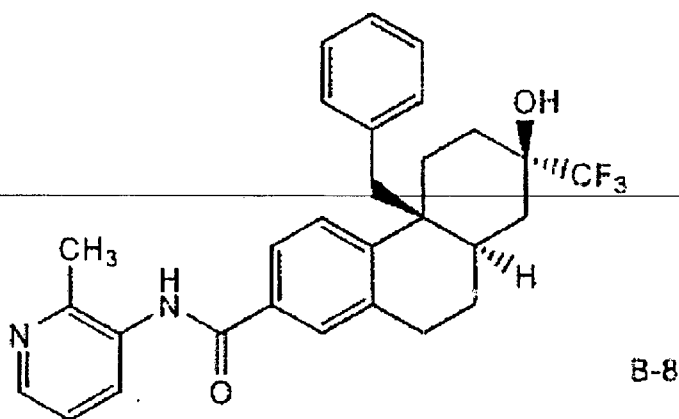
5 (7,9 g, 11,6 mmol, que se puede preparar como en la preparación 7) y 3-amino-2-picolina (1,3 g; 12,2 mmol) se mezclaron conjuntamente en tetrahidrofurano (80 ml) y se enfrió hasta 0°C. Se añadió la solución 1 M de bis(trimetilsilil)amiduro de litio en tetrahidrofurano (24 ml; 24,4 mmol) mientras se mantenía la temperatura por debajo de 10°C. La mezcla se agitó durante 30

10 minutos. Se añadió agua (30 ml) a la mezcla de reacción. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. Se lavó el extracto orgánico con agua. Se secó la fase orgánica con sulfato de magnesio anhidro y se concentró. Se purificó el producto bruto mediante cromatografía en gel de sílice con acetato de etilo al 70% en hexanos. Se obtuvo el compuesto del título purificado (6,79 g; 68% de

15 rendimiento) en forma de una goma de color amarillo que contenía 6% de acetato de etilo en peso. ^1H RMN (DMSO) δ ppm: 1,33 (t, 1 H), 1,66 - 1,93 (m, 3 H), 2,08 - 2,34 (m, 3 H), 2,41 (s, 3 H), 2,68 (d, 1 H), 2,76 - 3,19 (m, 4 H), 5,14 (m, 4 H), 6,47 (d, 1 H), 6,56 (m, 2 H), 7,07 - 7,19 (m, 3 H), 7,20 - 7,53 (m, 12 H), 7,71 (d, 1 H), 7,76 (s, 1 H), 8,32 (d, 1 H), 9,93 (s, 1 H).

126

Ejemplo 1: (4 β S,7R,8 α R)-4 β -bencil-7-hidroxi-N-(2-metilpiridin-3-il)-7-(trifluorometil)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxamida



5

El 4 β -bencil-7-hidroxi)-7-(trifluorometil)-4 β ,5,6,7,8,8 α ,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxilato de (4 β S,7R,8 α R)-metilo (10 g, 23,9 mmol, que se puede preparar como en la preparación 6) y 3-amino-2-picolina (2,71 g; 25,1 mmol) se disolvieron en tolueno (200 ml). Se añadió

10 bis(trimetilsilil)amiduro de litio 1 M en tetrahidrofurano (74,1 ml; 74,1 mmol) a una velocidad tal que la temperatura se mantenía por debajo de 35°C. Existía una exotermia suave y precipitó un sólido durante la adición. La mezcla se mantuvo durante 30 minutos adicionales después de la adición. Se añadió

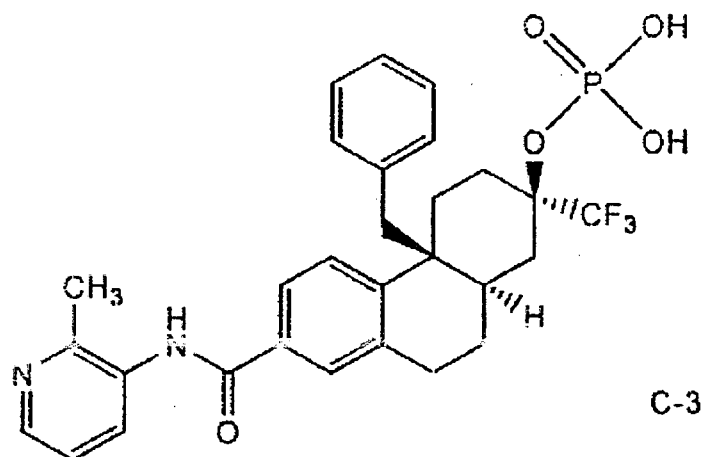
15 agua (250 ml) a la mezcla. Existía una exotermia suave y se disolvió el sólido. Se añadió acetato de etilo (50 ml) a la mezcla para asegurar que el producto no precipitaba. Se detuvo la agitación para permitir que las fases se separaran. Se retiró la fase acuosa. Se lavó la fase orgánica con agua (250 ml). Se destiló el disolvente (230 ml) a presión atmosférica a partir de la fase orgánica. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla se filtró y el sólido se

137

lavó con tolueno (2 veces) seguido de heptano (2 veces). Se secó el sólido en una estufa de vacío a 70°C. Se obtuvo el compuesto del título de la presente invención (10 g) en forma de un sólido de color beige. ^1H RMN (DMSO) δ ppm: 1,32 (m, 1 H), 1,82 (m, 4 H), 2,10 (m, 4 H), 2,41 (s, 3 H), 2,68 (d, 1 H), 3,08 (m, 3 H), 6,00 (s, 1 H), 6,43 (d, 1 H), 6,59 (m, 2 H), 7,12 (m, 3 H), 7,25 (dd, 1 H), 7,44 (dd, 1 H), 7,71 (dd, 1 H), 7,75 (d, 1 H), 8,31 (dd, 1 H), 9,91 (s, 1 H).

Ejemplo 2: (2R,4 α S,10 α R)-4 α -bencil-7-((2-metilpiridin-3-il)- carbamoil)-2-(trifluorometil)-1,2,3,4,4 α ,9,10,10 α -octahidrofenantreno-2-il dihidrógeno

10 fosfato



El (2R,4 α S,10 α R)-4 α -bencil-7-((2-metilpiridin-3-il)carbamoil)-2-(trifluorometil)-1,2,3,4,4 α ,9,10,10 α -octahidrofenantren-2-ilfosfato de dibencilo (6 g; 7,9 mmol, que se puede preparar como en la preparación 5) se disolvió en metanol (120 ml). Se añadió paladio al 5% sobre carbono (63% de agua) (1,3 g; 0,4 mmol) a la mezcla. La mezcla se trató con hidrógeno (50 psi

138

(344,74 kPa)) a temperatura ambiente. La reacción se detuvo con 12% del intermedio monobencílico remanente. La mezcla se filtró a través de un lecho de Celite ®. Se añadió catalizador reciente (1,3 g) a la solución y se volvió a someter a las condiciones de hidrogenación. Una vez que se completó la

5 reacción, la mezcla se filtró a través de un lecho de Celite ®. La solución se concentró hasta aproximadamente 60 ml mediante destilación y no mediante el uso de un evaporador rotatorio. Durante la destilación precipitó un sólido de color blanco. La mezcla se enfrió hasta temperatura ambiente. La mezcla se filtró y se lavó el sólido con metanol. El sólido se secó en una estufa de vacío a

10 70°C. Se obtuvo el compuesto del presente ejemplo (3,36 g; 75% de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco y tenía una pureza por LC de 98% de área. ¹H RMN (DMSO) δ ppm: 1,31 (t, 1 H), 1,69 - 1,98 (m, 3 H), 2,07 - 2,29 (m, 3 H), 2,42 (s, 3 H), 2,61 - 2,80 (m, 2 H), 2,93 - 3,19 (m, 3 H), 3,30 (d, 1 H), 6,50 (d, 1 H), 6,64 (m, 2 H), 7,08 - 7,20 (m, 3 H), 7,29 (dd, 1 H),

15 7,48 (dd, 1 H), 7,75 (dd, 2 H), 8,33 (dd, 1 H), 9,96 (s, 1 H).

