



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 364 450**

51 Int. Cl.:
C07C 215/60 (2006.01)
C07D 243/10 (2006.01)
C07D 265/30 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **05711348 .2**
96 Fecha de presentación : **11.01.2005**
97 Número de publicación de la solicitud: **1706371**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **04.10.2006**

54 Título: **Derivados de arilanilina como agonistas del receptor adrenérgico β_2 .**

30 Prioridad: **12.01.2004 US 535784 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
02.09.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
02.09.2011

73 Titular/es: **THERAVANCE, Inc.**
901 Gateway Boulevard
South San Francisco, California 94080, US

72 Inventor/es: **McKinnell, Robert Murray;**
Jacobsen, John R.;
Trapp, Sean G. y
Saito, Daisuke Roland

74 Agente: **Blanco Jiménez, Araceli**

ES 2 364 450 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de arilnilina como agonistas del receptor adrenérgico β_2 .

5 **Campo de la invención**

La invención se dirige a nuevos agonistas del receptor adrenérgico β_2 . La invención también se dirige a composiciones farmacéuticas comprendiendo tales compuestos y encuentra utilidad en métodos para utilizar estos compuestos para tratar enfermedades asociadas con la actividad del receptor adrenérgico β_2 . Se describen los procesos e intermedios útiles para preparar dichos compuestos.

Antecedentes de la invención

15 WO 2004/089892; US 2004/167167; US 2003/229058; WO 03/042164; US 2004/224982; WO 2004/002939; WO 2003/042160 y WO 02/00622 describen todos derivados de arilnilina con actividad farmacéutica.

Los agonistas del receptor adrenérgico β_2 están reconocidos como medicamentos eficaces para el tratamiento de enfermedades pulmonares (incluidas la bronquitis crónica y el enfisema). Los agonistas del receptor adrenérgico β_2 también son útiles para el tratamiento del parto prematuro, y son potencialmente útiles para el tratamiento de 20 desórdenes neurológicos y trastornos cardíacos. A pesar del éxito que se ha logrado con algunos agonistas del receptor adrenérgico β_2 , los agentes actuales poseen una duración de acción, potencia, selectividad y/o efecto inicial inferior a lo deseable. Por lo tanto, hay una necesidad de otros agonistas del receptor adrenérgico β_2 que tengan propiedades mejoradas, tales como una duración mejorada de la acción, potencia, selectividad y/o efecto inicial.

Sumario de la invención

La invención provee nuevos compuestos que poseen actividad agonista del receptor adrenérgico β_2 . Se ha descubierto que, entre otras propiedades, los compuestos de la invención son agonistas del receptor adrenérgico β_2 potentes y selectivos. Además, se ha descubierto que los compuestos de la invención tienen una duración sorprendente e inesperadamente larga de acción, que se espera que permita una dosificación de una vez al día, o incluso menos frecuente.

35 Por consiguiente, la invención proporciona un compuesto como se reivindica en la reivindicación 1.

La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención y un vehículo farmacéuticamente aceptable. La invención proporciona además combinaciones que comprenden un compuesto de la invención y uno o más agentes terapéuticos y composiciones farmacéuticas conteniendo tales combinaciones.

La invención encuentra utilidad en un método para tratar a un mamífero que tenga una enfermedad o condición asociada con la actividad del receptor adrenérgico β_2 (por ejemplo, una enfermedad pulmonar como el asma o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, un parto prematuro, un trastorno neurológico, un trastorno cardíaco o una inflamación), el método comprendiendo administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención. La invención encuentra utilidad en un método de tratamiento que comprende administrar una cantidad terapéuticamente efectiva de una combinación de un compuesto de la invención y uno o más agentes terapéuticos.

La invención también encuentra utilidad en un método para tratar a un mamífero que tenga una enfermedad o condición asociada con la actividad del receptor adrenérgico β_2 , el método comprendiendo administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de una composición farmacéutica de la invención.

Los compuestos de la invención también pueden utilizarse como herramientas de investigación, es decir, para estudiar sistemas biológicos o muestras, o para el estudio de la actividad de otros compuestos químicos. Por ejemplo, la invención encuentra utilidad en un método *in vitro* de utilización de un compuesto de la fórmula II, o una sal o solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo, como una herramienta de investigación para el estudio de un sistema biológico o muestra *in vitro* o para descubrir nuevos agonistas del receptor adrenérgico β_2 .

En aspectos separados y distintos, la invención también proporciona procesos de síntesis y productos intermedios descritos en la presente memoria, que son útiles para preparar los compuestos de la invención.

La invención también proporciona un compuesto de la invención como se describe en esta memoria para su uso en terapia médica. Los compuestos de la invención pueden utilizarse en la fabricación de una formulación o medicamento para tratar a un mamífero que tenga una enfermedad o condición asociada con la actividad del receptor adrenérgico β_2 (por ejemplo, una enfermedad pulmonar como el asma o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, un parto prematuro, un trastorno neurológico, un trastorno cardíaco o una inflamación).

Descripción breve de los dibujos

La Fig. 1 es un patrón de difracción de polvos de rayos X del producto del Ejemplo 17b.

La Fig. 2 es una huella de calorimetría diferencial de barrido del producto del Ejemplo 17b.

La Fig. 3 es un patrón de difracción de polvos de rayos X del producto del Ejemplo 17c.

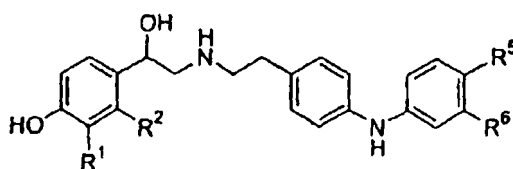
La Fig. 4 es una huella de calorimetría diferencial de barrido del producto del Ejemplo 17c.

La Fig. 5 es un patrón de difracción de polvos de rayos X del producto del Ejemplo 17d.

La Fig. 6 es una huella de calorimetría diferencial de barrido del producto del Ejemplo 17d.

Descripción detallada de la invención

La invención proporciona un compuesto de la fórmula (II):



(II)

donde:

R^1 y R^2 tomados juntos son $-NHC(=O)CH=CH-$; y

R^5 es seleccionado de $-OC_{1-6}$ alquilenilo- $NR^{10}R^{11}$ y C_{1-6} alquilenilo- $NR^{12}R^{13}$ y R^6 es hidrógeno, o R^5 es alcoxi C_{1-4} y R^6 es $-C_{1-6}$ alquilenilo- $NR^{12}R^{13}$,

donde cada uno de R^{10} , R^{11} , R^{12} y R^{13} es independientemente hidrógeno o alquilo C_{1-4} , o R^{10} y R^{11} junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo piperazinilo; o una sal o solvato o estereoisómero del mismo farmacéuticamente aceptable.

Otro grupo específico de los compuestos dentro de este aspecto, es el grupo en el que R^5 es $-OC_{1-6}$ alquilenilo- $NR^{10}R^{11}$ y R^6 es hidrógeno.

En otros aspectos específicos más, la invención proporciona compuestos de la fórmula (II) en la que las variables R^1 , R^2 , R^5 y R^6 toman los valores relacionados en la Tabla I siguiente.

(Tabla pasa a página siguiente)

TABLA I

Ejemplo N°	R ¹ y R ²	R ⁵	R ⁶
1	-NHC(=O)CH=CH-	-OCH ₂ C(CH ₃) ₂ NH ₂	H
2	-NHC(=O)CH=CH-	-O(CH ₂) ₂ NH ₂	H
3	-NHC(=O)CH=CH-	-O(CH ₂) ₃ NH ₂	H
4	-NHC(=O)CH=CH-	-O(CH ₂) ₄ NH ₂	H
5	-NHC(=O)CH=CH-	-O(CH ₂) ₂ O(CH ₂) ₂ NH ₂	H
6	-NHC(=O)CH=CH-	-O(CH ₂) ₂ -4-morfolinilo	H
7	-NHC(=O)CH=CH-	-O(CH ₂) ₂ -2-piperazinilo	H
8	-NHC(=O)CH=CH-	OCH ₂ -1-piridinilo	H
9	-NHC(=O)CH=CH-	-OCH ₂ C(CH ₃) ₂ NH ₂	CF ₃
10	-NHC(=O)CH=CH-	-O(CH ₂) ₂ -1,4-piperazinil-SO ₂ CH ₃	H
11	-NHC(=O)CH=CH-	-(CH ₂) ₂ NH ₂	H
12	-NHC(=O)CH=CH-	-(CH ₂) ₂ N(CH ₃) ₂	H
13	-NHC(=O)CH=CH-	-CH ₂ C(CH ₃) ₂ NH ₂	H
14	R ¹ =-NHCHO R ² =H	-OCH ₂ C(CH ₃) ₂ NH ₂	H
15	-NHC(=O)CH=CH-	-OCH ₃	-(CH ₂) ₂ NH ₂
16	R ¹ =-NHCHO R ² =H	-OCH ₃	-(CH ₂) ₂ NH ₂

Se deben mencionar en particular los siguientes compuestos:

5-[(*R*)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona;

8-hidroxi-5-[(*R*)-1-hidroxi-2-(2-{4-[4-(2-piperazin-1-il-etoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-etil]-1*H*-quinolin-2-ona;

5-[(*R*)-2-(2-{4-[4-(2-amino-etil)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona;

5-[(*R*)-2-(2-{4-[4-(2-dimetilamino-etil)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona;

5-[(*R*)-2-(2-{4-[3-(2-amino-etil)-4-metoxi-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona, cuando la nomenclatura química se ajusta a la del programa automático de generación de nombres AutoNom, suministrado por MDL Information Systems, GmbH (Frankfurt, Alemania).

Como se ha ilustrado anteriormente, los compuestos de la invención contienen uno o más centros quirales. En consecuencia, la invención incluye mezclas racémicas, estereoisómeros puros (es decir, enantiómeros individuales o diastereómeros) y mezclas enriquecidas con estereoisómero de tales isómeros, a menos que se indique lo contrario. Cuando se muestra un estereoisómero particular, los expertos en la materia entenderán que pequeñas cantidades de otros estereoisómeros pueden estar presentes en las composiciones de esta invención, a menos que se indique lo contrario, siempre que la utilidad de la composición en su conjunto no sea eliminada por la presencia de estos otros isómeros.

En particular, los compuestos de la invención contienen un centro quiral en el carbono de alquileo en las fórmulas (I) y (II) al que se une el grupo hidroxilo. Cuando se emplea una mezcla de estereoisómeros, es ventajoso que la cantidad de estereoisómero con la orientación (*R*) en el centro quiral que lleva el grupo hidroxilo sea mayor que la cantidad del estereoisómero (*S*) correspondiente. Al comparar los estereoisómeros del mismo compuesto, se prefiere el estereoisómero (*R*) al estereoisómero (*S*).

Definiciones

En la descripción de los compuestos, composiciones y métodos de la invención, los siguientes términos tienen los siguientes significados, a menos que se indique lo contrario.

El término “alquilo” significa un grupo hidrocarburo saturado monovalente que puede ser lineal o ramificado o combinaciones del mismo. Los grupos alquilo representativos incluyen, a modo de ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, *sec*-butilo, isobutilo, *terc*-butilo.

El término “alcoxi” significa un grupo monovalente de -O-alquilo, donde el alquilo es como se define arriba. Los grupos alcoxis representativos incluyen, a modo de ejemplo, metoxi, etoxi, propoxi, butoxi.

El término “alquilenilo” significa un grupo hidrocarburo saturado divalente que puede ser lineal o ramificado o combinaciones del mismo. Los grupos alquilenilo representativos incluyen, a modo de ejemplo, metileno, etileno, *n*-propileno, *n*-butileno, propano-1,2-diil(1-metiletileno), 2-metilpropano-1,2-diilo-(1,1-dimetiletileno).

El término “tratamiento” como se utiliza aquí significa el tratamiento de una enfermedad o condición médica en un paciente tal como un mamífero (particularmente un humano) que incluye:

- (a) evitar que ocurra la enfermedad o condición médica, es decir, el tratamiento profiláctico de un paciente;
- (b) mejorar la enfermedad o condición médica, es decir, eliminando o provocando la regresión de la enfermedad o condición médica en un paciente;
- (c) suprimir la enfermedad o condición médica, es decir, retrasando o parando el desarrollo de la enfermedad o condición médica en un paciente; o
- (d) aliviar los síntomas de la enfermedad o condición médica en un paciente.

El término “cantidad terapéuticamente efectiva” significa una cantidad suficiente para efectuar el tratamiento cuando se administra a un paciente con necesidad de tratamiento.

La frase “enfermedad o condición asociada con la actividad del receptor adrenérgico β_2 ” incluye todas las condiciones médicas aliviadas por el tratamiento con un agonista del receptor adrenérgico β_2 e incluye todos los estados y/o condiciones de la enfermedad que se reconocen ahora, o que se encuentran en el futuro, que están asociados con la actividad del receptor adrenérgico β_2 . Tales estados de la enfermedad incluyen, aunque no exclusivamente, las enfermedades pulmonares, como asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (como bronquitis crónica y enfisema), así como trastornos neurológicos y alteraciones cardíacas. También se sabe que la actividad del receptor adrenérgico β_2 está asociada con el parto prematuro (véase la patente US 5,872,126) y algunos tipos de inflamación (véase la solicitud de patente internacional con el número de publicación WO 99/30703 y la patente US 5,290,815).

El término “sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sal preparada a partir de un ácido o base que sea aceptable para la administración a un paciente, como un mamífero. Estas sales se pueden derivar de ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables y de bases farmacéuticamente aceptables.

Las sales derivadas de ácidos farmacéuticamente aceptables incluyen, aunque no exclusivamente, ácido acético, bencenosulfónico, benzoico, canfosulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, láctico, maléico, málico, mandélico, metanosulfónico, mícico, nítrico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluenosulfónico, xinafoico (ácido 1-hidroxi-2-naftoico), 1,5-naftalenodisulfónico y cinámico. Las sales derivadas de los ácidos fumárico, bromhídrico, clorhídrico, acético, sulfúrico, metano, 1,5-naftalenodisulfónico, xinafoico, oxálico, tartárico y 4-metilcinámico son de particular interés.

Las sales derivadas de bases inorgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen aluminio, amonio, calcio, cobre, férrica, ferrosa, litio, magnesio, mangánica, manganeso, potasio, sodio y zinc. Las sales provenientes de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, incluyendo aminas sustituidas, aminas cíclicas, aminas de origen natural, tales como arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilenodiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilenodiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperacina, piperadina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, tietilamina, trimetilamina, tripropilamina y trometamina.