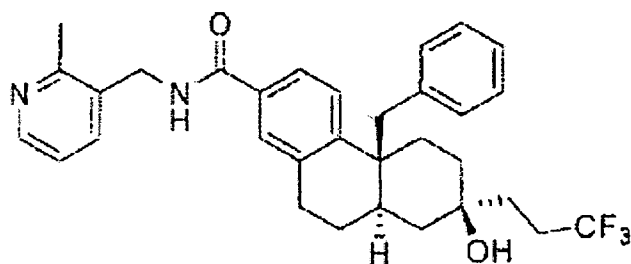
I. DATOS BIOLÓGICOS

Para las siguientes descripciones, los comparadores son compuestos tricíclicos (véase, por ejemplo, el documento WO 2000/66522). Los

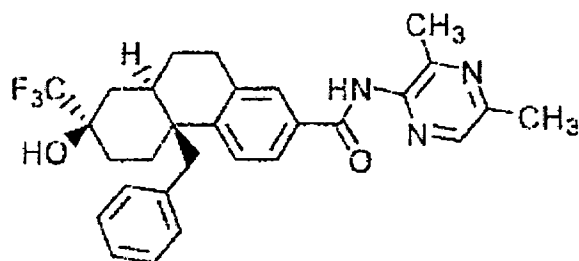
20 compuestos de ejemplo y comparadores se prepararon en Pfizer. Se usó Prednisolona como un comparador clínicamente relevante (P-6004; Sigma-Aldrich, St. Louis).

El comparador A es (4βS,7S,8αR)-4β-bencil-7-hidroxi-N-((2-metilpiridin-3-il)metil)3,3-trifluoropropil)-4β-5,6,7,8,8α,9,10-octahidrofenantreno-2-

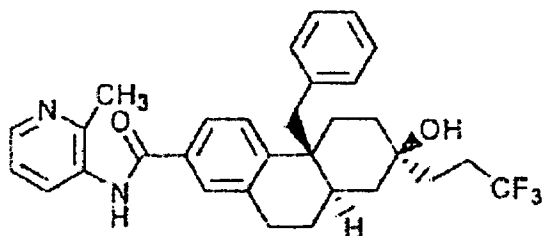
25 carboxamida que tiene la siguiente estructura:



El comparador B es (4 β S,7R,8 α R)-4 β -bencil-N-(3,5-dimetilpirazin-2-il)-7-hidroxi-7-(trifluorometil)-4 β -,6,7,8,8 α ,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxamida, que tiene la siguiente estructura:



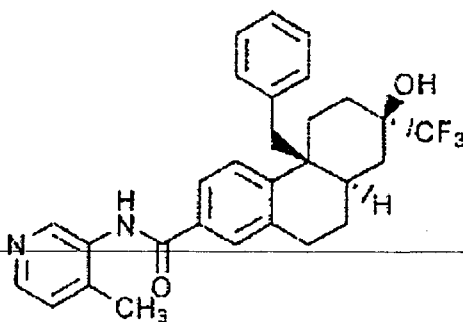
El comparador C es (4 β S,7S,8 α R)-4 β -bencil-7-hidroxi-N-(2-metilpiridin-3-il)-7-(3,3,3-trifluoropropil)-4 β -,6,7,8,8 α ,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxamida, que tiene la siguiente estructura:



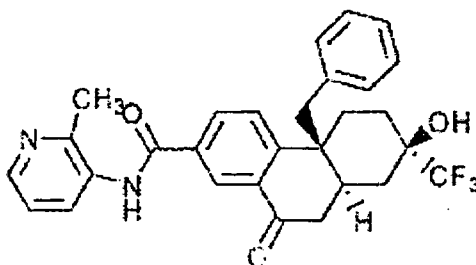
El comparador D es (4 β S,7R,8 α R)-4 β -bencil-7-hidroxi-N-(4-metilpiridin-3-

140

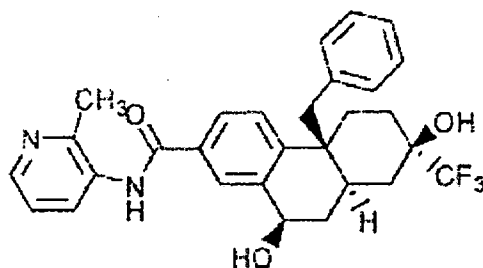
il)-7-(trifluorometil)-4 β ,,6,7,8,8 α ,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxamida, que tiene la siguiente estructura:



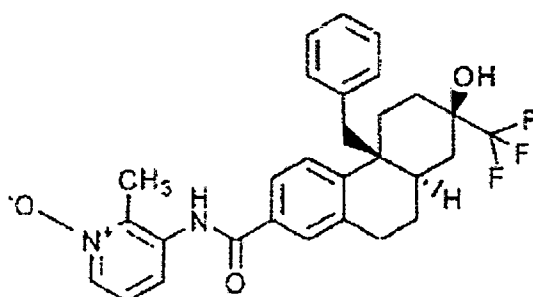
- 5 El comparador E es (4 β S,7R,8 α S)-4 β -bencil-7-hidroxi-N-(2-metilpiridin-3-il)-10-oxo-7-(trifluorometil)-4 β ,6,7,8,8 α ,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxamida, que tiene la siguiente estructura:



- 10 El comparador F es (4 β S,7R,8 α R,10R)-4 β -bencil-7,10-dihidroxi-N-(2-metilpiridin-3-il)-7-(trifluorometil)-4 β ,,6,7,8,8 α ,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxamida, que tiene la siguiente estructura:

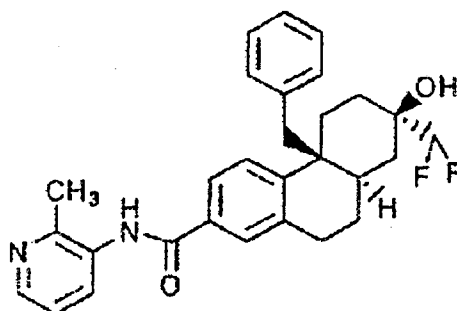


El comparador G es:



5

El comparador H es (4 β S,7R,8 α R)-4 β -bencil-7-(difluorometil)-7-hidroxi-N-(2-metilpiridin-3-il)-4 β ,6,7,8,8 α ,9,10-octahidrofenantreno-2-carboxamida, que tiene la siguiente estructura:

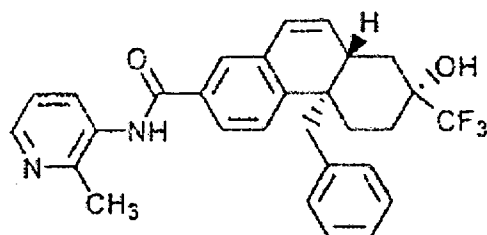


10

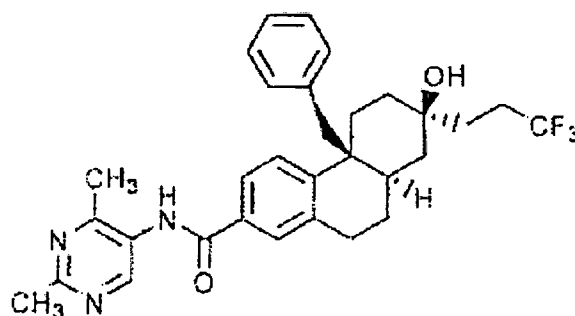
El comparador I es (4 β S,7R,8 α S)-4 β -bencil-7-hidroxi-N-(2-metilpiridin-3-il)-7-(trifluorometil)-4 β ,5,6,7,8,8 α -hexahidrofenantreno-2-carboxamida, que

142

tiene la siguiente estructura:

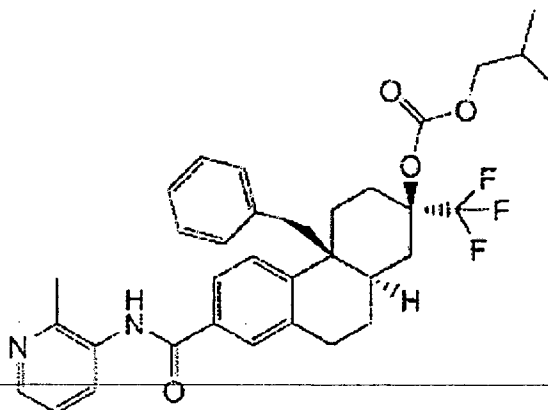


- El comparador J es (4βS,7S,8αR)-4β-bencil-N-(2,4-dimetilpirimidin-5-il)-
 5 7-hidroxi-7-(3,3,3-trifluoropropil)-4β,5,6,7,8,8α,9,10-octahidrofenantreno-2-
 carboxamida, que tiene la siguiente estructura:



- 10 El comparador K es (2R,4αS,10αR)-4α-bencil-7-((2- metilpiridin-3-
 il)carbamoil)-2-(trifluorometil)-1,2,3,4,4α,9,10,10α- octahidrofenantren-2-il-
 isobutil carbonato, que tiene la siguiente estructura:

143



Conversión del ejemplo 2 en el ejemplo 1

5 La monocapa de células Caco-2 es un modelo de cultivo titular *in vitro* del epitelio intestinal. Estas células son de origen de colon humano y se convierten en enterocitos polarizados completamente diferenciados en 2 - 3 semanas. Una vez diferenciadas, estas células tienen conexiones estrechas y expresan diversos procesos bioquímicos tales como transportadores de salida

10 activos que incluyen P-glicoproteína (P-gp). Con este modelo, es posible determinar la permeabilidad aparente (P_{app}) de un compuesto a través de la monocapa de células Caco-2 polarizadas.

Se realizó un ensayo $A \rightarrow B$ con las monocapas de células Caco-2 para determinar la P_{app} del compuesto de la cámara A a la cámara B. Esta P_{app} es

15 representativa del transporte del compuesto luminal (intestino) a sérico (sangre) a través del epitelio intestinal que se puede observar durante la absorción intestinal.

El ejemplo 2 no atravesó de manera significativa una monocapa de células Caco-2 ($A \rightarrow B$, $P_{app} = 1,15 \times 10^{-6}$ cm/seg), mientras que la aplicación del

144

ejemplo 2 al compartimiento apical dio como resultado una elevación significativa del Ejemplo 1 tanto en los compartimientos apicales como basolaterales.

Los datos indican un mecanismo que implica la desfosforilación del Ejemplo 2 en el Ejemplo 1 mediante las fosfatasas alcalinas unidas a membrana localizaads en el epitelio intestinal, seguido de la absorción del Ejemplo 1 a través de la monocapa de células Caco-2 ($A \rightarrow B$, $P_{app} = 37,5 \times 10^{-6}$ cm/seg),

La dosificación oral del Ejemplo 2 (30 y 200 mg/kg) en las ratas con cánulas en la vena portal dio como resultado la detección del Ejemplo 1, pero no del ejemplo 2, en muestra en plasma de vena portal durante un periodo de cuatro horas. Estos resultados indican la aparición de hidrólisis intestinal de primer paso del Ejemplo 2 en el Ejemplo 1 y absorción instestinal selectiva del Ejemplo 1.

El Ejemplo 2 muestra una solubilidad potenciada y disolución intrínseca, que da como resultado un perfil mejorado de absorción oral en ratas mediante el incremento de exposición (1,61 $\mu\text{g/ml}$ [vs. 0,46 $\mu\text{g.h/ml}$ para el Ejemplo 1]) y $C_{\text{máx}}$ (0,59 $\mu\text{g/ml}$ [vs. 0,13 $\mu\text{g/ml}$ para el Ejemplo 1]), así como una disminución del tiempo a $C_{\text{máx}}$ (0,8 horas [contra 1,5 horas para el Ejemplo 1]) en perros. La biodisponibilidad del Ejemplo 2 había mejorado cuando se compara con el Ejemplo 1 en ratas ($F = 59\%$ para el Ejemplo 2; $F = 17\%$ para el Ejemplo 1).

DATOS IN VITRO

Nombre	GRFP	IL-6	% de	TNF α	% de
	CI_{50} (nM)	CI_{50} (nM)	Inhibición	CI_{50} (nM)	inhibición

			de IL-6		de TNF α
Ejemplo 1 sal HCl	1,31	0,400	76,9	92,1 (28,8) ^a	77,1 (62) ^a
Ejemplo 1 base libre		0,360	86,1		
Ejemplo 2	79,0 (42) ^a	60 (17) ^a	60,2 (80) ^a		
Comparador A	7,10	> 36,4	59,9	> 1000	35
Comparador B	0,35	4	75,8		
Comparador C	1,22	1,1	82,6		
Comparador D	2,06	1,3	79,8		
Comparador E	1,18	1,1	79,7		
Comparador F	1,9	7	83,3		
Comparador G	2,13	2,1	80,1		
Comparador H	8,03	4,3	64,9		
Comparador I	9,12	2,8	67,5		

14/6

Comparador J	4,58	291	55		
Comparador K	895				
Prednisolona	0,526	4,2 (4,6) ^a	102 (100) ^a	14,9 (15,6) ^a	100

^a Indica los resultados adicionales que se encontraron.

GRFP: unión al receptor de glucocorticosteroides

Se usa la unión del ligando de polarización de fluorescencia del receptor de glucocorticosteroides (GRFP) para evaluar la unión directa de los compuestos de ensayo a la proteína de glucocorticosteroides de longitud completa (GR). Los reactivos para este ensayo se compran de Invitrogen en un kit de ensayo. Un ligando de GR marcado fluorescente se usa como un trazador fluorescente y los compuestos de ensayo compiten con el trazador fluorescente para la unión de GR. El cambio en el valor de polarización en la presencia de los compuestos de ensayo se debe a la unión de los compuestos de ensayo a GR y se usa para determinar la CI_{50} y afinidad de unión relativa de los compuestos de ensayo para GR.

CI_{50} y % de inhibición de IL-6

Se cultivaron células epiteliales de pulmón A549 humanas (Colección Americana de Cultivos Tipo, Rockville, MD) en medio de Kaighn F-12K con penicilina - estreptomicina (10 U/ml) y suero de bovino fetal inactivado por calor al 10% (todo de Invitrogen, Grand Island, NY). Se sembraron en placa células A549 a una densidad de 30.000 células/pocillo en placas de 96 pocillos y se incubaron durante toda una noche a 37°C y con CO₂ al 5%. Las células se

147

dejaron sin alimento en suero reemplazando el medio de crecimiento con el medio de Kaighn F-12K sin suero con penicilina - estreptomicina (10 U/ml) y, de nuevo, se incubaron durante toda una noche a 37°C y con CO₂ al 5%. El tercer día, el medio se reemplazó con medio sin suero reciente y las células se incubaron con o sin compuesto (el vehículo era DMSO a una concentración máxima de 0,1%) durante aproximadamente 1 hora y después se estimularon con 1 ng/ml de IL-1 β humano recombinante (R y D Systems, Mineápolis, MN) durante 20 horas a 37°C y con CO₂ al 5%. Los sobrenadantes celulares se recogieron para la determinación de los niveles de IL-6 usando placas de 96 pocillos MSD (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD) Single Spot según las instrucciones del fabricante. Las placas se leyeron con un lector MSD Sector Imagen 6000. Se usó prednisolona (1 μ M) como un inhibidor máximo y se define el control de inhibición al 100%. Se usó el vehículo para definir el control de inhibición al 0%. El porcentaje de inhibición para cada concentración de compuesto, con relación a estos controles, se calculó usando Excel (Microsoft, Redmond, WA). Los valores de CI₅₀ se generaron usando el software de análisis de datos GraFit 5.0 (Erithacus Software Ltd., Surrey Reino Unido).

CI₅₀ de y % de inhibición TNF α

Se cultivaron células premonocíticas U937 humanas (Colección Americana de Cultivos Tipo, Rockville, MD) en RPMI 1640 con glutamina (2 mM), penicilina - estreptomicina (10 U/ml) y suero de bovino fetal inactivado por calor al 10% (todo de Invitrogen, Grand Island, NY). Se diferenciaron las células hasta un fenotipo monocito / macrófago con forbol 12-miristato 13-acetato (Sigma - Aldrich, St. Louis, MO), 20 ng/ml, durante toda una noche. Después las células se centrifugaron, se aspiró el medio, las células se

148

volvieron a suspender en un volumen igual de medio RPMI 1640 recién preparado con glutamina y penicilina - estreptomicina y suero fetal bovino como se ha indicado anteriormente, y se incubaron durante 48 horas a 37°C y con CO₂ al 5%. Después de la recuperación, se retiraron las células, se contaron, y

5 se sembraron en placas de acuerdo con el diseño experimental antes de la estimulación con LPS, como se describe más adelante.