El término “solvato” significa un complejo o agregado formado por una o más moléculas de un soluto, es decir, un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y una o más moléculas de un solvente. Tales solvatos suelen ser sólidos cristalinos teniendo una relación molar sustancialmente fija de soluto y solvente. Los solventes representativos incluyen a modo de ejemplo, agua, metanol, etanol, isopropanol y ácido acético. Cuando el solvente es agua, el solvato formado es un hidrato.

Se apreciará que el término “o una sal o solvato o estereoisómero del mismo farmacéuticamente aceptable” pretende incluir todas las permutaciones de sales, solvatos y estereoisómeros, tales como un solvato de una sal farmacéuticamente aceptable de un estereoisómero de un compuesto de la fórmula I.

5 El término “grupo saliente” significa un grupo funcional o átomo que puede ser desplazado por otro grupo funcional o átomo en una reacción de sustitución tal como una reacción de sustitución nucleofílica. A modo de ejemplo, los grupos salientes representativos incluyen grupos de cloro, bromo y yodo, grupos de ésteres sulfónicos, tales como mesilato, tosilato, brosilato, nosilato y similares, y los grupos aciloxi, como por ejemplo acetoxi y trifluoroacetoxi.

10 El término “grupo protector de amino” significa un grupo protector adecuado para prevenir reacciones no deseadas en un nitrógeno amino. Los grupos protectores de amino representativos incluyen, aunque no exclusivamente, formilo, grupos acilo, por ejemplo grupos alcanilo, como acetilo, grupos alcoxicarbonilo, como *tert*-butoxicarbonilo (Boc), grupos arilmetoxicarbonilo, como benciloxicarbonilo (Cbz) y 9-fluoronilmetoxicarbonilo (Fmoc); grupos arilmetilo, tal como bencilo (Bn), tritilo (Tr) y 1,1-di-(4'-metoxifenil)metilo, grupos sililo, como trimetilsililo (TMS) y *tert*-butildimetilsililo (TBDMS).

El término “grupo protector de hidroxilo” significa un grupo protector adecuado para prevenir reacciones no deseadas en un grupo hidroxilo. Los grupo protectores de hidroxilo representativos incluyen, aunque no exclusivamente, grupos alquilo, como metilo, etilo y *tert*-butilo; grupos acilo, por ejemplo grupos alcanilo, tales como acetilo, grupos arilmetilo, tal como bencilo (Bn), *p*-metoxibencilo (PMB), 9-fluorenilmetilo (Fm), y difenilmetilbenzidrido (DPM); grupos sililo, tales como trimetilsililo (TMS) y *tert*-butildimetilsililo (TBS).

Procedimientos sintéticos generales

25 Los compuestos de la invención pueden ser preparados a partir de materias primas disponibles utilizando los siguientes métodos y procedimientos generales. Aunque en los esquemas que siguen se ilustra un aspecto particular de la presente invención, los expertos en la técnica reconocerán que todos los aspectos de la presente invención pueden prepararse utilizando los métodos que se describen aquí o utilizando otros métodos, reactivos y materias primas conocidos por los expertos en la técnica. También se apreciará que cuando se den condiciones típicas o preferidas del proceso (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares de reactivos, solventes, presiones, etc.) también se pueden utilizar otras condiciones de proceso a no ser que se indique otra cosa. Las condiciones óptimas de reacción pueden variar dependiendo de los reactivos o solventes particulares utilizados, aunque tales condiciones pueden ser determinadas por un experto en la técnica mediante procedimientos de optimización rutinarios.

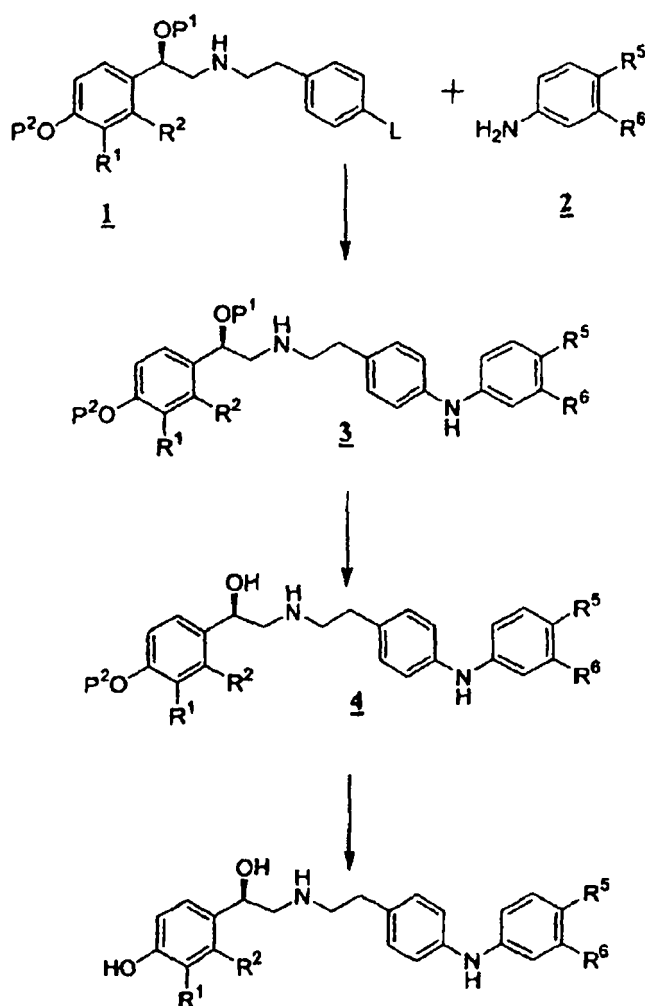
35 Además, como resultará obvio para los expertos en la técnica, puede que se necesiten grupos protectores convencionales para evitar que algunos grupos funcionales experimenten reacciones no deseadas. La elección de un grupo adecuado para la protección de un grupo funcional particular, así como las condiciones adecuadas para la protección y desprotección, son muy conocidas en la técnica. Por ejemplo, se describen numerosos grupos protectores y su introducción y eliminación en T. W. Greene y G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, tercera edición, Wiley, Nueva York, 1999, y las referencias citadas en el mismo.

40 En un método de síntesis, los compuestos de la fórmula (II) se preparan como se ilustra en el Esquema A. (Los sustituyentes y variables que se muestran en los siguientes esquemas tienen las definiciones mencionadas arriba a menos que se indique otra cosa).

(Esquema pasa a página siguiente)

ES 2 364 450 T3

Esquema A



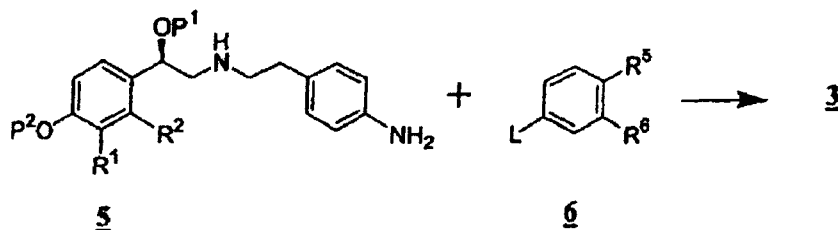
donde P^1 representa un grupo protector de hidroxilo, P^2 representa un grupo protector de hidroxilo y L representa un grupo saliente, como el bromo.

Como se muestra en el Esquema A, primero se hace reaccionar un compuesto de la fórmula 1 con una arilamina (2) para proporcionar un intermediario de la fórmula 3. Por lo general, esta reacción se lleva a cabo en un solvente orgánico en presencia de una base y un catalizador de metal de transición y un ligando de arilfosfina con calentamiento. Un catalizador útil para el acoplamiento de un grupo arilo de una arilamina es tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) junto con *rac*-2,2'-bis(difenilfosfina)-1,1'-binaftilo. La reacción suele calentarse a una temperatura de entre 50°C y 120°C durante entre 0,25 y 12 horas. El grupo protector P^1 es típicamente un grupo protector de sililo, que normalmente es eliminado del intermediario de la fórmula 3, usando un reactivo de fluoruro o ácido, para proporcionar un intermediario de la fórmula 4. El grupo protector P^2 es típicamente un grupo protector de bencilo, que normalmente es eliminado del intermediario de la fórmula 4 por hidrogenación utilizando un catalizador de paladio sobre carbono, para proporcionar el producto.

En el Esquema B se ilustra un método alternativo para preparar el intermediario 3.

ES 2 364 450 T3

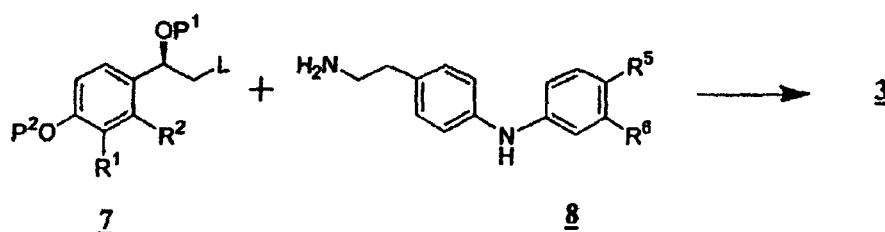
Esquema B



Las condiciones para el acoplamiento de los intermediarios 5 y 6 en el Esquema B para producir el intermediario 3 son generalmente los mismos que los utilizados para acoplar los intermediarios 1 y 2 en el Esquema A.

En el Esquema C se ilustra otro método alternativo más para preparar el intermediario 3.

Esquema C

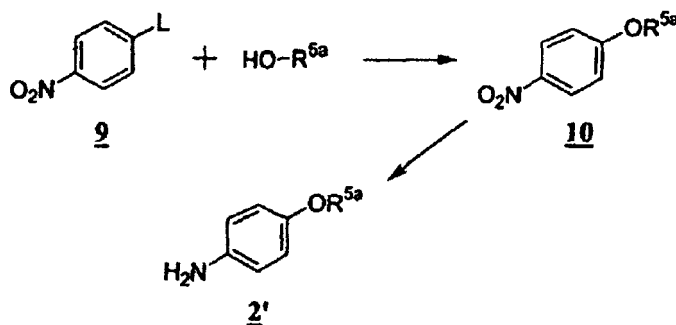


La reacción del Esquema C se realiza típicamente en un solvente aprótico polar, en presencia de una base. Los solventes adecuados típicos incluyen dimetilsulfóxido, dimetilformamida, dimetilacetamida y similares. La reacción suele calentarse a una temperatura de entre 60°C y 140°C durante entre 0,25 y 4 horas.

Los compuestos de la fórmula 1 y 7 empleados en las reacciones que se describen en esta solicitud se preparan fácilmente mediante procedimientos conocidos en la técnica, y se describen, por ejemplo, en las patentes US Nos. 6,653,323 B2 y 6,670,376 B1, que se incorporan junto con sus citas como referencia en la presente memoria. El intermediario 5 se puede preparar por reacción del intermediario 7 con 2-((4-aminofenil)etilamina en un solvente aprótico con calentamiento.

Los intermediarios 2 y 6 están disponibles comercialmente o son preparados de materias primas de fácil acceso. Por ejemplo, cuando R⁵ es -[O-C₁₋₆alquilenilo]_n-NR¹⁰R¹¹ y R⁶ es hidrógeno, el intermediario 2, de la fórmula general 2, puede ser preparado por el proceso del Esquema D

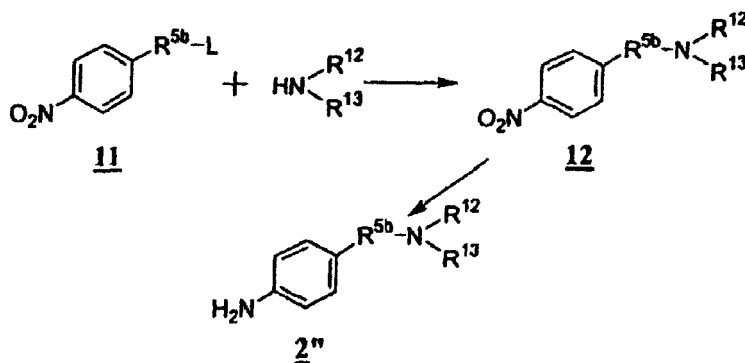
Esquema D



donde R^{5a} se define de tal manera que -OR^{5a} es -[O-C₁₋₆alquilenilo]_n-NR¹⁰R¹¹. Como un ejemplo de condiciones de reacción adecuadas para el Esquema D, la reacción se lleva a cabo en dimetilsulfóxido en presencia de hidruro de sodio.

Cuando, por ejemplo, R^5 es C_{1-6} alquilenilo- $NR^{12}R^{13}$ y R^6 es hidrógeno, el intermediario 2'', de la fórmula general 2, se puede preparar por el proceso del Esquema E

Esquema E



donde R^{5b} es C_{1-6} alquilenilo.

Un intermediario de la fórmula 8 se puede preparar por reacción de un intermediario de la fórmula 2 con una fenetilamina sustituida con un grupo saliente en la posición 4 del anillo fenilo, por ejemplo, 4-bromofenetilamina.

Se describen otros detalles respecto a las condiciones de reacción específicas y otros procedimientos para preparar compuestos representativos de la invención o intermediarios de los mismos en los ejemplos expuestos abajo.

En consecuencia, en un aspecto del método, la invención proporciona un proceso para preparar un compuesto de la fórmula (I), o una sal o estereoisómero o derivado protegido del mismo, como se reivindica en la reivindicación 23.

Composiciones farmacéuticas

La invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención. En consecuencia, el compuesto, preferiblemente en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, se puede formular para cualquier forma adecuada de administración, tal como la administración oral o parenteral, o la administración por inhalación.

A modo de ejemplo, el compuesto se puede mezclar con vehículos y excipientes farmacéuticos convencionales y utilizar en forma de polvos, comprimidos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes y obleas. Dichas composiciones farmacéuticas contendrán de 0,05 a 90% en peso del compuesto activo, y más generalmente de 0,1 a 30%. Las composiciones farmacéuticas pueden contener vehículos y excipientes comunes, tales como almidón de maíz o gelatina, lactosa, sulfato de magnesio, estearato de magnesio, sacarosa, celulosa microcristalina, caolín, manitol, fosfato dicálcico, cloruro de sodio y ácido algínico. Los desintegradores de uso común en las formulaciones de esta invención incluyen croscarmelosa, celulosa microcristalina, almidón de maíz, almidón glicolato de sodio y ácido algínico.