Se diferenciaron las células V937 y se sembraron en placas a una densidad de 200.000 células/pocillo en placas de 96 pocillos. Las células se incubaron con o sin compuesto (el vehículo era DMSO a una concentración

10 máxima de 1%) durante aproximadamente 1 hora y después se estimularon con 100 ng/ml de lipopolisacárido (LPS), E. coli serotipo 0111:B4 (Sigma-Aldrich, St. Louis. MO) durante cuatro horas a 37°C y con CO₂ al 5%. Se recogieron los sobrenadantes de células para la determinación de los niveles de TNF α usando un ELISA de tipo sándwich internamente. El anticuerpo

15 monoclonal TNF α anti-humano de ratón (clon 28401.111) y TNF α anti-humano de cabra biotinilado (R y D Systems, Mineápolis, MN) se usaron como los anticuerpos de captura y detección, respectivamente. Se usaron estreptavidina - peroxidasa de rábano picante (HRP) (R y D Systems, Mineápolis, MN) y sustrato K-Blue / Red Stop (Neogen, Lexington, Reino Unido) como el sistema

20 de detección. Se midió la absorbancia a 650 nm. Las concentraciones de TNF α se interpolaron a partir de una curva patrón de proteína recombinante de TNF α humana (R y D Systems, Mineápolis, MN) usando un modelo logístico de cuatro parámetros mediante el software de análisis de datos Magellan 4.11 (Tecan, Durham, NC). Se usó prednisolona (1 μ M) como un inhibidor máximo y

25 se definió el control de inhibición al 100%. Se usó el vehículo para definir el

Mg

control de inhibición al 0%. El porcentaje de inhibición para cada concentración de compuesto, con relación a estos controles, se calculó usando Excel (Microsoft, Redmond, WA). Los valores de CI_{50} se generaron usando el software de análisis de datos LabStats Fit Curve Va.R7.MO (Sandwich
5 Laboratorios de Pfizer, Servicios de Apoyo plc de Reino Unido y Tessella, Abingdon, Reino Unido).

SANGRE ENTERA HUMANA EX VIVO

Este estudio compara la inhibición de la producción de IL-1 β , IFN γ , IL-6, y TNF α en sangre entera humana estimulada por LPS *ex vivo* mediante los
10 ligandos del receptor de glucocorticosteroides (GR) Comparador A, Ejemplo 1, y prednisolona.

Se recogió sangre venosa de donantes humanos en forma de alícuotas de 10 ml en tubos que contienen heparina de sodio (BD Vacutainer de Becton Dickinson and Company, Franklin Lakes, NY), se añadió sangre a placas de
15 cultivo de tejidos de 96 pocillos de fondo redondo de poliestireno estériles (Corning Costar) a 100 μ l/pocillo, omitiendo los pocillos exteriores. Se añadió medio (medio RPMI 1640 con L-glutamina, Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA) a la sangre en alícuotas de 90 μ l para un volumen total de 190 μ l. Los
pocillos externos se llenaron con 200 μ l de medio. Se colocó sangre en un
20 incubador a 37°C con CO₂ al 5%. Mientras que los compuestos se preparaban (aproximadamente 60 minutos).

Los compuestos se prepararon a partir de una solución madre 10 mM en dimetil sulfóxido (DMSO, Sigma - Aldrich). Los compuestos de reserva se diluyeron en serie 1/3 en DMSO (es decir 5 μ l de compuesto + 10 μ l de DMSO),

150

seguido de dilución de la dilución en serie 1/167 en solución de vehículo (DMSO al 2%, etanol al 30% (AAPER Alcohol and Chemical Company), y solución salina tamponada con fosfato al 68% (solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco sin cloruro de calcio sin cloruro de magnesio, Invitrogen Corporation, Carlsbad, CA). Se añadió el compuesto o vehículo a la sangre en alícuotas de 10 µl por triplicado. La concentración final de cada prednisolona y el Ejemplo 1 en el ensayo variaban entre 100 nM y 0,457 nM. Las concentraciones del Comparador A variaban entre 3000 nM y 1,4 nM. Las concentraciones de DMSO y etanol finales en el ensayo eran 0,1% y 1,5%. Las muestras se trituraron de manera suave dos veces para mezclar y se sustituyó en el incubador. Las reservas de LPS (E. coli serotipo 0111:B4, Sigma - Aldrich), se almacenaron en alícuotas de 100 µg/ml en RPMI a -20°C, se diluyeron 1/50 en RPMI para conseguir una solución madre de trabajo. Después de 60 minutos de incubación, se añadieron 10 µl de la solución de trabajo de LPS a la sangre hasta una concentración final de 100 ng/ml, omitiendo los pocillos a usar como control negativo. Las muestras se trituraron de manera suave otra vez y se incubaron las placas durante toda una noche durante 22 horas. Después de la incubación, la sangre se centrifugó a 1500 x g durante 5 minutos y se retiró el plasma para o bien congelar a -20°C o ensayar para evaluar la liberación de citoquina.

Se midieron los niveles de proteína de IL-1 β , IFN γ , IL-6 y TNF α usando los kits de ensayo Meso Scales (Meso Scale Discovery, Gaithersburg, MD). Se dejó que los reactivos alcanzaran la temperatura ambiente. Se bloquearon las placas Meso Scales con 30 µl de diluyente de ensayo de plasma / suero humano con agitación suave durante 60 minutos a temperatura ambiente. Se

151

lavaron las placas 3 x con tampón de lavado (PBS, Invitrogen Corporation, con Twenn-20 al 0,05%, Sigma-Aldrich). Los calibradores para las curvas convencionales se prepararon en diluyente de ensayo plasma / suero humano como una dilución en serie 1/5 para lograr las concentraciones finales que

5 varían entre 50000 pg/ml y 3,2 pg/ml. Se añadieron las muestras y los calibradores a 20 µl/pocillo. Se incubaron las placas antes de 60 minutos y se lavaron de nuevo. Se diluyó el tampón de lavado T (4 x) con mgH₂O a concentración dos veces y se añadieron a cada pocillo 150 µl. Se analizaron las placas en el SECTOR Imagen 6000 (Meso Scale Discovery) para generar

10 los valores de señal brutos.

Se verificaron los valores de las muestras de IL-1β, IFNγ, IL-6 y TNFα para que estuvieran dentro de las curvas convencionales de calibrador. Los valores individuales se compraron con los controles positivos y negativos (sangre tratada con vehículo con LPS y sangre tratada con vehículo sin LPS,

15 respectivamente) para generar el % de inhibición. Se promediaron los valores por triplicado para cada donante. Los valores de dos donantes se promediaron (solamente se usó un donante para IL-1β) y se representaron gráficamente usando curvas de ajuste de 4 parámetros en la aplicación GraFit 5.0 11.