Una composición líquida consistirá generalmente en una suspensión o solución del compuesto o sal farmacéuticamente aceptable en un vehículo o vehículos líquidos adecuados, por ejemplo, etanol, glicerina, sorbitol, solvente no acuoso como polietilenoglicol, aceites o agua, opcionalmente con un agente de suspensión, un agente solubilizante (por ejemplo, una ciclodextrina), conservante, tensioactivo, un agente humectante, aromatizante o colorante. Alternativamente, se puede preparar una formulación líquida a partir de un polvo reconstituible.

Por ejemplo, un polvo que contenga el principio activo, un agente de suspensión, sacarosa y un edulcorante puede ser reconstituido con agua para formar una suspensión; se puede preparar un jarabe a partir de un polvo que contenga el principio activo, sacarosa y un edulcorante.

Se puede preparar una composición en forma de comprimido con cualquier vehículo o vehículos farmacéuticos adecuados habitualmente utilizados para la preparación de composiciones sólidas. Ejemplos de tales vehículos incluyen estearato de magnesio, almidón, lactosa, sacarosa, celulosa microcristalina y aglutinantes, por ejemplo polivinilpirrolidona. También se puede proveer de color al comprimido con una capa de película en color, o se puede incluir el color como parte del o de los vehículos. Además, el compuesto activo se puede formular en una forma de dosificación de liberación controlada como un comprimido que comprenda una matriz hidrófila o hidrófoba.

ES 2 364 450 T3

Se puede preparar una composición en forma de cápsula usando procedimientos de encapsulación habituales, por ejemplo, mediante la incorporación del principio activo y excipientes en una cápsula de gelatina dura. Alternativamente, se puede preparar una matriz semisólida de principio activo y polietilenoglicol de peso molecular alto e introducirla en una cápsula de gelatina dura; o se puede preparar una solución del compuesto activo en polietilenoglicol o una suspensión en aceite comestible, por ejemplo, parafina líquida o aceite de coco fraccionado e introducirla en una cápsula de gelatina blanda.

Los aglutinantes para comprimidos que se pueden incluir son acacia, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, polivinilpirrolidona (povidona), hidroxipropilmetilcelulosa, sacarosa, almidón y etilcelulosa. Los lubricantes que se pueden utilizar incluyen estearato de magnesio u otros estearatos metálicos, ácido esteárico, silicona líquida, talco, ceras, aceites y sílice coloidal.

También se puede utilizar agentes saborizantes tales como menta, aceite de gaulteria o sabor de cereza. Además, puede ser deseable añadir un colorante para hacer la forma de dosificación con una apariencia más atractiva o para ayudar a identificar el producto.

Los compuestos de la invención y sus sales farmacéuticamente aceptables que son activos cuando se administran por vía parenteral pueden ser formulados para inyección intramuscular, intratecal o intravenosa.

Una composición típica de la administración intramuscular o intratecal consistirá en una suspensión o solución del principio activo en un aceite, por ejemplo, aceite de cacahuete o aceite de sésamo. Una composición típica para la administración intravenosa o intratecal consistirá en una solución estéril isotónica acuosa que contenga, por ejemplo, el principio activo y dextrosa o cloruro de sodio, o una mezcla de dextrosa y cloruro de sodio. Otros ejemplos son la inyección de Ringer lactada, la inyección de Ringer lactada más dextrosa, Normosol-M y dextrosa, Isolyte E, inyección de Ringer acilada, y similares. Opcionalmente, se puede incluir en la formulación un cosolvente, por ejemplo, polietilenoglicol, un agente quelante, por ejemplo, ácido etilendiaminotetraacético, un agente solubilizante, por ejemplo, una ciclodextrina y un antioxidante, por ejemplo, metabisulfito de sodio. Alternativamente, la solución puede ser liofilizada y reconstituida con un solvente adecuado justo antes de la administración.

Los compuestos de esta invención y sus sales farmacéuticamente aceptables que son activos cuando se administran por vía tópica pueden ser formulados como composiciones transdérmicas o dispositivos de liberación transdérmica ("parches"). Tales composiciones incluyen, por ejemplo, un soporte, un depósito para el principio activo, una membrana de control, un revestimiento y un adhesivo de contacto. Tales parches transdérmicos pueden ser utilizados para proporcionar una perfusión continua o discontinua de los compuestos de la presente invención en cantidades controladas. La construcción y el uso de parches transdérmicos para el suministro de agentes farmacéuticos es bien conocido en la técnica. Véase, por ejemplo, la patente US 5,023,252. Tales parches pueden ser contruidos para la liberación continua, pulsátil o a demanda de los agentes farmacéuticos.

Una forma preferida para la administración de un compuesto de la invención es la inhalación. La inhalación es un medio eficaz para la liberación de un agente directamente al tracto respiratorio. Hay tres tipos generales de dispositivos de inhalación farmacéuticos: inhaladores nebulizadores, inhaladores de polvo seco (IPS), e inhaladores dosificadores (ID). Los dispositivos nebulizadores convencionales producen una corriente de aire a alta velocidad que hace que un agente terapéutico se pulverice como una niebla que es llevada al tracto respiratorio del paciente. El agente terapéutico se formula en forma líquida, como una solución o una suspensión de partículas micronizadas de tamaño respirable, donde micronizado se define normalmente como que el 90% o más de las partículas tienen un diámetro inferior a 10 μm .

Una formulación típica para el uso en un dispositivo nebulizador convencional es una solución isotónica acuosa de una sal farmacéutica del principio activo en una concentración del agente activo de entre 0,05 $\mu\text{g/ml}$ y 1 mg/ml. Los dispositivos nebulizadores apropiados son provistos comercialmente, por ejemplo, por PARI GmbH (Stamberg, Alemania). Se han descrito otros dispositivos nebulizadores, por ejemplo, en la patente US 6,123,068.

El IPS suele administrar un agente terapéutico en forma de un polvo suelto que se puede dispersar en una corriente de aire del paciente durante la inspiración. También se están desarrollando dispositivos alternativos de IPS que utilizan una fuente de energía externa para dispersar el polvo. Para conseguir un polvo suelto, el agente terapéutico puede formularse con un excipiente adecuado (p. ej. lactosa o almidón). Se puede hacer una formulación en polvo, por ejemplo, combinando partículas secas de lactosa con partículas micronizadas de una forma adecuada, por lo general una sal farmacéuticamente aceptable, de un compuesto de la invención (es decir, el principio activo) y mezclándolas en seco. Alternativamente, el agente puede formularse sin excipientes. La formulación se carga en un dispensador de polvo seco, o en los cartuchos de inhalación o cápsulas para su uso con un dispositivo de administración de polvo seco.

Los ejemplos de dispositivos de administración IPS suministrados comercialmente incluyen Diskhaler (GlaxoSmithKline, Research Triangle Park, NC) (véase, p. ej., la patente US 5,035,237); Diskus (GlaxoSmithKline) (véase, p. ej., la patente US 6,378,519; Turbuhaler (AstraZeneca, Wilmington, DE) (véase, p. ej., la patente US 4,524,769); y Rotahaler (GlaxoSmithKline) (véase, p. ej., la patente US 4,353,365). Se describen otros ejemplos de dispositivos IPS adecuados en las patentes US Nos. 5,415,162, 5,239,993 y 5,715,810 y las referencias citadas en las mismas.

Los ID suelen descargar una cantidad medida de agente terapéutico utilizando gas propelente comprimido. Las formulaciones para la administración ID incluyen una solución o suspensión del principio activo o en un propelente licuado. Aunque convencionalmente se han utilizado clorofluorocarbonos, como CCl_3F , como propelentes, debido a las preocupaciones acerca de los efectos adversos de estos agentes en la capa de ozono, se han desarrollado formulaciones con hidrofluoroalcanos (HFA), tales como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA 134a) y 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano (HFA 227). Otros componentes adicionales para las formulaciones de HFA incluyen cosolventes, tales como etanol o pentano y tensioactivos, tales como trioleato de sorbitán, ácido oléico, lecitina y glicerina. Véase, por ejemplo, las patentes US 5,225,183, EP 071987 A2 y WO 92/22286).

Por lo tanto, una formulación adecuada para la administración en ID puede incluir desde el 0,001% a 2% en peso de la presente forma cristalina, de 0% a 20% en peso de etanol, y de 0% a 5% en peso de tensioactivo, siendo el resto propelente HFA. En un método, para preparar la formulación, se añade hidrofluoroalcano refrigerado o presurizado a un vial conteniendo la presente forma cristalina, el etanol (si está presente) y el tensioactivo (si está presente). Para preparar una suspensión, la sal farmacéutica se proporciona como partículas micronizadas. Se carga la formulación en un bote de aerosol que forma parte de un dispositivo ID. En las patentes US 6,006,745 y 6,143,227 se proporcionan ejemplos de dispositivos ID desarrollados específicamente para su uso con propelentes HFA.

En una preparación alternativa, se prepara una formulación en suspensión secando por pulverización una capa de tensioactivo en partículas micronizadas de una sal farmacéutica del principio activo. (Véase, por ejemplo, WO 99/53901 y WO 00/61108). Para ver más ejemplos de los procesos de preparación de partículas respirables, y formulaciones y dispositivos adecuados para la dosificación para inhalación consulte las patentes US Nos. 6,268,533, 5,983,956, 5,874,063 y 6,221,398 y WO 99/55319 y WO 00/30614.

Se entenderá que, en las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente, puede utilizarse cualquier forma de los compuestos de la invención, (es decir, base libre, sal farmacéutica, o solvato) que sea conveniente para el modo particular de administración.

Se espera que los compuestos activos sean efectivos en un amplio intervalo de dosificación y se administren en una cantidad terapéuticamente eficaz. Se entenderá, sin embargo, que la cantidad del compuesto realmente administrada será determinada por un médico, a la luz de las circunstancias pertinentes, incluida la condición que debe ser tratada, la vía de administración elegida, el compuesto real que va a administrarse y su relación con la actividad, edad, peso, y la respuesta de cada paciente y la gravedad de los síntomas del paciente.

Un compuesto puede administrarse en una dosis periódica: semanalmente, varias veces por semana, diariamente o varias dosis al día. El régimen de tratamiento puede requerir la administración durante largos períodos de tiempo, por ejemplo, durante varias semanas o meses, o el régimen de tratamiento puede requerir la administración crónica. Las dosis adecuadas para la administración oral están en el intervalo general de 0,05 $\mu\text{g}/\text{día}$ a 100 $\text{mg}/\text{día}$, preferiblemente de 0,5 a 1000 $\mu\text{g}/\text{día}$.

Las dosis adecuadas de los agentes terapéuticos para la administración por inhalación se encuentran en el intervalo general de 0,05 $\mu\text{g}/\text{día}$ a 1000 $\mu\text{g}/\text{día}$, preferiblemente de 0,1 $\mu\text{g}/\text{día}$ a 500 $\mu\text{g}/\text{día}$. Se entenderá que la fracción de principio activo administrado al pulmón característica de los dispositivos de administración particulares se tiene en cuenta en la determinación de las dosis adecuadas para la administración por inhalación.

Se ha descubierto que, entre otras propiedades, los compuestos de la invención son agonistas del receptor adrenérgico β_2 potentes y selectivos. En particular, los compuestos de la invención demuestran una excelente selectividad para el receptor adrenérgico β_2 en comparación con el receptor adrenérgico β_1 y β_3 . Además, se ha descubierto que los compuestos de la invención poseen una duración de acción sorprendente e inesperada. Como se describe en los ensayos biológicos a continuación, los compuestos de la invención han demostrado una duración de acción mayor a 24 horas en un modelo animal de broncoprotección.

La invención encuentra por lo tanto utilidad en un método para tratar a un mamífero de una enfermedad o afección asociada con la actividad del receptor adrenérgico β_2 , el método comprendiendo administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención o de una composición farmacéutica que comprenda un compuesto de la invención.

Los presentes principios activos también se pueden utilizar como parte de una combinación que comprenda, además, uno o más de otros agentes terapéuticos. Por ejemplo, los presentes agentes se puede administrar junto con uno o más agentes terapéuticos seleccionados de agentes antiinflamatorios (por ejemplo, corticoides y antiinflamatorios no esteroideos (AINE)), agentes anticolinérgicos (antagonistas de los receptores muscarínicos en particular), otros agonistas del receptor adrenérgico β_2 , agentes antiinfecciosos (por ejemplo, antibióticos o antivirales) o antihistamínicos. La invención proporciona así, en un aspecto adicional, una combinación que comprende un compuesto de la invención y uno o más agentes terapéuticos, por ejemplo, un agente antiinflamatorio, un agente anticolinérgico, otro agonista del receptor adrenérgico β_2 , un agente antiinfeccioso o un antihistamínico.

Los otros agentes terapéuticos se pueden utilizar en forma de sales o solvatos farmacéuticamente aceptables. Si se considera apropiado, se pueden utilizar los otros agentes terapéuticos como estereoisómeros ópticamente puros.

ES 2 364 450 T3

Los agentes antiinflamatorios adecuados incluyen corticoides y AINE. Los corticosteroides adecuados que se pueden utilizar en combinación con los compuestos de la invención son los corticoides orales e inhalados y sus fármacos que tienen actividad antiinflamatoria. Los ejemplos incluyen metilprednisolona, prednisona, dexametasona, fluticasona, propionato, éster S-fluorometílico del ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-uranilcarbonil)oxi]-11 α -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dien-17 α -carbotiólico, éster S-(2-oxo-tetrahydro-furan-3S-ílico) del ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 α -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-17 α -propioniloxi-androsta-1,4-dieno-17 α -carbotiólico, ésteres de beclometasona (p. ej., éster de 17-propionato o éster de 17,21-dipropionato), budesonida, flunisolida, ésteres de mometasona (p. ej., éster de furoato), acetónido de triamcinolona, rofleponida, ciclesonida, butixocort propionato, RPR-106641 y ST-126. Los corticoesteroides preferidos incluyen propionato de fluticasona, éster S-fluorometílico del ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -(2-furanilcarbonil)oxi]-11 α -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 α -carbotiólico, más preferiblemente éster S-fluorometílico del ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonil)oxi]-11 α -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 α -carbotiólico.

Los AINE adecuados incluyen cromoglicato sódico; nedocromil sódico; inhibidores de fosfodiesterasas (PDE) (por ejemplo, teofilina, inhibidores de PDE4 o inhibidores mixtos de PDE3/PDE4); antagonistas de leucotrieno (por ejemplo, monteleukast); inhibidores de la síntesis de leucotrienos; inhibidores de iNOS; inhibidores de proteasas, tales como tripsina y elastasa; antagonistas de beta-2 integrina y agonistas o antagonistas del receptor de adenosina (por ejemplo, agonistas de adenosina 2a); antagonistas de citoquinas (por ejemplo, antagonistas de quimiocinas, tales como, un anticuerpo de interleuquina (anticuerpo α IL), específicamente, una terapia con α IL-4, una terapia con α IL-13, o una combinación de las mismas); o inhibidores de la síntesis de citoquinas. Otros agonistas del receptor adrenérgico β_2 incluyen salmeterol (p. ej., como el xinafoato), salbutamol (p. ej., como el sulfato o la base libre), formoterol (p. ej., como el fumarato), fenoterol o terbutalina y sus sales.