20 Valores medios de la inhibición de Prednisolona

<i>Concentración</i>	<i>IFNγ</i>	<i>TNFα</i>	<i>IL-1β</i>	<i>IL-6</i>
<i>(nM)</i>	<i>(% de inhibición)</i>	<i>(% de inhibición)</i>	<i>(% de inhibición)</i>	<i>(% de inhibición)</i>

152

1000	99,95181	93,85394	94,92022	62,08045
333,3333	99,7687	88,98186	92,93646	40,25956
111,1111	94,99872	62,38366	73,1561	11,68419
37,03704	63,51763	27,66996	37,74411	5,032463
12,34568	25,733	12,86882	33,55115	-0,41737
4,115226	5,164324	5,308603	20,98221	-0,23188
1,371742	10,85844	6,613491	15,1055	-0,94069
0,457247	4,925277	0,525846	9,64873	2,220454

Valores medios de la inhibición del Ejemplo 1

Concentración	<i>IFNγ</i>	<i>TNFα</i>	<i>IL-1β</i>	<i>IL-6</i>
(nM)	(% de inhibición)	(% de inhibición)	(% de inhibición)	(% de inhibición)
1000	78,72981	38,06288	53,51043	8,053268
333,3333	73,47381	36,04024	57,75726	2,1505
111,1111	60,63503	27,35287	39,67173	0,943985
37,03704	51,01941	18,68644	38,24203	-0,82783
12,34568	25,70902	9,415215	21,54167	-0,36893
4,115226	-3,18296	-1,31222	11,20262	-1,06692

153

1,371742	19,77643	7,869405	22,38355	3,32595
0,457247	16,92723	8,956175	23,37486	-1,36819

Valores medios de inhibición del comparador A

<i>Concentración</i>	<i>IFNγ</i>	<i>TNFα</i>	<i>IL-1β</i>	<i>IL-6</i>
<i>(nM)</i>	<i>(% de inhibición)</i>	<i>(% de inhibición)</i>	<i>(% de inhibición)</i>	<i>(% de inhibición)</i>
3000	28,02163	-3,03631	16,37219	-1,97032
1000	16,52981	-5,43701	14,96801	-0,88954
333,3333	-6,31952	-4,61436	12,23526	-2,8341
111,1111	8,737671	-3,82374	8,59594	-3,49518
37,03704	-9,80677	-4,19291	17,27236	-3,52461
12,34568	0,016012	0,030908	22,84001	-1,12561
4,115226	-1,69672	-0,86051	22,01534	-4,3436
1,371742	18,09167	18,1316	31,97474	1,459164

5

DATOS IN VIVO

Nombre	mCIA	mCIA	Supresión	Supresión	Supresión de	Supresión de
--------	------	------	-----------	-----------	--------------	--------------

154

	terapéutica (dosis de DE ₅₀)	terapéutica (dosis de DE ₈₀)	de TNF α (dosis de DE ₅₀)	de TNF α (dosis de DE ₈₀)	osteocalcina (dosis de DE ₅₀)	osteocalcina de DE ₈₀)
Ejemplo 1 base libre	0,4	1,5	0,46	1,82	2,91	> 10
Comparador A			60		37	
Comparador B	2,9	> 10	1,64	2,91	2,39	> 10
Comparador C	2,0	> 10	0,27	1,33	1,01	2,84
Comparador D			1,47	> 20	1,18	3,06
Comparador E	0,5	2,6	0,14	1,18	0,17	1,71
Comparador F	> 10	> 10	2,11	5,67	1,19	> 10
Comparador G	0,6	3,0	2,90	3,33	1,12	7,27
Comparador H			0,23	0,72	0,51	1,46
Comparador I	17,0	> 20	0,73	5,45	5,20	> 20
Comparador J	3,0	> 20	0,09	0,79	0,73	3,58
Prednisolona	1,1	5,5	0,90	2,10	1,00	6,80

El ejemplo 1 es un potente compuesto en modelos de enfermedad.

Artritis inducida por colágeno de ratón (mCia)

5 La artritis inducida por colágeno de ratón es un modelo usado de manera

15

común crónico, preclínico de artritis reumatoide en el que la inflamación de la articulación y destrucción de hueso se produce después de la inmunización con el colágeno de tipo II. La reducción de la incidencia de enfermedad y gravedad se ha mostrado previamente que es predictivo de la modificación de enfermedad y signos y síntomas de mitigación, respectivamente, en un escenario clínico.

En el modelo tradicional de mCIA, los ratones DBA/J se inmunizaron con 50 µg de colágeno de tipo II de pollo (cCII) en adyuvante de Freund completo y después se reinmunizaron 21 días después con 50 µg de cCII en adyuvante de Freund incompleto. El tratamiento con los compuestos se inició en la mañana de la reinmunización y se continuó durante 56 días. La eficacia de tratamiento se midió por la incidencia y gravedad de la enfermedad (es decir, número de ratones que muestran cualquier signo de enfermedad), que se midieron dos veces a la semana.

En el modelo terapéutico de mCIA, la inducción de la incidencia y gravedad de la enfermedad se sincronizó mediante estimulación de LPS. Se inmunizaron ratones DBA/J con 100 µg de colágeno de tipo II bovino (bCII) el día 0. Todos los ratones recibieron una inyección intraperitoneal de 20 µg de LPS el día 28 y se dejó que la enfermedad se desarrollara a lo largo del día 34. El día 34, todos los ratones tenían enfermedad (incidencia = 100%) con una puntuación de gravedad media de siete. La dosificación de los compuestos se inició en el modo terapéutico el día 34 y continuó a lo largo del día 49. Se compararon diferentes tratamientos midiendo la disminución en la incidencia (es decir, resolución de la enfermedad) y la disminución en la gravedad de inflamación de la pata con el tiempo.

150

Definición de las puntuaciones de gravedad de mCIA (puntuación máxima de 12/ratón)

Puntuación de gravedad	Definición
1	Cualquier enrojecimiento o inflamación de los dedos o pata
2	Inflamación total de la pata completa o deformidad
3	Anquilosis de las articulaciones

5

Ejemplo 1 tiene puntuaciones menores de 2 para mCIA (DE₈₀) y menos de 1 para mCIA (DE₅₀).

Supresión de TNFa y Osteocalcina (OC)

Se pesaron los compuestos y se suspendieron en un vehículo de de metilcelulosa al 0,5% / Tween 20 al 0,025% (Sigma - Aldrich, St. Louis, MO). Se homogeneizaron suspensiones del compuesto usando un homogeneizador de tejidos Polytron PT-3100 para crear una suspensión muy fina y se sonicaron durante 10 minutos usando un sonicador en baño de agua. Las alícuotas de cada suspensión se prepararon para la dosificación diaria a 0,2 ml/dosis.

10 Ratones hembra Swiss Webster, 10 - 12 semanas de edad, 28 - 29 gramos, (Taconic, Germantown, NY) se usaron de acuerdo con las directrices del Cuidado Animal Institucional y Comité de uso y de acuerdo con las directrices

15

ISA

NIH sobre bienestar de animal de laboratorio. Los ratones se aclimataron en la instalación de animales de Pfizer durante tres a siete días antes de utilizarse en el estudio. Se administraron prednisolona y los compuestos mediante sonda nasogástrica durante un total de 28 días. Cada grupo de tratamiento contenía 5 - 10 ratones. Para establecer un régimen de dosificación para los estudios, se llevó a cabo un experimento con a lo largo tiempo farmacodinámico para cuantificar la represión de TNF α después de una sola dosis de DE₈₀. Los compuestos que suprimían TNF α se dosificaron una vez al día, mientras que los compuestos que no suprimían TNF α > 50% a las 24 horas se dosificaron dos veces al día.

Se midieron los pesos corporales el primer día y último día de cada experimento. Se obtuvieron muestras de sangre después de tres semanas de dosificación durante un análisis de farmacocinética (PK) de estado constante. Para determinar los efectos del compuesto en TNF α inducido por LPS, todos los ratones recibieron una inyección intraperitoneal de LPS (*Salmonella typhosa*, L-7895; Sigma - Aldrich, St. Louis,) 2,5 horas después de la última dosis el día 28. Se sacrificaron los ratones 90 minutos después de la administración de LPS. Se cuantificaron las muestras de suero para evaluación de osteocalcina y TNF α usando el ensayo multiplex (Linco Research, Inc, St. Charles, MO; Luminex 100, Austin, TX). Se diluyeron las muestras 1:20 y el ensayo se desarrolló de acuerdo con las instrucciones del fabricante. El patrón de osteocalcina se compró de manera separada (Biomedical Technologies Inc., Stoughton, MA). Los ratones se dejaron en ayunas durante 4 horas antes de que se recogiera suero para la evaluación de TNF α , y los niveles de osteocalcina. Para cada experimento, se detectaron los que estaban fuera

158

calculando el número de desviaciones estándar de la media del grupo. Si el valor que se examinaba era mayor que 2,5 desviaciones estándar que la media, se excluía del resto de los cálculos.

El porcentaje de los valores de inhibición se calcularon después para cada ratón usando las medias de los grupos de control de vehículo y 10 mg/kg de prednisolona. Los valores de porcentaje de inhibición de los ratones

individuales se ajustaron a un modelo logístico de cuatro parámetros usando la dosis media para cada grupo. Ya que los cuatro parámetros se estimaron en el estado más bajo no se fijó a 0% y el estado superior no se fijó a 100%, los valores de DE_{50} y DE_{80} se calcularon usando una fórmula de calibración inversa para una respuesta igual al 50% u 80% de inhibición o activación.