También es interesante el uso del presente principio activo en combinación con un inhibidor de la fosfodiesterasa 4 (PDE4) o un inhibidor mixto de PDE3/PDE4. Los inhibidores representativos de fosfodiesterasa 4 (PDE4) o inhibidores mixtos de PDE3/PDE4 incluyen, aunque no exclusivamente, ácido cis-4-ciano-4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)ciclohexan-1-carboxílico, 2-carbometoxi-4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxifenil)ciclohexan-1-ona; cis-[4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluoro-metoxifenil)ciclohexan-1-ol]; y ácido cis-4-ciano-4-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]ciclohexano-1-carboxílico o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Otros inhibidores representativos de PDE4 o mixtos de PDE4/PDE3 incluyen AWD-12-281 (elbion), NCS-613 (INSERM), D-4418 (Chiroscience y Schering-Plough), CI-1018 o PD-168787 (Pfizer), compuestos de benzodioxol descritos en WO99/16766 (Kyowa Hakko), K-34 (Kyowa Hakko), V-11294A (Napp); roflumilast (Byk-Gulden), compuestos de ftalazinona descritos en WO99/47505 (Byk-Gulden); Pumafentrina (Byk-Gulden, ahora Altana); arofilina (Almiral-Prodesfarma); VM554/UM565 (Vemalis), T-440 (Tanabe Seiyaku) y T2585 (Tanabe Seiyaku).

Los agentes anticolinérgicos adecuados son los compuestos que actúan como antagonistas de los receptores muscarínicos, en particular aquellos compuestos que son antagonistas de los receptores M₁, M₂ o M₃ o de combinaciones de los mismos. Los compuestos ejemplares incluyen los alcaloides de las plantas de belladona, ilustrados por la atropina, escopolamina, homatropina, hiosciamina, estos compuestos se administran normalmente en forma de sal, siendo aminas terciarias. Estos medicamentos, en particular las formas de sal, están disponibles de una serie de fuentes comerciales o se pueden hacer o preparar a partir de los datos de la literatura, a saber:

Atropina -CAS-51-55-8 o CAS-51-48-1 (forma anhidra), sulfato de atropina -CAS-5908-99-6; óxido de atropina -CAS 4438-22-6 o su sal de HCl -CAS-4574-60-1 y nitrato de metilatropina -CAS-52-88-0.

Homatropina -CAS-87-00-3, sal de hidrobromuro -CAS-51-56-9, sal de bromuro de metilo -CAS-80-49-9.

Hiosciamina (*d, l*) -CAS-101-31-5, sal de hidrobromuro -CAS-306-03-6 y sal de sulfato -CAS-6835-16-1.

Escopolamina -CAS-51-34-3, sal de hidrobromuro -CAS-6533-68-2, sal de bromuro de metilo -CAS-155-41-9.

Los anticolinérgicos preferidos incluyen ipratropio (p. ej., como el bromuro), que se vende bajo el nombre de Atrovent, oxitropio (p. ej., como el bromuro) y tiotropio (por ejemplo, como el bromuro) (CAS-139404-48-1). También son de interés: metantelina (CAS53-46-3), bromuro de propantelina (CAS 50-34-9), metilbromuro de anisotropina o Valpin 50 (CAS 80-50-2), bromuro de clidinio (Quarzan, CAS-3485-62-9), copirrolato (Robinul), yoduro de isopropamida (CAS-71-81-8), bromuro de mepenzolato (patente US 2,918,408), cloruro de tridihexetilo (Pathilone, CAS-4310-35-4), y metilsulfato de hexociclo (Tral, CAS-115-63-9). Véase también el hidrocloreto de ciclopentolato (CAS-5870-29-1), tropicamida (CAS-1508-75-4), hidrocloreto de trihexifenidilo (CAS-144-11-6), pirenzepina (CAS-29868-97-1), telenzepina (CAS-80880-90-9), AF-DX 116, o metoctramina, y los compuestos descritos en WO01/04118.

Los antihistamínicos adecuados (también conocidos como antagonistas del receptor H₁) incluyen uno o más de los numerosos antagonistas conocidos que inhiben los receptores H₁, y son seguros para el consumo humano. Todos son inhibidores reversibles y competitivos de la interacción de la histamina con los receptores H₁. La mayoría de estos inhibidores, principalmente los antagonistas de primera generación, se caracterizan, en base a sus estructuras básicas, como etanolaminas, etilendiaminas, y alquilaminas. Además, otros antihistamínicos de primera generación son aquellos que pueden ser caracterizados como con base de piperizina y fenotiazinas. Los antagonistas de segunda

generación, que son no sedantes, tienen una relación similar en cuanto a su estructura y actividad porque mantienen el grupo etileno central (las alquilaminas) o imitan a un grupo amino terciario con piperizina o piperidina. Los antagonistas ejemplares son los siguientes:

- 5 Etanolaminas: maleato de carbinoxamina, fumarato de clemastina, hidrocloreuro de difenilhidramina y dimen-
hidrinato.
- Etilenodiaminas: amleato de pirilamina, HCl de tripeleennamina y citrato de tripeleennamina.
- 10 Alquilaminas: clorfeniramina y sus sales como la sal de maleato, y acrivastina.
- Piperazinas: hidrocloreuro de hidroxicina, pamoato de hidroxicina, HCl de ciclizina, lactato de ciclizina, HCl de meclizina y HCl de cetirizina.
- 15 Piperidinas: Astemizol, HCl de levocabastina, loratadina o su análogo descarboetoxi, y terfenadina e hidrocloreuro de fexofenadina u otra sal farmacéuticamente aceptable.
- El hidrocloreuro de azelastina es otro antagonista más del receptor H1 que se puede utilizar en combinación con un compuesto de la invención.

20

Los ejemplos de antihistamínicos preferidos incluyen el metapirileno y la loratadina.

- 25 La invención proporciona así, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de la fórmula (II) o una sal o solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo y un corticoesteroide. En particular, la invención proporciona una combinación en la que el corticoesteroide es propionato de fluticasona o en el que el corticoesteroide es éster S-fluorometílico del ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonyl)oxi]-11 α -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 α -carbotiólico o éster S-(2-oxo-tetrahydro-furan-3S-ílico) del ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 α -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-17 α -propioniloxi-androsta-1,4-dieno-17 α -carbotiólico.

30

La invención proporciona así, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de la fórmula (II) o una sal o solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo y un inhibidor de PDE4.

- 35 La invención proporciona así, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de la fórmula (II) o una sal o solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo y un agente anticolinérgico.

La invención proporciona así, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de la fórmula (II) o una sal o solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo y un antihistamínico.

- 40 La invención proporciona así, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de la fórmula (II) o una sal o solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un inhibidor de PDE4 y un corticoesteroide.

- 45 La invención proporciona así, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de la fórmula (II) o una sal o solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un agente anticolinérgico y un corticoesteroide.

- 50 Por lo tanto, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden comprender opcionalmente un compuesto de la fórmula (II) o una sal o solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo junto con uno o más agentes terapéuticos como se ha descrito arriba.

- 55 Los compuestos individuales de las combinaciones de la invención pueden formularse por separado o formularse juntos en una composición farmacéutica única. Los componentes individuales pueden ser administrados de forma secuencial o simultáneamente en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas. Los expertos en la materia deducirán fácilmente las dosis apropiadas de agentes terapéuticos. Los métodos de tratamiento en el que los compuestos (II) se utilizan, por lo tanto, incluyen la administración de los compuestos individuales de tales combinaciones secuencial o simultáneamente en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas.

- 60 Así, la invención encuentra utilidad en un método para tratar a un mamífero de una enfermedad o afección asociada con la actividad del receptor adrenérgico β_2 , el método comprendiendo administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de una combinación de un compuesto de la fórmula (II) o una sal o solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más agentes terapéuticos.

- 65 Puesto que los compuestos de la invención son agonistas del receptor adrenérgico β_2 , estos compuestos también son útiles como herramientas de investigación para la investigación o el estudio de sistemas biológicos o muestras que tengan receptores adrenérgicos β_2 o para descubrir nuevos agonistas del receptor adrenérgico β_2 . Por otra parte, como los compuestos de la invención exhiben selectividad para los receptores adrenérgicos β_2 en comparación con la actividad de unión y funcional de los receptores de otros subtipos adrenérgicos β_2 , tales compuestos son también

útiles para el estudio de los efectos del agonismo selectivo de los receptores adrenérgicos β_2 en un sistema biológico o muestra. Se puede emplear cualquier muestra o sistema biológico que tenga receptores adrenérgicos β_2 en tales estudios que pueden realizarse *in vitro* o *in vivo*. Los sistemas biológicos o muestras representativos adecuados para tales estudios incluyen, aunque no exclusivamente, células, extractos celulares, membranas plasmáticas, muestras de tejido, mamíferos (como ratones, ratas, cobayas, conejos, perros, cerdos, etc.).

Los siguientes ejemplos ilustran las composiciones farmacéuticas representativas de la presente invención: se pueden encontrar otros vehículos adecuados para las formulaciones de los compuestos activos de la presente invención en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20ª edición, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2000.

Ejemplo de formulación A

Este ejemplo ilustra la preparación de una composición farmacéutica representativa para la administración oral de un compuesto de esta invención:

Ingredientes	Cantidad por comprimido (mg)
Compuesto activo	1
Lactosa, secada por pulverización	148
Estearato de magnesio	2

Los ingredientes anteriores se mezclan y se introducen en una cápsula de gelatina dura.

Ejemplo de Formulación B

Este ejemplo ilustra la preparación de otra composición farmacéutica representativa para la administración oral de un compuesto de esta invención:

Ingredientes	Cantidad por comprimido (mg)
Compuesto activo	1
Almidón de maíz	50
Lactosa	145
Estearato de magnesio	5

Los ingredientes anteriores se mezclan y comprimen en comprimidos marcados por una cara.

Ejemplo de formulación C

Este ejemplo ilustra la preparación de una composición farmacéutica representativa para la administración oral de un compuesto de esta invención.

ES 2 364 450 T3

Se prepara una suspensión oral con la siguiente composición:

5	Ingredientes	
	Compuesto activo	3 mg
	Ácido fumárico	0,5 g
10	Cloruro sódico	2,0 g
	Metil parabeno	0,1 g
15	Azúcar granulada	25,5 g
	Sorbitol (solución al 70%)	12,85 g
20	Veegum k (Vanderbilt Co.)	1,0 g
	Saborizante	0,035 ml
	Colorantes	0,5 mg
25	Agua destilada	c.s. para 100 ml

30 Ejemplo de formulación D

Este ejemplo ilustra la preparación de una composición farmacéutica representativa para la administración oral de un compuesto de esta invención.

35 Se prepara una preparación inyectable tamponada a un pH 4 con la siguiente composición:

40	Ingredientes	
	Compuesto activo	0,1 mg
	Solución tampón de acetato sódico (0,4 M)	2,0 ml
45	HCl (1N)	c.s. para pH 4
	Agua (destilada, estéril)	c.s. para 20 ml

50

Ejemplo de formulación E

55 Este ejemplo ilustra la preparación de una composición farmacéutica representativa para una inyección de un compuesto de esta invención:

Se prepara una solución reconstituida añadiendo 20 ml de agua estéril a 1 mg del compuesto de esta invención. Antes de su uso, la solución se diluye con 200 ml de una solución intravenosa que es compatible con el principio activo. Tales fluidos son elegidos de una solución de dextrosa al 5%, de cloruro sódico al 0,9% o una mezcla de dextrosa al 5% y de cloruro sódico al 0,9%. Otros ejemplos son la inyección de Ringer lactada, la inyección de Ringer lactada más dextrosa al 5%, Normosol-M y dextrosa al 5%, Isolyte E e inyección de Ringer acilada.

65 Ejemplo de formulación F

Este ejemplo ilustra la preparación de una composición farmacéutica representativa para la aplicación tópica de un compuesto de esta invención.

Ingredientes	gramos
Compuesto activo	0,2-10.
Span 60	2
Tween 60	2
Aceite mineral	5
Petrolato	10
Metilparabeno	0,15
Propilparabeno	0,05
BHA (hidroxianisol butilado)	0,01
Agua	c.s.para 100

Todos los ingredientes anteriores, excepto el agua, se combinan y se calientan a 60°C con agitación. Entonces se añade una cantidad suficiente de agua a 60°C con agitación vigorosa para emulsionar los ingredientes, y se añade agua, c.s. para 100 g.

Ejemplo de formulación G

Este ejemplo ilustra la preparación de una composición farmacéutica representativa conteniendo un compuesto de la invención.

Se prepara una formulación de aerosol acuosa para su uso con un nebulizador disolviendo 0,1 mg de una sal farmacéutica del principio activo en una solución de cloruro de sodio al 0,9% acidificada con ácido cítrico. Se agita la mezcla y se somete a sonicación hasta que se disuelve la sal activa. Se ajusta el pH de la solución a un valor en el rango de entre 3 y 8 añadiendo lentamente NaOH.

Ejemplo de formulación H

Este ejemplo ilustra la preparación de una formulación de polvo seco que contiene un compuesto de la invención para uso en cartuchos de inhalación.

Se llenan unos cartuchos de gelatina para inhalación de una composición farmacéutica que tiene los siguientes ingredientes:

Ingredientes	mg/cartucho
Sal farmacéutica del compuesto activo	0,2
Lactosa	25

Se microniza la sal farmacéutica del principio activo antes de mezclarla con lactosa. Se administran el contenido del cartucho utilizando un inhalador de polvo.

Ejemplo de formulación I

Este ejemplo ilustra la preparación de una formulación de polvo seco que contiene un compuesto de la invención para uso en un dispositivo de inhalación de polvo seco.

Se prepara una composición farmacéutica con una relación de formulación a granel de sal farmacéutica micronizada a lactosa de 1:200. Se envasa la composición en un dispositivo de inhalación de polvo seco capaz de administrar entre aproximadamente 10 µg y aproximadamente 100 µg del principio activo del fármaco por dosis.