Los valores de DE_{50} y DE_{80} son las dosis (en mg/kg) requeridas para dar como resultado un 50% u 80% de efecto, respectivamente, en un punto final particular. Los valores de DE_{50} y DE_{80} se obtuvieron para los diversos puntos finales usando un ajuste logístico de cuatro parámetros. Para los compuestos que se ensayaron múltiples veces, los valores de DE_{50} y DE_{80} se obtuvieron usando ajustes logísticos de cuatro parámetros de los datos combinados a partir de múltiples experimentos. Para los compuestos que no lograron un efecto del 80%, el valor de DE_{80} se designó como > 10 mg/kg o > 20 mg/kg, dependiendo de la dosis más alta ensayada.

Modelo de asma por ácaros del polvo del hogar

Se trataron los ratones con las tres dosis del Ejemplo 1 (0,1, 1 y 10 mg/kg, por vía oral, dos veces al día) o prednisolona (0,1, 1 y 10 mg/kg, por vía

159

oral, dos veces al día). Se trataron los grupos separados de animales con los vehículos respectivos, y no se demostró ningún efecto inflamatorios de influjo de las células en el influjo inflamatorio de las células BAL inducido por un poco polvo de casa.

- 5 El ejemplo 1 mitigó la infiltración de las células en el fluido de BAL de una manera dependiente de la dosis. La evaluación de los tipos de células de fluido de BAL usando citometría de flujo mostró una reducción significativa en eosinófilos, neutrófilos, linfocitos y células T. En comparación, la prednisolona confirió reducciones similares en la infiltración de células de fluido de BAL a
- 10 dosis similares (datos no mostrados).

Ejemplo 1 (mg/kg)	Células totales (% de inhibición)	Eosinófilos (% de inhibición)	Neutrófilos (% de inhibición)	Linfocitos (% de inhibición)	Células T (% de inhibición)
0,1	22	42	29	34	39
1	72	97	97	94	88
10	83	99	100	97	96

ÍNDICE DE DISOCIACIÓN

- Se eligió un índice de disociación (ID) como una medida para cuantificar la disociación de los compuestos con relación a la de prednisolona en términos
- 15 de biomarcadores de eficacia y efectos secundarios. Se calcularon los índices de disociación usando biomarcadores clínicamente relevantes que se pueden

100

utilizar en el desarrollo temprano clínico. Se aceptan clínicamente osteocalcina en suero y TNF α en suero inducida por LPS como predictivos para la formación ósea y la eficacia antiinflamatoria, respectivamente.

El índice de disociación se basó en los siguientes principios:

- 5 1) La disociación requería un margen de dosis entre biomarcadores de inflamación y efectos secundarios y se definió por la fórmula:

$$ID = \frac{\text{Punto final de efectos secundarios}}{\text{Punto final antiinflamatorio}}$$

10

Por ejemplo ID =
$$\frac{\text{Supresión de osteocalcina (OC) DE}_{50} \text{ (o EAUC}_{50})}{\text{Supresión de TNF}\alpha \text{ (TNF}\alpha) \text{ DE}_{50} \text{ (o EAUC}_{50})}$$

15

- 2) El ID de un compuesto se puede considerar con relación al observado con la prednisolona, su comparador clínico. El ID corregido o normalizado se definió como el ID del compuesto dividido por el ID de la prednisolona.

20

ÍNDICE DE DISOCIACIÓN (DE₅₀ y DE₈₀)

NOMBRE	OC/TNF α (DE ₅₀)	OC/TNF α (DE ₈₀)
Ejemplo 1 base libre	6,33	> 5,59
Comparador A	0,62	

161

Comparador B	1,46	> 3,44
Comparador C	3,74	2,14
Comparador D	0,80	< 0,15
Comparador E	1,21	1,45
Comparador F	0,56	> 1,76
Comparador G	0,39	2,18
Comparador H	2,22	2,03
Comparador I	7,12	> 3,67
Comparador J	8,11	4,53
Prednisolona	1,11	3,24

El Ejemplo 1, Comparador I, Comparador J tenían un ID mayor que 5 para OC/TNF α (DE₅₀). El Ejemplo 1 y Comparador J tenían un ID mayor que 4 para OC/TNF α (DE₈₀).

5

ÍNDICE DE DISOCIACIÓN CORREGIDO (DE₅₀ y DE₈₀) BASADO EN PREDNISOLONA

NOMBRE	OC/TNF α (DE ₅₀)	OC/TNF α (DE ₈₀)
Ejemplo 1 base libre	5,7	> 1,69
Comparador A	0,56	

162

Comparador B	1,32	> 1,06
Comparador C	3,37	0,66
Comparador D	0,73	< 0,05
Comparador E	1,09	0,45
Comparador F	0,50	> 0,54
Comparador G	0,35	0,67
Comparador H	2,00	0,63
Comparador I	6,41	> 1,13
Comparador J	7,31	1,40

El Ejemplo 1, Comparador I, Comparador J tenían un ID corregido mayor que 5 para OC/TNF α (DE₅₀). El Ejemplo 1 tenía un ID corregido mayor que 1,5 para OC/TNF α (DE₈₀).

5

EAUC₅₀ y EAUC₈₀

La exposición de fármaco, definida como concentraciones en plasma de fármaco integradas a lo largo del tiempo (AUC), se usó para hacer las comparaciones farmacodinámicas entre la prednisolona y el Ejemplo 1. Debido a las cortas semividas de la prednisolona y el Ejemplo 1 en el ratón, los valores AUC (0 - 4 horas) eran responsables de más del 95% de los valores de AUC (0 - 24 horas). Debido a las limitaciones del muestreo del volumen de sangre en ratones, los valores de AUC (0 - 4 horas) se usaron para hacer las

163

comparaciones farmacodinámicas.

	Prednisolona (AUC 0 - 4 horas) ($\mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$)		Ejemplo 1 (AUC 0 - 4 horas) ($\mu\text{g} \cdot \text{hr/ml}$)	
	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀
TNF α en suero	0,81	0,95	0,22	0,33
Osteocalcina en suero	0,56	1,60	1,30	4,20
Velocidad de formación de hueso cortical (BFR)	0,09	0,60	0,27	1,55
Incidencia de la enfermedad (mCIA tradicional)	0,25	0,60	0,04	0,10
Gravedad de la enfermedad (mCIA terapéutica)	0,38	1,19	0,09	0,19

Índice de disociación				
OC / TNF α^a	0,7	1,7	5,9	12,7
BFR / TNF α^a	0,1	0,6	1,2	4,7
BFR /	0,4	1,0	6,8	15,5
incidencia de enfermedad ^b				
BFR / gravedad de enfermedad ^b	0,2	0,5	3,0	8,2
Índice de disociación corregido				
OC / TNF α^a			8,4	7,5
BFR / TNF α^a			12,0	7,8
BFR / incidencia de enfermedad ^b			17,0	15,5
BFR / gravedad de enfermedad ^b			15,0	16,4

169

^a datos comparados entre ratones en el mismo modelo.

^b datos comparados mediante los ratones en diferentes modelos usando exposición en plasma para normalizar, BFR, velocidad de formación ósea.

CONJUNTO DE DATOS 2 DE EAUC₅₀ y EAUC₈₀

Parámetro	Ejemplo 1		Prednisolona	
	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀
Modelo de dosis de repetición de 28 días				
TNF α en suero	0,22	0,33	0,82	0,95
Osteocalcina (OC) en suero	1,31	4,15	0,56	1,64
Velocidad de formación de hueso cortical (BFR)	0,35	1,76	0,10	0,66
Incidencia de la enfermedad (mCIA tradicional)	-	0,10	-	0,50

Gravedad de la enfermedad (mCIA terapéutica)	0,09	0,19	0,38	1,19
Incidencia de la enfermedad (mCIA terapéutica)	0,12	0,33	0,68	1,38
Índices de disociación corregidos (ID)	EAUC ₅₀	EAUC ₈₀		
OC / TNF α	8,6	7,4		
BFR / TNF α	16,0	7,6		
BFR / incidencia de la enfermedad	14,5	10,6		
BFR / gravedad de la	13,0	15,5		

169

enfermedad			
------------	--	--	--

El ejemplo 1 es un compuesto dissociado. El Ejemplo 1 tenía un ID y un ID corregido para $EAUC_{50}$ y $EAUC_{80}$ mayor que 7 para OC/TNF α , BFR / TNF α , BFR / incidencia de la enfermedad y BFR / gravedad de la enfermedad.