Ejemplo de formulación J

Este ejemplo ilustra la preparación de una formulación que contiene un compuesto de la invención para uso en un inhalador dosificador.

- 5 Se prepara una suspensión conteniendo el 5% de una sal farmacéutica del compuesto activo, 0,5% de lecitina y 0,5% de trehalosa dispersando 5 g del compuesto activo como partículas micronizadas con un tamaño medio inferior a 10 μm en una solución coloidal formada por 0,5 g de trehalosa y 0,5 g de lecitina disueltos en 100 ml de agua desmineralizada. Se seca la suspensión por pulverización y se microniza el material resultante a partículas con un
10 diámetro medio inferior a 1,5 μm . Se cargan las partículas en botes con 1,1,1,2-tetrafluoroetano presurizado.

Ejemplo de formulación K

- 15 Este ejemplo ilustra la preparación de una formulación que contiene un compuesto de la invención para su uso en un inhalador dosificador.

- Se prepara una suspensión conteniendo 5% de una sal farmacéutica del compuesto activo y 0,1% de lecitina dispersando 10 g del compuesto activo como partículas micronizadas con un tamaño medio inferior a 10 μm en una solución formada por 0,2 g de lecitina disueltos en 200 ml de agua desmineralizada. Se seca la suspensión por
20 pulverización y se microniza el material resultante a partículas con un diámetro medio inferior a 1,5 μm . Se cargan las partículas en botes con 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoruro-n-propano presurizado.

25 **Ensayos biológicos**

- Los compuestos de esta invención, y sus sales farmacéuticamente aceptables, presentan actividad biológica y son útiles para el tratamiento médico. La capacidad de un compuesto de unirse al receptor adrenérgico β_2 , así como su selectividad, potencia agonista, y actividad intrínseca se puede demostrar utilizando las pruebas A-B abajo, o se pueden
30 demostrar con otras pruebas conocidas en la técnica.

Abreviaturas

- | | | |
|----|---------|---------------------------------------|
| 35 | %Ef | % de eficacia |
| | ATCC | Colección americana de cultivos tipo |
| | BSA | Albúmina de suero bovino |
| 40 | AMPc | Adenosina 3':5'-monofosfato cíclico |
| | DMEM | Medio modificado Eagle de Dulbecco |
| 45 | DMSO | Sulfóxido de dimetilo |
| | EDTA | Ácido etilenodiaminotetraacético |
| | Emax | Eficacia máxima |
| 50 | FBS | Suero bovino fetal |
| | Gly | Glicina |
| 55 | HEK-293 | Riñón embrionario humano -293 |
| | PBS | Solución salina tamponada con fosfato |
| | rpm | revoluciones por minuto |
| 60 | Tris | Tris(hidroximetil)aminometano |

Preparación de las membranas con células que expresan los receptores adrenérgicos humanos β_1 o β_2

- 65 Se cultivaron líneas celulares derivadas de HEK-293 que expresaban de forma estable los receptores adrenérgicos humanos β_1 o β_2 , respectivamente, hasta casi la confluencia en un medio DMEM con FBS dializado al 10% en presencia de 500 $\mu\text{g/ml}$ de Geneticina. La monocapa celular se levantó con Versene 1:5.000 (0,2 g/l de EDTA en PBS)

con un rascador de células. Las células se sedimentaron por centrifugado a 1.000 rpm, y los sedimentos celulares se almacenaron congelados a -80°C o se prepararon inmediatamente las membranas. Para la preparación, los sedimentos celulares se resuspendieron en tampón de lisis (10 mM de Tris/HCl pH 7,4 a 4°C , un comprimido de "Complete Protease Inhibitor Cocktail Tablets" (Roche cat.# 1697498, Roche Molecular Biochemicals, Indianápolis, IN) con 2 mM de EDTA por cada 50 ml de tampón y se homogeneizó utilizando un homogeneizador de cristal Dounce ajustado (20 emboladas) en hielo. El homogeneizado se centrifugó a $20.000 \times g$, el sedimento se lavó una vez con tampón de lisis por resuspensión y centrifugación como se indica arriba. El sedimento final se resuspendió en tampón para membranas (75 mM de Tris/HCl pH 7,4, 12,5 mM de MgCl_2 , 1 mM de EDTA a 25°C). La concentración de proteínas de la suspensión de las membranas se determinó por el método de Bradford (Bradford MM., Analytical Biochemistry, 1976, 72, 248-54). Se almacenaron las membranas congeladas en partes alícuotas a -80°C .

Prueba A

Ensayo de unión de radioligando sobre los receptores adrenérgicos humanos β_1 y β_2

Los ensayos de unión se realizaron en placas de microtitulación de 96 pocillos en un volumen de ensayo total de $100 \mu\text{l}$ con $5 \mu\text{g}$ de proteína de membrana para membranas que contenían el receptor adrenérgico humano β_2 , o $2,5 \mu\text{g}$ de proteínas de membrana para membranas que contenían el receptor adrenérgico humano β_1 en tampón de ensayo (75 mM de Tris/HCl, pH 7,4 a 25°C , 12,5 mM de MgCl_2 , 1 mM de EDTA, 0,2% BSA). Se realizaron los estudios de unión por saturación para determinar los valores K_d del radioligando utilizando [^3H]-dihidroalprenolol (NET-720, 100 Ci/mmol, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA) en 10 concentraciones diferentes que variaban entre 0,01 nM y 200 nM. Se realizaron ensayos de desplazamiento para la determinación de los valores pK_i de los compuestos con [^3H]-dihidroalprenolol a 1 nM y 10 concentraciones diferentes de compuesto que van desde 40 pM a $10 \mu\text{M}$. Los compuestos se disolvieron a una concentración de 10 mM en un tampón de disolución (25 mM Gly-HCl pH 3,0 con 50% de DMSO), luego se diluyeron a 1 mM en 50 mM de 5 Gly-HCl pH 3,0, y de ahí se diluyeron en serie en tampón de ensayo. La unión no específica se determinó en presencia de $10 \mu\text{M}$ de alprenolol sin marcar. Se incubaron los ensayos durante 90 minutos a temperatura ambiente, las reacciones de unión se terminaron con una filtración rápida sobre placas de filtro de cristal GF/B (Packard BioScience Co., Meriden, CT) previamente impregnadas en polietilenoimina al 0,3%. Las placas de filtración se lavaron tres veces con tampón de filtración (75 mM de Tris/HCl, pH 7,4 a 4°C , 12,5 mM de MgCl_2 , 1 mM de EDTA) para eliminar la radioactividad no unida. Las placas se secaron, se añadió $50 \mu\text{l}$ de fluido Microscint-20 de centelleo líquido (Packard BioScience Co., Meriden, CT) y se contaron las placas en un contador de centelleo líquido Packard Topcount (Packard BioScience Co., Meriden, CT). Se analizaron los datos de unión por análisis de regresión no lineal con el paquete GraphPad Prism Software (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) utilizando el modelo de competencia de un sitio de 3 parámetros. El mínimo de la curva se fijó en el valor de la unión no específica, como se determinó en presencia de $10 \mu\text{M}$ de alprenolol. Se calcularon los valores de K_i para los compuestos de los valores observados de IC_{50} y el valor de K_d del radioligando utilizando la ecuación de Cheng-Prusoff (Cheng Y; Prusoff W. H. Biochemical Pharmacology 1973, 22, 23, 3099-108). La selectividad de subtipo del receptor se calculó como el cociente de $K_i(\beta_1)/K_i(\beta_2)$. Los compuestos de la invención demostraron una mayor unión en el receptor adrenérgico β_2 que en el receptor adrenérgico β_1 es decir, $K_i(\beta_1) > K_i(\beta_2)$ con una selectividad superior a aproximadamente 30.

Prueba B

Ensayos de AMPc Flashplate de células enteras con líneas celulares que expresan heterológicamente el receptor adrenérgico β_1 , el receptor adrenérgico β_2 y el receptor adrenérgico β_3 humanos, respectivamente

Se cultivó una línea celular de HEK-293 que expresaba de forma estable el receptor adrenérgico humano β_1 , (clon H34.1), hasta casi una confluencia de 70%-90% en un medio compuesto por DMEM complementado con FBS al 10% y $500 \mu\text{g/ml}$ de Geneticina. Se cultivó una línea celular de HEK-293 que expresaba de forma estable el receptor adrenérgico humano clonado β_2 (clon H24.14) en el mismo medio hasta la plena confluencia. Se cultivó una línea celular de CHO-K1 que expresaba de forma estable el receptor adrenérgico humano β_3 hasta casi una confluencia de 70%-90% en un medio de Ham F-12 complementado con FBS al 10% y añadiéndole $800 \mu\text{g/ml}$ de Geneticina cada cinco pasadas. El día antes de la prueba, se cambiaron los cultivos al mismo medio de crecimiento sin antibióticos.

Se realizaron los ensayos de AMPc en un formato de radioinmunoensayo utilizando el sistema de ensayo de activación de adenilato ciclasa Flashplate con ^{125}I -AMPc (NEN SMP004, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA), según las instrucciones del fabricante.

En el día del ensayo, las células se lavaron una vez con PBS, se levantaron con Versene 1:5.000 (0,2 g/l de EDTA en PBS) y se contaron. Las células se sedimentaron por centrifugación a 1.000 rpm y se resuspendieron en un tampón de estimulación precalentado a 37°C . A las células que expresaban el receptor adrenérgico β_1 se les añadió 10 nM de ICI 118.551 en el tampón de estimulación, y las células fueron incubadas durante 10 min a 37°C . Se utilizaron las células con una concentración final de 30.000, 40.000 y 70.000 células/pocillo para las células que expresaban el receptor adrenérgico β_1 , el receptor adrenérgico β_2 y el receptor adrenérgico β_3 , respectivamente. Los compuestos se disolvieron a una concentración de 10 mM en DMSO y luego se diluyeron en 1 mM de Gly-HCl pH 3,0 y de ahí se diluyeron en un tampón de ensayo (75 mM de Tris/HCl pH 7,4, a 25°C , 12,5 mM de MgCl_2 , 1 mM de EDTA, BSA al 0,2%). Los compuestos se probaron en el ensayo con 11 concentraciones diferentes, que iban de $10 \mu\text{M}$ a 9,5 pM. Se incubaron las reacciones durante 10 minutos a 37°C y se pararon añadiendo $100 \mu\text{l}$ de tampón de detención enfriado en

ES 2 364 450 T3

hielo. Las placas se sellaron, se incubaron durante la noche a 4°C y se contaron a la mañana siguiente en un contador de centelleo TopCount (Packard BioScience Co., Meriden, CT). Se calculó la cantidad de AMPc producida por ml de reacción en base a los recuentos observados para las muestras y los estándares de AMPc, como se describe en el manual de usuario del fabricante. Se analizaron los datos por análisis de regresión no lineal con el paquete GraphPad Prism Software (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) utilizando el modelo de 3 parámetros para la curva de dosis-respuesta sigmoidal (pendiente = 1). Las potencias agonistas se expresaron como valores pEC₅₀.

Los compuestos de la invención demostraron una potente actividad en el receptor adrenérgico β_2 en este ensayo, como evidenciaron los valores pEC₅₀ superiores a aproximadamente 9. Además, los compuestos probados demostraron tener selectividad funcional en el receptor β_2 en comparación con la actividad funcional en los receptores β_1 y β_3 . En particular, los compuestos de la invención demostraron unas relaciones EC₅₀(β_1)/EC₅₀(β_2) de más de aproximadamente 10 y unas relaciones EC₅₀(β_3)/EC₅₀(β_2) superiores a aproximadamente 50.

Prueba C

Ensayo de AMPc Flashplate de células enteras con una línea celular epitelial de pulmón que expresa endógenamente el receptor adrenérgico humano β_2

Para la determinación de las potencias y eficacias agonistas (actividades intrínsecas) en una línea celular que expresaba niveles endógenos del receptor adrenérgico β_2 , se utilizó una línea de células epiteliales pulmonares humanas (BEAS-2B) (ATCC CRL-9609, American Type Culture Collection, Manassas, VA) (January B, *et al.*, British Journal of Pharmacology, 1998, 123, 4, 701-11). Las células se cultivaron con una confluencia de 75-90% en un medio completo exento de suero (medio LHC-9 conteniendo epinefrina y ácido retinoico, cat # 181-500, Biosource International, Camarillo, CA). El día anterior al ensayo se cambió el medio a LHC8 (sin epinefrina ni ácido retinoico, cat# 141-500, Biosource International, Camarillo, CA).

Se realizaron los ensayos de AMPc en un formato de radioinmunoensayo utilizando el sistema de ensayo de activación de adenilato ciclasa Flashplate con ¹²⁵I-AMPc (NEN SMP004, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA), según las instrucciones del fabricante.

En el día del ensayo, las células se lavaron una vez con PBS, se levantaron rascándolas con 5 mM de EDTA en PBS y se contaron. Las células se sedimentaron por centrifugado a 1.000 rpm, y se resuspendieron en tampón de estimulación precalentando a 37°C en una concentración final de 600.000 células/ml. Se utilizaron células con una concentración final de 30.000 células/pocillo en el ensayo. Los compuestos se disolvieron a una concentración de 10 mM en tampón de disolución (25 mM de Gly-HCl pH 3,0 con DMSO al 50%) luego se diluyeron hasta 1 mM en 50 mM de Gly-HCl pH 3,0 y de ahí se diluyeron en un tampón de ensayo (75 mM de Tris/HCl pH 7,4, a 25°C, 12,5 mM de MgCl₂, 1 mM de EDTA, BSA al 0,2%).

Los compuestos se probaron en el ensayo con 10 concentraciones diferentes, que iban de 10 μ M a 40 pM. La respuesta máxima se determinó en presencia de 10 μ M de isoproterenol. Se incubaron las reacciones durante 10 minutos a 37°C y se pararon añadiendo 100 μ l de tampón de detención enfriado en hielo. Las placas se sellaron, se incubaron durante la noche a 4°C y se contaron a la mañana siguiente en un contador de centelleo TopCount (Packard BioScience Co., Meriden, CT). Se calculó la cantidad de AMPc producida por ml de reacción en base a los recuentos observados para las muestras y los estándares de AMPc, como se describe en el manual de usuario del fabricante. Se analizaron los datos por análisis de regresión no lineal con el paquete GraphPad Prism Software (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) utilizando el modelo de 4 parámetros para la curva de dosis-respuesta sigmoidal con pendiente variable. Los compuestos de la invención probados en este ensayo demostraron valores pEC₅₀ superiores a aproximadamente 8.