5 Histomorfometría ósea cortical para determinar BFR

Durante la parte de duración de cada estudio, los ratones recibieron dos inyecciones intraperitoneales (i. p.) (20 mg/kg, 100 ml/ratón) de calceína (C-0875; Sigma - Aldrich, St. Louis, MO) los días 1 y 26 para evaluar las mediciones de histomorfometría ósea. La calceína se incorpora en el mineral

10 óseo y permite la medición de la velocidad de formación ósea. La calceína se disolvió en bicarbonato sódico al 2%. Durante la recogida del tejido, se escindieron las tibias izquierdas y se limpiaron para evaluar las mediciones de histomorfometría cortical. Después se retiraron toda la piel y músculo, se colocaron las tibias en etanol al 710% (4°C) en la oscuridad durante un mínimo

15 de 24 horas.

Se usaron las secciones transversales molidas para análisis de histomorfometría de hueso cortical. Los huesos se seccionaron usando una sierra de baja velocidad (Isomet, Buehler, Lake Bluff, IL) equipada con una hoja de oblea de diamante. El extremo de cada tibia se retiró proximal a la sinostosis

20 tibia - fíbula y se cortó una sección transversal de 75 mm. Usando una placa de vidrio rugosa y un corcho, se molieron las secciones hasta ~ 25 mm hasta transparencia y todas las marcas eran distinguibles en un microscopio de fluorescencia. Las secciones se deshidrataron usando las siguientes soluciones

168

durante un mínimo de dos minutos cada una: 1) etanol al 70%, 2) etanol al 95%, 3) etanol al 100%, 4) etanol / xileno 50 / 50, y 5 xileno (dos veces) (nº 534056; Sigma - Aldrich, St, Louis, MO). Se montaron las secciones usando Eukitt Quick Mounting Médium (nº 03989, Sigma - Aldrich, St, Louis, MO) después de lo cual se aplicaron cubreobjetos. Usando el Programa Osteomesure Bone Análisis (Osteometrics, Inc., Decatur, Georgia), se calculó la velocidad de formación ósea rastreando las 1ª y 2ª marcas fluorescentes y el perímetro interno y externo del hueso. La velocidad de formación ósea se calculó mediante la siguiente ecuación: (amplitud inter-marca / intervalo de la marca) * (perímetro marcado / perímetro óseo). Se midieron al menos cinco muestras para cada grupo de tratamiento en cada estudio.

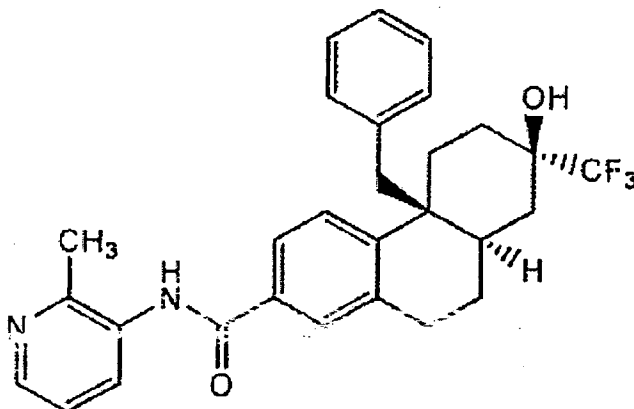
5

1. Un compuesto de fórmula I:



o sal del mismo.

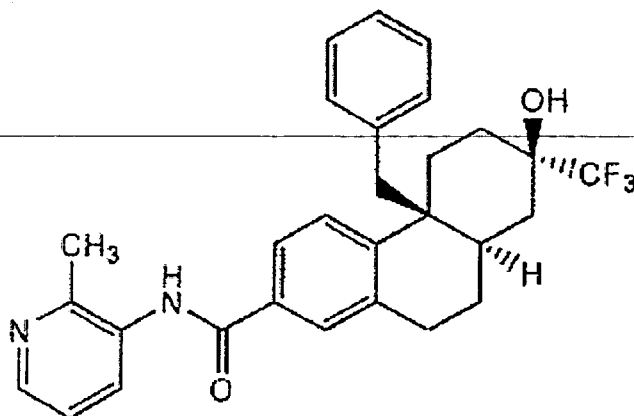
2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es:



170

o sal del mismo.

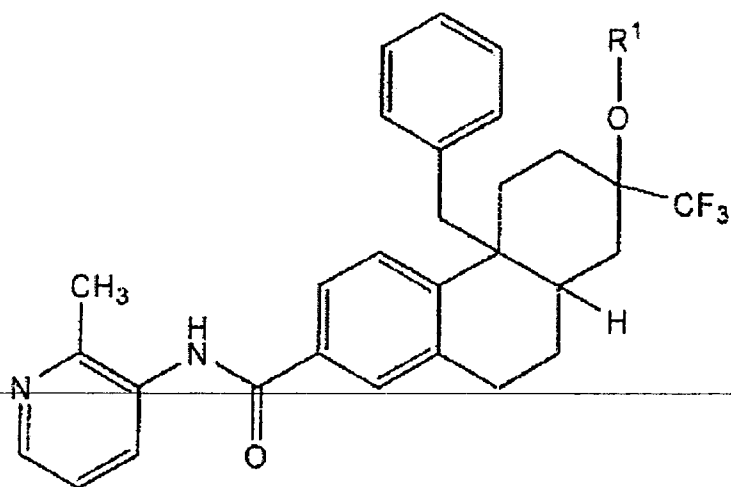
3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que el compuesto es:



5

4. Una sal clorhidrato del compuesto de la reivindicación 1.
5. Una composición que comprende el compuesto de la reivindicación 1 o sal del mismo y un vehículo.
6. Un procedimiento que comprende poner en contacto un receptor de glucocorticosteroides con el compuesto de la reivindicación 1 o sal del mismo.
7. Un procedimiento de tratamiento de una afección mediada por la actividad del receptor de glucocorticosteroides en un sujeto que comprende la administración al sujeto de un compuesto de Fórmula I:

10



(I)

en la que R^1 es -H;

o sal del mismo.

- 5 8. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que la afección es una afección relacionada con inflamación.
9. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que la afección es asma, dermatitis, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad de Alzheimer, depresión mayor psicótica, neuropatía, rechazo de transplantes, esclerosis múltiple, uveitis crónica, o enfermedad pulmonar obstructiva crónica.
- 10 10. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que la afección es artritis reumatoide.
11. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que la afección es dermatitis.
- 15 12. El procedimiento de la reivindicación 7, en el que la afección es

172

asma.

13.El procedimiento de la reivindicación 7, en el que la afección es enfermedad de Alzheimer.

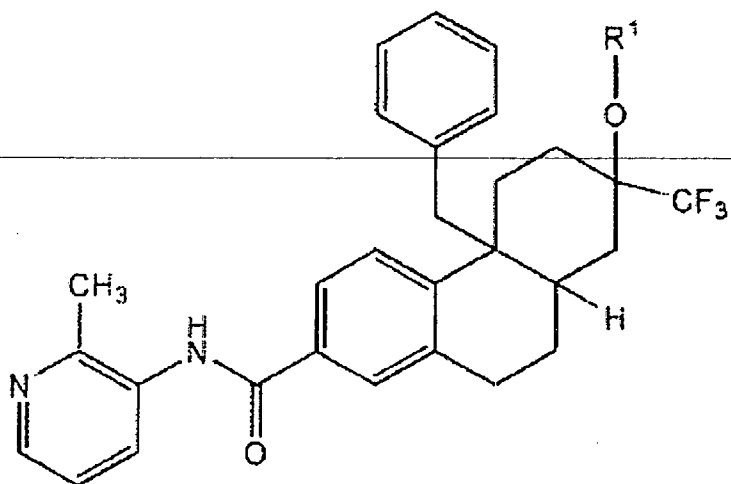
5 14.El procedimiento de la reivindicación 7, en el que la afección es enfermedad inflamatoria del intestino.