Se calculó la eficacia del compuesto (%Ef) a partir de la relación de la Emax observada (parte superior de la curva ajustada) y la respuesta máxima obtenida para 10 μ M de isoproterenol y se expresó como %Ef en relación con el isoproterenol. Los compuestos probados demostraron un %Ef superior a aproximadamente 50.

Prueba D

Ensayo de broncoprotección contra un broncoespasmo inducido con acetilcolina en un modelo de conejillo de indias

Se identificaron individualmente grupos de 6 conejillos de indias machos (Duncan-Hartley (HsdPoc:DH) Harlan, Madison, WI) con un peso de entre 250 y 350 g poniendo tarjetas en sus jaulas. Durante todo el estudio se les dio acceso a los animales a comida y agua *ad libitum*.

Se administraron los compuestos de ensayo por inhalación durante 10 minutos en una cámara de dosificación con exposición a todo el cuerpo (R&S Molds, San Carlos, CA). Se dispusieron las cámaras de dosificación de tal modo que se administrara un aerosol simultáneamente a 6 cámaras individuales desde un distribuidor central. Después de un período de aclimatación de 60 minutos y una exposición de 10 minutos en agua nebulizada para inyección (WFI), los conejillos de Indias fueron expuestos a un aerosol de compuesto o vehículo de prueba (WFI). Se generaron estos aerosoles con soluciones acuosas utilizando un LC Star Nebulizer Set (modelo 22F51, PARI Respiratory Equipment,

ES 2 364 450 T3

Inc. Midlothian, VA) conducidas por una mezcla de gases ($\text{CO}_2 = 5\%$, $\text{O}_2 = 21\%$ y $\text{N}_2 = 74\%$) a una presión de 22 psi. El flujo de gas a través del nebulizador a esta presión de funcionamiento fue de aproximadamente 3 l/minuto. Se condujeron los aerosoles generados a las cámaras por presión positiva. No se utilizó aire de dilución durante la administración de las soluciones aerosolizadas. Durante la nebulización de 10 minutos se nebulizó aproximadamente 1,8 ml de solución. Esto se midió gravimétricamente comparando los pesos de los nebulizadores llenos antes y después de la nebulización.

Se evaluaron los efectos broncoprotectores de los compuestos administrados por inhalación utilizando pletismografía de todo el cuerpo a las 1, 5, 24, 48 y 72 horas posteriores a la dosis. Cuarenta y cinco minutos antes de empezar la evaluación pulmonar, se anestesió a cada conejillo de indias con una inyección intramuscular de quetamina (43,75 mg/kg), xilazina (3,50 mg/kg) y acepromacina (1,05 mg/kg). Una vez afeitado el lugar quirúrgico y limpiado con alcohol al 70% se hizo una incisión central de 2-5 cm del aspecto ventral del cuello. Entonces se aisló la vena yugular y se intubó con un catéter de polietileno lleno de una solución salina (PE-50, Becton Dickinson, Sparks, MD) para poder hacer infusiones intravenosas de 0,1 mg/ml de solución de acetilcolina (Ach) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) en solución salina. Luego se diseccionó la tráquea y se intubó con un tubo de teflón 14G (#NE-014, Small Parts, Miami Lakes, FL). Si el caso lo requiriera, se mantuvo la anestesia mediante inyecciones intramusculares adicionales del cóctel anestésico anteriormente mencionado. Se controló la profundidad de la anestesia y se ajustó cuando el animal respondía al pincharle la pata o si la velocidad de respiración era mayor de 100 exhalaciones/minuto.

Una vez que se completaron las intubaciones se colocaron a los animales en un pletismógrafo (#PLY3114, Buxco Electronics, Inc., Sharon, CT) y se introdujo una cánula de presión esofágica para medir la presión esfenoidal pulmonar (*presión*). Se unió el tubo traqueal de teflón a la abertura del pletismógrafo para dejar que el conejillo de indias respirara aire ambiente de fuera de la cámara. Luego se selló la cámara. Se utilizó una lámpara de calentamiento para mantener la temperatura corporal y se inflaron los pulmones del conejillo de indias 3 veces con 4 ml de aire utilizando una jeringuilla de calibración de 10 ml (serie #5520, Hans Rudolph, Kansas City, MO) para asegurar que las vías respiratorias inferiores no fallaran y el animal padeciera de hiperventilación.

Después de determinar que los valores de referencia estaban dentro del rango de 0,3-0,9 ml/cm H_2O de adaptabilidad y dentro del rango de 0,10-1,99 cm H_2O /ml por segundo de resistencia, se inició la evaluación pulmonar. Un programa informático de medición pulmonar Buxco permitió la recogida y derivación de los valores pulmonares. El arranque de este programa inició el protocolo experimental y la recogida de datos. Se midieron los cambios volumétricos que ocurrieron en el tiempo dentro del pletismógrafo con cada exhalación a través de un transductor de presión Buxco. Al integrar esta señal a través del tiempo, se calculó una medida de *flujo* para cada exhalación. Esta señal, junto con los cambios de *presión* esfenoidal pulmonar, que se recogieron utilizando un transductor de presión Sensym (#TRD4100), se conectó a través de un preamplificador Buxco (MAX 2270) a un interfaz de recogida de datos (#'s SFT3400 y SFT3813). Todos los otros parámetros pulmonares se obtuvieron a partir de estas dos entradas.

Se recogieron los valores de referencia durante 5 minutos y tras este tiempo se estimularon los conejillos de indias con Ach. Se infundió Ach por vía intravenosa durante 1 minuto desde una bomba de jeringa (sp210iw, World Precision Instruments, Inc., Sarasota, FL) en las siguientes dosis y tiempos prescritos desde el inicio del experimento: 1,9 μg /minuto a los 5 minutos, 3,8 μg /minuto a los 10 minutos, 7,5 μg /minuto a los 15 minutos, 15,0 μg /minuto a los 20 minutos, 30 μg /minuto a los 25 minutos y 60 μg /minuto a los 30 minutos. Si la resistencia o adaptabilidad no habían vuelto a los valores de referencia a los 3 minutos siguientes a cada dosis de Ach, se inflaron los pulmones de los conejillos de indias 3 veces con 4 ml de aire desde una jeringuilla de calibración de 10 ml. Los parámetros pulmonares registrados incluían frecuencia de respiración (exhalaciones/minuto), adaptabilidad (ml/cm H_2O) y resistencia pulmonar (cm H_2O /ml por segundo) (Giles *et al*, 1971). Una vez que se realizaron las mediciones de la función pulmonar en el minuto 35 de este protocolo, se retiró al conejillo de indias de la pletismografía y se sacrificó por asfixia con CO_2 .

Se calculó la cantidad PD_{20} , que se define como la cantidad de Ach necesaria para doblar la resistencia pulmonar de referencia, utilizando los valores de resistencia pulmonar obtenidos del *flujo* y la *presión* sobre un rango de estímulos con Ach utilizando la siguiente ecuación. Esta se obtuvo de la ecuación utilizada para calcular los valores de PC_{20} en la clínica (Am. Thoracic Soc, 2000).

$$\text{PD}_{20} = \text{antilog} \left[\log C_1 + \frac{(\log C_2 - \log C_1)(2R_0 - R_1)}{R_2 - R_1} \right]$$

donde:

C_1 = Segunda a última concentración de Ach (concentración anterior a C_2)

C_2 = Concentración final de Ach (concentración que da como resultado un aumento de dos veces la resistencia pulmonar (R_1))

R_0 = Valor de referencia de R_L

ES 2 364 450 T3

R_1 = valor de RL después de C_1

R^2 = valor de RL después de C_2

5 El análisis estadístico de los datos se realizó mediante un análisis de varianza unidireccional seguido de análisis *post-hoc* mediante la prueba de Bonferroni/Dunn. Se consideró significativo un valor de $P < 0,05$.

Se ajustaron las curvas de dosis-respuesta con una ecuación logística de cuatro parámetros utilizando GraphPad Prism, versión 3.00 para Windows (GraphPad Software, San Diego, California).

10

$$Y = \text{Min} + (\text{Max} - \text{Min}) / (1 + 10 \wedge ((\log \text{ED}_{50} - X) * \text{pendiente})),$$

15 donde X es el logaritmo de la dosis, Y es la respuesta (PD_2) e Y empieza en Min y se acerca asintóticamente a Max con una forma sigmoidal.

Se descubrió que los compuestos representativos de la invención tienen una actividad broncoprotectora significativa en los puntos de tiempo que sobrepasan las 24 horas después de la dosis.

20 Los ejemplos sintéticos siguientes se ofrecen para ilustrar la invención.

Ejemplos

25 *General:* A menos que se indique lo contrario, los reactivos, material de partida y disolventes fueron adquiridos de proveedores comerciales, por ejemplo, Sigma-Aldrich (St. Louis, MO), JT Baker (Phillipsburg, Nueva Jersey), y Honeywell Burdick y Jackson (Muskegon, MI), y se utilizaron sin más purificación, las reacciones se llevaron a cabo en atmósfera de nitrógeno, las mezclas de reacción se controlaron por cromatografía en capa fina (TLC de sílice), cromatografía líquida de alto rendimiento analítica (HPLC anal.), o espectrometría de masas, las mezclas de reacción se purificaron normalmente por cromatografía en columna flash sobre gel de sílice o por HPLC preparativa
30 utilizando el protocolo general que se describe a continuación, las muestras de RMN se disolvieron en disolvente deuterado (CD_3OD , CDCl_3 , o $\text{DMSO}-d_6$), y los espectros se adquirieron con un instrumento Varian Gemini 2000 (300 MHz) bajo los parámetros estándares y se realizó la identificación espectrométrica de masas mediante un método de ionización por electrospray (ESMS) con un instrumento Perkin Elmer (PE Sciex AP1150 EX).

35 Ejemplo 1

Síntesis de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

40 a. *Preparación de hidrocloreto de 4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamina*

Se calentó una mezcla vigorosamente agitada de hidruro de sodio (dispersión al 60% en aceite mineral, 11,32 g, 0,28 mol) en dimetilsulfóxido (400 ml) a 45°C durante 1 h. A esta mezcla se añadió 2-amino-2-metil-1-propanol limpio (25,3 g, 1 equiv). La mezcla de reacción se calentó a 75°C durante 1 hora y después se enfrió a 20°C en un
45 baño de hielo. Se añadió 1-fluoro-4-nitrobenceno (40 g, 1 equiv.) lentamente, manteniendo la temperatura por debajo de 30°C, y la solución resultante de color rojo oscuro se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se paró con agua (1000 ml), se extrajo con diclorometano (500 ml), y la capa orgánica se lavó (1:1 de cloruro de sodio acuoso saturado:agua, 1000 ml). El producto se precipitó por adición de 3M de ácido clorhídrico (400 ml) a la capa orgánica. El sólido naranja resultante se filtró y se lavó con diclorometano hasta que el filtrado quedó incoloro.

50

El material sólido fue trasladado de inmediato a un matraz de hidrogenación. Se añadió paladio (10% p/p en carbono, agua 50% p/p), seguido de metanol (500 ml). La suspensión se agitó vigorosamente bajo 3 atmósferas de gas de hidrógeno durante 16 h. El catalizador se filtró, se eliminó el disolvente a presión reducida, y el sólido resultante se secó por destilación aceotrópica con tolueno (3 x 150 ml) para obtener el intermediario del título como un sólido
55 blanco (40 g, 0,18 mol, 65%).

b. *Preparación de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-(*tert*-butil-dimetil-silanilo)-etil]-8-benciloxi-1H-quinolin-2-ona*

60 Se agitó una mezcla de producto de la etapa a (23,2 g, 1,1 equiv.), 8-benciloxi-5-[(R)-2-[2-(4-bromo-fenil)-etilamino]-1-(*tert*-butil-dimetil-silanilo)-etil]-1H-quinolin-2-ona (66,0 g, 0,1 mol), y *tert*-butóxido de sodio (54,0 g, 5,5 equiv.) en tolueno (600 ml) a 90°C hasta que se obtuvo una solución homogénea. Se añadió paladio tris(dibencilidenoacetona) (1,4 g, 0,015 equiv), seguido de rac-2, 2'-bis(difenilfosfina)-1,1-binaftilo (2,87 g, 0,045 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a 90°C durante 3 horas y luego se dejó enfriar. La solución se lavó con agua (100 ml),
65 1:1 de cloruro de sodio acuoso saturado:agua (100 ml), luego se secó sobre sulfato de sodio. El disolvente se eliminó a presión reducida para dar el intermediario del título como un sólido marrón oscuro (40 g crudo), que se utilizó sin purificación adicional.

ES 2 364 450 T3

c. Preparación de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-benciloxi-1H-quinolin-2-ona

El producto de la etapa anterior fue tratado con trihidrofluoruro de trietilamina (36 g) en 2-propanol (500 ml)/etanol (100 ml) a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla se concentró a presión reducida a un tercio de su volumen original. Se añadió 1M de hidróxido de sodio acuoso (500 ml), seguido de acetonitrilo (500 ml) y acetato de isopropilo (500 ml). La capa acuosa se retiró y la fase orgánica se lavó con 1:1 de cloruro de sodio acuoso saturado:agua (400 ml) y después cloruro de sodio acuoso saturado (400 ml). Los compuestos orgánicos se secaron sobre sulfato sódico y se eliminó el disolvente al vacío para dar el intermediario del título (50 g de crudo) como un sólido marrón, que se utilizó sin purificación adicional.

d. Síntesis de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

Se añadió hidróxido de paladio (10 g, 20% p/p en carbono, agua 50% p/p), al producto de la reacción anterior, seguido de metanol (500 ml). La suspensión se agitó vigorosamente bajo una atmósfera de gas de hidrógeno durante 8 h. El catalizador se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (40 g), que se purificó por HPLC de fase inversa y se aisló como su sal de trifluoroacetato por liofilización. ¹H RMN (300 MHz, DMSO *d*₆): 10,4 (s, 1H), 9,3 (br s, 1H), 8,7 (br s, 1H), 8,15 (m, 2H), 7,8 (br s, 1H), 7,03 (d, 1H, J = 8,2), 6,76-7,01 (m, 10H), 6,42 (d, 1H, J = 9,6), 6,1 (br s, 1H), 5,33 (d, 1H, J = 9,1), 3,8 (s, 2H), 2,7-3,1 (m, 6H), 1,21 (s, 6H); *m/z*: [M+H⁺] calculado para C₂₉H₃₄N₄O₄, 503,3; hallado, 503,5.

Ejemplos 2-8

Síntesis de los compuestos 2-8

Utilizando procedimientos similares a los descritos en el Ejemplo 1, excepto sustituyendo el 2-amino-2-metil-1-propanol con el alcohol apropiado en la etapa a, se prepararon las sales de trifluoroacetato de los compuestos 2-8.

Compuesto 2: 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-etoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona (*m/z*): [M+H⁺] calculado para C₂₇H₃₁N₄O₄, 475,2; hallado, 475,3.

Compuesto 3: 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(3-amino-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona: (*m/z*): [M+H⁺] calculado para C₂₈H₃₃N₄O₄, 489,2; hallado, 489,5.

Compuesto 4: 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(4-amino-butoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona: (*m/z*): [M+H⁺] calculado para C₂₉H₃₅N₄O₄, 503,3; hallado, 503,5.

Compuesto 5: 5-{(R)-2-[2-(4-{4-[2-(2-amino-etoxi)-etoxi]-fenilamino}-fenil)-etilamino]-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona: (*m/z*): [M+H⁺] calculado para C₂₉H₃₅N₄O₅, 519,3; hallado, 519,5.

Compuesto 6: 8-hidroxi-5-[(R)-1-hidroxi-2-(2-{4-[4-(2-morfolin-4-il-etoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-etil]-1H-quinolin-2-ona: (*m/z*): [M+H⁺] calculado para C₃₁H₃₇N₄O₅, 545,3; hallado, 545,6.

Compuesto 7: 8-hidroxi-5-[(R)-1-hidroxi-2-(2-{4-[4-(2-piperazin-1-il-etoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-etil]-1H-quinolin-2-ona: (*m/z*): [M+H⁺] calculado para C₃₁H₃₈N₅O₄, 544,7; hallado, 544,7.

Compuesto 8: 8-hidroxi-5-[(R)-1-hidroxi-2-(2-{4-[4-piridin-2-il-metoxi]-fenilamino]-fenil}-etilamino)-etil]-1H-quinolin-2-ona: (*m/z*): [M+H⁺] calculado para C₃₁H₃₁N₄O₄, 523,1; hallado, 523,2.

Ejemplo 9

Síntesis de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-3-trifluorometil-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

Utilizando procedimientos similares a los descritos en el Ejemplo 1, excepto sustituyendo el 1-fluoro-4-nitrobenceno con 1-fluoro-4-nitro-trifluorometilbenceno en la etapa a, se preparó el compuesto del título, (*m/z*): [M+H⁺] calculado para C₃₀H₃₄F₃N₄O₄, 571,3; hallado, 571,3.

ES 2 364 450 T3

Ejemplo 10

Síntesis de 8-hidroxi-5-[(R)-1-hidroxi-2-[2-(4-{4-[2-(4-metanosulfonyl-piperazin-1-il)-etoxy]-fenilamino}-fenil)-etilamino]-etil]-1H-quinolin-2-ona

a. *Preparación de 8-benziloxi-5-[(R)-1-(terc-butil-dimetil-silaniloxy)-2-(2-{4-[4-(2-piperazin-1-il)-etoxy]-fenilamino}-fenil)-etilamino]-etil]-1H-quinolin-2-ona*

Utilizando procedimientos similares a los descritos en el Ejemplo 1, etapas a y b, excepto sustituyendo el 2-amino-2-metil-1-propanol con N-(2-hidroxietil)piperacina en la etapa a, se preparó el compuesto del título.

b. *Preparación de 8-benziloxi-5-[(R)-1-(terc-butil-dimetil-silaniloxy)-2-[2-(4-{4-[2-(4-metanosulfonyl-piperazin-1-il)-etoxy]-fenilamino}-fenil)-etilamino]-etil]-1H-quinolin-2-ona*

El producto de la etapa a (100 mg) se trató con cloruro de metanosulfonyl (15,3 mg, 1 equiv.) en una mezcla de diisopropiletilamina (0,14 ml) y tetrahidrofurano (2 ml) a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se evaporó para obtener el intermediario del título.

c. *Síntesis de 8-hidroxi-5-[(R)-1-hidroxi-2-[2-(4-{4-[2-(4-metanosulfonyl-piperazin-1-il)-etoxy]-fenilamino}-fenil)-etilamino]-etil]-1H-quinolin-2-ona*

Utilizando procedimientos similares a los descritos en el Ejemplo 1, etapas c y d, se transformó el intermediario del paso b en el compuesto del título, (m/z): [M+H⁺] calculado para C₃₂H₄₀N₅O₆S, 622,3, hallado, 622,5.

Ejemplo 11

Síntesis de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-etil)-fenilamino]-fenil)-etilamino]-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

a. *Preparación de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-etil)-fenilamino]-fenil)-etilamino]-1-(terc-butil-dimetil-silaniloxy)-etil]-8-benziloxi-1H-quinolin-2-ona*

Se añadió tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (0,028 g, 0,031 mmol), seguido de rac-2,2'-bis(difenilfosfina)-1,1'-binaptilo (0,057 g, 0,092 mmol) a una solución de 2-(4-aminofenil)etilamina (0,100 g, 0,740 mmol), hidrocloreto de 8-benziloxi-5-[(R)-2-[2-(4-bromo-fenil)-etilamino]-1-(terc-butil-dimetil-silaniloxy)-etil]-1H-quinolin-2-ona (0,393 g, 0,612 mmol) y terc-butoxido de sodio (0,265 g, 2,75 mmol) en tolueno (20 ml) a temperatura ambiente. La mezcla de resultante se calentó a 90°C durante 2 horas y luego se dejó enfriar. La solución se lavó con agua (100 ml), 1:1 de cloruro de sodio acuoso saturado:agua (100 ml), luego se secó sobre sulfato de magnesio. El disolvente se eliminó a presión reducida para dar el intermediario del título como un sólido marrón oscuro (0,473 g), que se utilizó sin purificación adicional.

b. *Preparación de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-etil)-fenilamino]-fenil)-etilamino]-1-hidroxi-etil]-8-benziloxi-1H-quinolin-2-ona*

El producto de la etapa anterior (0,473 g, 0,714 mmol) se trató con trihidrofluoruro de trietilamina (0,173 g, 1,07 mmol) en tetrahidrofurano (20 ml) a temperatura ambiente durante 16 h. La mezcla se diluyó con diclorometano (100 ml) y agua (100 ml). La mezcla resultante se agitó vigorosamente y se hizo básica (pH > 10) con la adición de 1N de hidróxido de sodio acuoso. La fase orgánica se lavó con agua (200 ml) y luego se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado (200 ml). Los extractos orgánicos se secaron sobre sulfato de magnesio y se eliminó el disolvente a presión reducida para dar el intermediario del título (0,500 g) como un sólido marrón, que se utilizó sin purificación adicional.

c. *Síntesis de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-etil)-fenilamino]-fenil)-etilamino]-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona*

Se añadió paladio (0,100 g, 10% en peso sobre carbón activo) a una solución del producto de la etapa anterior en 1:1 de metanol:diclorometano (20 ml). La suspensión se agitó vigorosamente bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 16 h. La mezcla de reacción se filtró por celita y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título, que se purificó por HPLC de fase inversa y se aisló como su sal de trifluoroacetato por liofilización. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆): δ 10,4 (d, 2H), 8,6 (brs, 2H), 8,0 (d, 2H), 7,7 (brs, 3H), 7,0 (d, 1H), 6,96 (d, 4H), 6,84-6,88 (m, 4H), 6,45 (d, 1H), 6,08 (s, 1 H), 5,19 (d, 1H), 3,0-3,2 (m, 2H), 2,8 (br s, 2H), 2,72-2,75 (m, 2H), 2,62 (m, 2H), m/z: [M+H⁺] calculado para C₂₇H₃₀N₄O₃ 458,56; hallado, 459,4.

Ejemplo 12

Síntesis de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-dimetilamino-etil)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

a. Preparación de dimetil-[2-(4-nitro-fenil)-etil]-amina

Se añadió hidrocloreuro de dimetilamina (0,390 g, 4,78 mmol) a una solución conteniendo bromuro de 4-nitro-fenetilo (1,0 g, 4,35 mmol) y *N,N*-diisopropiletiamina (1,69 g, 13,05 mmol) en dimetilformamida anhidra (20 ml). La mezcla de reacción se calentó a 60°C durante 5 horas y luego se dejó enfriar. La solución se diluyó con 1:1 de agua:diclorometano y luego se añadió a un embudo de separación. Los compuestos orgánicos se recogieron y el producto se extrajo con 1N de cloruro de hidrógeno acuoso. Los compuestos orgánicos se eliminaron y la capa acuosa se hizo básica con 1N de hidróxido de sodio acuoso. El producto se extrajo con diclorometano (100 ml) y se lavó con cloruro de sodio acuoso saturado (200 ml). Los compuestos orgánicos se secaron sobre sulfato de magnesio y se eliminó el solvente a presión reducida para dar el intermediario del título (0,426 g crudo) como un aceite transparente, que se utilizó sin purificación adicional.

b. Preparación de hidrocloreuro de 4-(2-dimetilamino-etil)-fenilamina

Se añadió paladio (0,043 g, 10% en peso sobre carbón activo) a una solución del producto de la etapa anterior (0,430 g, 2,2 mmol) en metanol (20 ml). La suspensión se agitó vigorosamente bajo una atmósfera de hidrógeno durante 6 horas. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el intermediario del título (0,307 g crudo) que se utilizó sin purificación adicional.

c. Síntesis de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-dimetilamino-etil)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

Utilizando procedimientos similares a los descritos para el Ejemplo 11, excepto sustituyendo la 2-(4-aminofenil)etilamina del Ejemplo 11, etapa a, con el producto de la etapa anterior, se preparó la sal de trifluoroacetato del compuesto del título. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,4 (s, 2H), 9,8 (br s, 1H), 8,9 (br s, 1H), 8,7 (br s, 1H), 8,0 (d, 2H), 6,8-7,2 (m, 10H), 6,4 (d, 1H), 6,2 (br s, 1H), 5,2 (d, 1H), 2,8-3,1 (m, 6H), 2,3-2,7 (m, 8H); *m/z*: [M+H⁺] calculado para C₂₉H₃₄N₄O₃, 486,61; hallado, 487,5.

Ejemplo 13

Síntesis de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propil)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

a. Preparación de 1,1-dimetil-2-(4-nitro-fenil)-etilamina

Se disolvió hidrocloreuro de α,α-dimetilfenetilamina (20 g, 108 mmol) en ácido sulfúrico concentrado (40 ml). La solución se enfrió a -10°C. El ácido nítrico (31 ml, 90%) se añadió gota a gota durante un periodo de 30 minutos, manteniendo una temperatura de reacción por debajo de -5°C. La solución se agitó durante otros 45 minutos y luego se vertió sobre hielo y se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. El producto se recogió por filtración (13,7 g). Se añadió hidróxido de sodio acuoso (1N) al filtrado y el compuesto del título se aisló como un aceite transparente.

b. Preparación de 4-(2-amino-2-metil-propil)-fenilamina

Se añadió paladio (0,136 g, 10% en peso sobre carbón activo) a una solución del producto de la etapa anterior (1,36 g, 7,0 mmol) en metanol (20 ml). La suspensión se agitó vigorosamente bajo 1 atmósfera de hidrógeno durante 6 h. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el intermediario del título (1,04 g crudo) que se utilizó sin purificación adicional.

c. Síntesis de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propil)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

Utilizando procedimientos similares a los descritos para el Ejemplo 11, excepto sustituyendo la 2-(4-aminofenil)etilamina del Ejemplo 11, etapa a, con el producto de la etapa anterior, se preparó la sal de trifluoroacetato del compuesto del título. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 10,4 (d, 2H), 8,8 (brs, 1H), 8,65 (brs, 1H), 8,0 (d, 2H), 7,7 (s, 3H), 6,8-7,0 (m, 8H), 6,4 (d, 1H), 6,1 (br s, 1H), 5,2 (d, 1H), 3 (br s, 4H), 2,7 (m, 2H), 2,6 (s, 2H), 1,0 (s, 6H); *m/z*: [M+H⁺] calculado para C₂₉H₃₄N₄O₃, 486,61; hallado, 487,5.

ES 2 364 450 T3

Ejemplo 14

Síntesis de N-[5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil]-etilamino)-1-hidroxi-etil]-2-hidroxi-fenil]formamida

a. Preparación de [4-(2-amino-2-metil-propoxi-fenil)-[4-(2-aminoetil)-fenil]-amina

Se agitó una mezcla de 4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamina (1,0 g, 5,5 mmol) (la base libre del intermediario del Ejemplo 1, parte a), 4-bromofenetilamina (1,1 g, 1 equiv.), y *tert*-butóxido de sodio (1,9 g, 3,5 equiv.) en tolueno (30 ml) a 90°C hasta obtener una solución homogénea. Se añadió tris(dibencildenoacetona)dipaladio (0) (252 mg, 0,05 equiv.), seguido de rac-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (516 mg, 0,015 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a 90°C durante 16 horas y luego se dejó enfriar. La solución se diluyó con acetato de etilo (100 ml), se lavó (1:1 de cloruro de sodio acuoso saturado:agua (100 ml), luego se extrajo en 6M de ácido clorhídrico (100 ml). La capa acuosa se lavó con acetato de etilo (2 x 100 ml), luego se diluyó con acetato de isopropilo (100 ml). La mezcla se enfrió a 0°C y se neutralizó con hidróxido de sodio (13 g en 20 ml de agua). La capa acuosa se retiró y se lavó la fase orgánica (1:1 de cloruro de sodio acuoso saturado:agua, 100 ml), se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó para proporcionar el intermediario del título (1,3 g crudo).

b. Preparación de N-[5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-?ropoxi)-fenilamino]-fenil]-etilamino)-1-(*tert*-butil-dimetil-silanilo)-etil]-2-benciloxi-fenil]-formamida

Se calentó una mezcla de N-[5-((R)-2-bromo-1-(*tert*-butil-dimetil-silanilo)-etil)-2-benciloxi-fenil]-formamida (2,0 g, 4,35 mmol), el producto de la etapa anterior (1,3 g, 1 equiv.), carbonato potásico (2,4 g, 4 equiv.) y yoduro de sodio (718 mg, 1,1 equiv.) en dimetilsulfóxido (8 ml) a 140°C durante 20 min. La mezcla se dejó enfriar, se diluyó con agua (20 ml) y se extrajo con acetato de etilo (2 x 20 ml). Los compuestos orgánicos se lavaron con cloruro de sodio acuoso saturado (20 ml), se secaron sobre sulfato de sodio y se evaporaron. El residuo se purificó por HPLC en fase inversa para proporcionar el intermediario del título (500 mg, 0,73 mmol, 17% de rendimiento).

c. Síntesis de N-[5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil]-etilamino)-1-hidroxi-etil]-2-hidroxi-fenil]formamida

Utilizando procedimientos similares a los descritos en el Ejemplo 1, etapas c y d, se transformó el intermediario del paso b en el compuesto del título. (m/z): [M+H⁺] calculado para C₂₇H₃₅N₄O₄, 479,3; hallado, 479,3.