15.Un procedimiento de mitigación de los efectos secundarios asociados a la modulación de receptor de glucocorticosteroides, que comprende la administración de un compuesto de la reivindicación 1 a un sujeto.

193

RESUMEN

La presente invención se refiere a los compuestos de Fórmula I:



I

5

o sal de los mismos, que son moduladores del receptor de glucocorticosteroides. Los compuestos y sales de la invención son útiles en el

10 tratamiento de las afecciones mediadas por la actividad del receptor de glucocorticosteroides.

15

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No

PCT/IB2008/000249

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. C07D213/75 A61K31/44 A61P1/00 A61P11/06 A61P19/02
 A61P25/28 A61P29/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07D

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, BEILSTEIN Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 00/66522 A (PFIZER PROD INC [US]; DOW ROBERT LEE [US]; LIU KEVIN KUN CHIN [US]; MO) 9 November 2000 (2000-11-09) cited in the application page 245 - page 246; claims 1,7; examples 786-793	1-15
A	EP 1 201 655 A (PFIZER PROD INC [US]) 2 May 2002 (2002-05-02) claims 1,11	1-15
A	EP 1 201 649 A (PFIZER PROD INC [US]) 2 May 2002 (2002-05-02) paragraph [0001]; claim 1	1-15
A	WO 2005/047254 A (PFIZER PROD INC [US]; ROBINSON RALPH PELTON JR [US]; KLEINMAN EDWARD F) 26 May 2005 (2005-05-26) page 1, line 5 - line 9; claim 1	1-15

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

30 April 2008

Date of mailing of the international search report

08/05/2008

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5618 Patentlaan 2
 NL - 2280 HV Rijswijk
 Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
 Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Gettins, Marc

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/IB2008/000249

Box No. II Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 2 of first sheet)

This International search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
Although claims 7-15 are directed to a method of treatment of the human/animal body, the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound/composition.

2. ☐ Claims Nos.:
because they relate to parts of the International application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box No. III Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 3 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this International application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.

2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fees, this Authority did not invite payment of additional fees.

3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest and, where applicable, the payment of a protest fee.

☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest but the applicable protest fee was not paid within the time limit specified in the invitation.

☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2008/000249

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0066522	A	09-11-2000	AP 1542 A 28-02-2006
			AR 032128 A1 29-10-2003
			AU 776608 B2 16-09-2004
			AU 3316500 A 17-11-2000
			BG 106142 A 31-05-2002
			BR 0010138 A 22-01-2002
			CA 2372173 A1 09-11-2000
			CN 1349485 A 15-05-2002
			CN 1781890 A 07-06-2006
			DZ 3038 A1 27-03-2004
			EA 4886 B1 26-08-2004
			EE 200100567 A 17-02-2003
			EP 1175383 A1 30-01-2002
			HK 1042889 A1 29-12-2006
			HR 20010804 A2 31-12-2002
			HU 0201243 A2 28-08-2002
			IS 6082 A 25-09-2001
			JP 3901945 B2 04-04-2007
			JP 2002543169 T 17-12-2002
			JP 2006328073 A 07-12-2006
			MA 26729 A1 20-12-2004
			MX PA01011018 A 06-05-2002
			NO 20015272 A 28-12-2001
			NZ 514465 A 28-11-2003
			OA 11877 A 29-03-2006
			PL 353438 A1 17-11-2003
			SK 15442001 A3 04-03-2003
			TR 200103104 T2 21-05-2002
			TW 272264 B 01-02-2007
			UY 26129 A1 29-12-2000
			ZA 200108846 A 28-10-2002
EP 1201655	A	02-05-2002	AT 303992 T 15-09-2005
			AU 784269 B2 02-03-2006
			AU 8362201 A 02-05-2002
			BR 0104836 A 15-10-2002
			CA 2366024 A1 27-04-2002
			CN 1356319 A 03-07-2002
			CN 1680243 A 12-10-2005
			CZ 20013855 A3 16-04-2003
			DE 60113210 D1 13-10-2005
			DE 60113210 T2 08-06-2006
			DK 1201655 T3 28-11-2005
			ES 2246293 T3 16-02-2006
			HK 1047583 A1 14-07-2006
			HK 1078560 A1 04-05-2007
			HU 0104534 A2 29-07-2002
			JP 3887207 B2 28-02-2007
			JP 2002193937 A 10-07-2002
			KR 20020035075 A 04-05-2002
			MX PA01010962 A 24-05-2002
			PL 350347 A1 06-05-2002
			RU 2219170 C2 20-12-2003
			TW 247740 B 21-01-2006
			ZA 200108797 A 25-04-2003
EP 1201649	A	02-05-2002	AT 327974 T 15-06-2006
			BR 0104831 A 20-08-2002

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/IB2008/000249

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
EP 1201649	A	CA 2360308 A1	28-04-2002
		DE 60120077 T2	02-11-2006
		ES 2262612 T3	01-12-2006
		JP 2002193911 A	10-07-2002
		MX PA01010961 A	24-05-2002
WO 2005047254	A	AU 2004289532 A1	26-05-2005
		CA 2545020 A1	26-05-2005
		EP 1685110 A1	02-08-2006
		JP 2007511501 T	10-05-2007



No. 09-079789- -00000-0000

Fecha: 2009-07-31 10:05:58
Tra. 11 PATENTE IYII
Act. 411 PRESENTACION

Dep. 2020 NUECREACION
Eve: 378 FASE NACIONAL I
Folios: 177



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

REQUISITOS MÍNIMOS PARA ADMISIÓN A TRAMITE PCT

PATENTE DE INVENCION

[✓]

MODELO DE UTILIDAD []

- ◇ Indicación de que se solicita la concesión de una patente [✓]
- ◇ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud [✓]
- ◇ Descripción de la invención [✓]
- ◇ Dibujos de ser estos pertinentes []
- ◇ Comprobante de pago de las tasas establecidas [✓]

COMPLETA []

INCOMPLETA []

DISEÑO INDUSTRIAL []

- ◇ Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial []
- ◇ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◇ Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño []
- ◇ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

ESQUEMA DE TRAZADO []

- ◇ Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de Trazado []
- ◇ Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud []
- ◇ Representación gráfica del esquema trazado []
- ◇ Comprobante de pago de las tasas establecidas []

COMPLETA []

INCOMPLETA []

Firma Responsable

Fecha 31/07/09

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Bogotá,
2020

Doctor(a)
OLARTE GARCIA CARLOS REYNALDO
Apoderado(a) y/o Representante de
PFIZER PRODUCTS INC.

REFERENCIA	Radicación No.	09 79789
	Solicitud internacional	PCT/IB2008/000249
	Fecha inicio fase nacional	02/09/2009
	Trámite	11
	Evento	378
	Actuación	430
	Oficio No.	11067

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 Bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

1. El solicitante debe presentar un nuevo título que permita identificar la materia de la cual trata la solicitud, ya que el título relacionado no se encuentra con la precisión necesaria para identificar claramente el objeto de la solicitud de patente. (Regla 4.3 PCT, Art 26-27 D-486, Circular única 5.2.9)

2. La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante, conforme a lo establecido por el artículo 26 literal k) de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina. Cuando se trate de documentos otorgados en el extranjero, estos deberán legalizarse de conformidad con lo dispuesto por los artículos 259 y 260 del Código de Procedimiento Civil. Cuando se trate de las declaraciones a que hace referencia la Regla 4.17 ii) del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes PCT., el alcance de las tales declaraciones se determinará según indiquen claramente una cesión de derechos del inventor al solicitante o su causante, de conformidad con lo dispuesto en el numeral 5.2.15 del Capítulo Quinto, Título X de la Circular Única de Superintendencia de Industria y Comercio.

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única No.10 de 2001.

Continúa en la página siguiente...

REPUBLICA DE COLOMBIA
SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

Radicación No.: 9 79789


ALIX CARMENZA CESPEDES DE VERGEL
Jefe de la división de Nuevas Creaciones

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de
fecha 6 2 OCT. 2009
adpall