Ejemplo 15

Síntesis de 5-[(R)-2-(2-{4-[3-(2-amino-etil)-4-metoxi-fenilamino]-fenil]-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

a. Preparación de 5-[(R)-2-[2-(4-amino-fenil)-etilamino)-1-(*tert*-butil-dimetil-silanilo)-etil]-8-benciloxi-1H-quinolin-2-ona

Se calentó una mezcla de 5-(2-bromo-1-(*tert*-butil-dimetil-silanilo)-etil)-8-benciloxi-1H-quinolin-2-ona (5,0 g, 1,0 equiv.) y 2-(4-aminofenil)etilamina (2,8 g, 2,0 equiv.) en dimetilsulfóxido (10 ml) a 100°C durante 12 h. La mezcla de reacción se enfrió a 20°C, y el aceite rojo resultante se diluyó con acetato de etilo (200 ml) y se extrajo con dos porciones de agua (200 ml). La capa orgánica se lavó con dos porciones de (1:1 de ácido acético acuoso al 10% y cloruro de sodio acuoso saturado (200 ml). La capa orgánica se basificó extrayendo cuidadosamente con dos porciones de bicarbonato sódico saturado (200 ml), seguido de cloruro de sodio saturado (200 ml). La solución orgánica resultante se trató con sulfato de sodio anhidro y el disolvente se eliminó a presión reducida para dar el intermediario del título (5,1 g) que se utilizó sin purificación adicional.

b. Preparación de 5-[(R)-2-(2-{4-[3-(2-amino-etil)-4-metoxi-fenilamino]fenil]-etilamino)-1-(*tert*-butil-dimetil-silanilo)-etil]-8-benciloxi-1H-quinolin-2-ona

Se agitó una mezcla del producto de la etapa anterior (0,500 g, 1,0 equiv.), hidrobromuro de 5-bromo-2-metoxifenetilamina (0,343 g, 1,2 equiv.), y *tert*-butóxido de sodio (0,397 g, 4,5 equiv.) en tolueno (10 ml) a 90°C hasta obtener una solución homogénea. Se añadió paladio tris(dibencildenoacetona) (0,0042 g, 0,05 equiv.), seguido de rac-2,2'-bis(difenilfosfino)-1,1'-binaftilo (0,0086 g, 0,15 equiv.). La mezcla de reacción se agitó a 90°C durante 5 horas, luego se dejó enfriar a 20°C. La solución se diluyó con diclorometano (100 ml) y se lavó con agua (2 x 100 ml). La solución orgánica se secó sobre sulfato de sodio. La mezcla de reacción se filtró y el disolvente se eliminó bajo presión reducida para dar el intermediario del título (1,0 g) como un sólido marrón oscuro, que se utilizó sin purificación adicional.

c. Preparación de 5-[(R)-2-(2-{4-[3-(2-amino-etil)-4-metoxi-fenilamino]-fenil]-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-benciloxi-1H-quinolin-2-ona

El sólido crudo (1,0 g) de la etapa anterior se trató con trihidrofluoruro de trietilamina (0,70 ml) en tetrahidrofurano (10 ml) a temperatura ambiente durante 5 h. La mezcla se diluyó con diclorometano (100 ml) y se extrajo con 0,1 M

ES 2 364 450 T3

de NaOH (2 x 100 ml), seguido de cloruro de sodio acuoso saturado (100 ml). La capa orgánica se trató con sulfato de sodio anhidro y el disolvente se secó a presión reducida. El sólido resultante se purificó por HPLC de fase inversa y se aisló como su sal de trifluoroacetato por liofilización para dar el intermediario del título (200 mg).

5 d. Síntesis de 5-[(R)-2-(2-{4-[3-(2-amino-etil)-4-metoxi-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

Se añadió paladio (10 mg, 10% p/p en carbono), seguido de metanol (5 ml) al intermediario de la etapa anterior (50 mg) y la mezcla se agitó vigorosamente en una atmósfera de hidrógeno durante 5 horas. La mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (42,0 mg), que se purificó por HPLC de fase inversa y se aisló como su sal de trifluoroacetato por liofilización. (m/z): [M+H⁺] calculado para C₂₈H₃₂N₄O₄, 489,3; hallado, 489,5.

15 Ejemplo 16

Síntesis de N-{5-[(R)-2-(2-{4-[3-(2-amino-etil)-4-metoxi-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-2-hidroxi-fenil}formamida

Utilizando procedimientos similares a los descritos para el Ejemplo 15, excepto sustituyendo la 5-(2-bromo-1-(terc-butil-dimetil-silanilo)-etil)-8-benciloxi-1H-quinolin-2-ona con N-[5-((R)-2-bromo-1-(terc-butil-dimetil-silanilo)-etil)-2-benciloxi-fenil]-formamida, se preparó el compuesto del título, (m/z): [M+H⁺] calculado para C₂₆H₃₂N₄O₄, 465,3; hallado, 465,3.

25 Ejemplo 17

Sales de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

30 a. Preparación de la base libre de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

Se añadió una solución (50 ml) de bicarbonato amónico acuoso (10%) en una porción a una solución del producto del ejemplo 1, trifluoroacetato de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona, (1,80 g, 2,1 mmol) en etanol (6 ml). La solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. El sólido resultante se filtró y se secó bajo presión reducida para dar el compuesto del título (0,84 g, 1,67 mmol, 80%) como un sólido amarillo.

40 b. Síntesis de sulfato de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

La base libre producida como en el paso anterior (5,85 g, 11,6 mmol) se disolvió en acetonitrilo:agua (200 ml:60 ml) a 90°C y se filtró para eliminar las partículas sólidas restantes. El filtrado se recalentó a 90°C y se añadió una solución de ácido sulfúrico concentrado (2 ml) en acetonitrilo:agua (18 ml:2 ml). La solución se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 2 h, luego se enfrió en un baño de hielo/agua a 10°C. El sólido se filtró y se secó bajo presión reducida para obtener la sal del título cruda (5,70 g, 82%). El material (5,70 g) se volvió a disolver en acetonitrilo:agua (120 ml:410 ml) a 90°C, y de nuevo se dejó enfriar a temperatura ambiente durante 2 h. La suspensión se enfrió en un baño de hielo/agua a 10°C, el sólido se filtró y se secó bajo presión reducida para dar un hidrato de la sal del título (4,40 g, 63% del total) como un polvo blancuzco. En la Fig. 1 se muestra el patrón de difracción de polvos de rayos X (XRPD) del producto. 1. La huella de la calorimetría diferencial de barrido del producto se muestra en la Fig. 2.

55 c. Síntesis de napadisilato de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

A una solución de la base libre producida como en la parte a (23 mg, 0,046 mmol) en isopropanol:agua (1,8 ml:0,2 ml) a 60°C, se añadió tetrahidrato de ácido 1,5-naftaleno-disulfónico (33 mg, 2 equiv.), produciendo un precipitado blanco. La temperatura se elevó a 70°C y 1 ml más de agua para proporcionar una solución transparente. Después de enfriar a temperatura ambiente, la suspensión se filtró y se secó para obtener la sal del título (25 mg, 63%) como un polvo blanco. El patrón de XRPD del producto se muestra en la Fig. 3. La huella de la calorimetría diferencial de barrido del producto se muestra en la Fig. 4.

65 d. Síntesis de oxalato de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona

A una solución de la base libre producida como en la parte a (100 mg, 0,2 mmol) en isopropanol:agua (3,6 ml:0,4 ml) a 60°C, se añadió ácido oxálico (50 mg, 2 equiv.), produciendo un precipitado blanco. La temperatura se elevó a 70°C y se añadió 1 ml más de agua para proporcionar una solución transparente. Después de enfriar a temperatura ambiente,

la suspensión se filtró y se secó para obtener la sal del título (82 mg, 65%) como un polvo blancuzco. El patrón de XRPD del producto se muestra en la Fig. 5. La huella de la calorimetría diferencial de barrido del producto se muestra en la Fig. 6.

5 e. *Síntesis de 4-metil-cinamato de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona*

Se disolvió 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona (0,21 g) en una mezcla de tetrahidrofurano (1,2 ml) y agua (1,2 ml). Se añadió ácido 4-metil-cinámico (0,07 g, predominantemente *trans*) a la solución agitada a temperatura ambiente y se disolvió. Después de aproximadamente 10 min., se produjo la cristalización. La suspensión se agitó durante la noche y se filtró. La torta se lavó con solución acuosa de tetrahidrofurano (1:1 de THF:agua, 2 x 0,4 ml, 1 x 0,2 ml) para dar el compuesto del título que se secó durante la noche al vacío a 45°C (rendimiento: 0,207 g). ¹H RMN (400 MHz, DMSO-*d*₆; DMSO-*d*₆ como referencia en δ (ppm) 2,5). 8 (ppm): 1,22 (6H) s, 2,30 (3H) s, 2,64 (2H) t J = 6,6 Hz, 2,72-2,86 (4H) m, 3,74 (2H) s, 5,09 (1H) m, 6,43 (1H) d J = 15,9 Hz, 6,49 (1H) d J = 10,0 Hz; 6,86 (4H) m, 6,93-7,03 (5H) m, 7,06 (1H) d J = 7,8 Hz, 7,17 (2H) d J = 7,8 Hz, 7,34 (1H) d J = 15,9 Hz, 7,45 (2H) d J = 7,8 Hz, 7,75 (1H) s, 8,19 (1H) d J = 10,0 Hz. El producto cristalino se caracterizó por XRPD y DSC.

20 f. *Síntesis de 4-metil-cinamato de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona*

Se disolvió 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona (17,77 g) en una mezcla de tetrahidrofurano (89 ml) y agua (89 ml). Se pesó el ácido 4-metil-cinámico (6,02 g, predominantemente *trans*) y se añadió alrededor de una cuarta parte a la solución de base libre seguido por cristales de siembra, obtenidos por el procedimiento de la parte e. La mezcla se agitó y se añadió el resto del ácido en porciones en las siguientes 1,5 h. La suspensión se agitó durante 4 horas y luego la mezcla se filtró. La torta se lavó con solución acuosa de tetrahidrofurano (1:1 de THF:agua, 36 ml) y luego con tetrahidrofurano (2 x 18 ml) para dar el compuesto del título que se secó durante la noche al vacío a 40-50°C (rendimiento: 16,916 g). ¹H RMN (400 MHz, CD₃OD; TMS como referencia en δ (ppm) 0) δ (ppm): 1,39 (6H) s, 2,32 (3H) s, 2,79 (2H) t J = 7,2 Hz, 2,92-3,03 (4H) m, 3,87 (2H) s, 5,25 (1H) d de d J = 3,9 y 8,8 Hz; 6,44 (1H) d J = 15,9 Hz, 6,63 (1H) d J = 9,8 Hz, 6,86-6,93 (4H) m, 6,96 (1H) d J = 8,3 Hz, 6,99-7,05 (4H) m, 7,15 (2H) d J = 7,8 Hz, 7,19 (1H) d J = 8,3 Hz, 7,36 (1H) d J = 15,9 Hz, 7,38 (2H) d J = 7,6 Hz, 8,34 (1H) d J = 9,8 Hz. El producto cristalino se caracterizó por XRPD y DSC.

35 g. *Métodos Analíticos*

Los patrones de difracción de polvos de rayos X de las Figs. 1, 3, y 5 se obtuvieron con un difractómetro Rigaku utilizando radiación de Cu Ka (30,0 kV, 15,0 mA). El análisis se realizó con el goniómetro funcionando en modo de escaneo continuo de 3° por minuto con un tamaño de paso de 0,03° en un rango de 2 a 45°. Las muestras se prepararon en soportes para muestras de cuarzo como una capa fina de material en polvo. El instrumento fue calibrado con un estándar de metal de silicio.

Las huellas de la calorimetría diferencial de barrido de las Figs. 2, 4 y 6 se obtuvieron con un instrumento TA modelo DSCQ10. Las muestras se colocaron en recipientes de aluminio sellados para el análisis con un recipiente vacío que sirvió como referencia. Las muestras se equilibraron a 30°C y se calentaron a 5°C por minuto a una temperatura de 300°C. El instrumento fue calibrado con un estándar de indio.

Referencias citadas en la descripción

50 Esta lista de referencias citadas por el solicitante se ha elaborado únicamente como ayuda para el lector. No forma parte del documento de Patente Europea. Aunque se ha prestado mucha atención en la compilación de las mismas no se puede evitar incurrir en errores u omisiones, declinando la OEP toda responsabilidad a este respecto.

Documentos de patente citados en la descripción

- | | | |
|----|--------------------------|------------------------|
| 55 | • WO 2004089892 A [0002] | • US 5239993 A [0060] |
| | • US 2004167167 A [0002] | • US 5715810 A [0060] |
| 60 | • US 2003229058 A [0002] | • US 5225183 A [0061] |
| | • WO 03042164 A [0002] | • EP 0717987 A2 [0061] |
| | • US 2004224982 A [0002] | • WO 9222286 A [0061] |
| 65 | • WO 2004002939 A [0002] | • US 6006745 A [0062] |

ES 2 364 450 T3

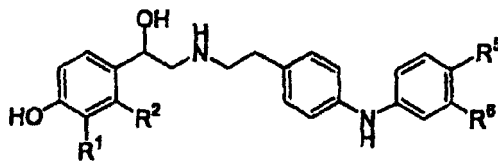
- WO 2003042160 A [0002]
- WO 0200622 A [0002]
- US 5872126 A [0025]
- WO 9930703 A [0025]
- US 5290815 A [0025]
- US 6653323 B2 [0040]
- US 5023252 A [0056]
- US 6123068 A [0058]
- US 5035237 A [0060]
- US 6378519 B [0060]
- US 4524769 A [0060]
- US 4353365 A [0060]
- US 5415162 A [0060]
- US 6143227 A [0062]
- WO 9953901 A [0063]
- WO 0061108 A [0063]
- US 6268533 B [0063]
- US 5983956 A [0063]
- US 5874063 A [0063]
- US 6221398 B [0063]
- WO 9955319 A [0063]
- WO 0030614 A [0063]
- WO 9916766 A [0074]
- WO 9947505 A [0074]
- US 2918408 A [0076]
- WO 0104118 A [0076]

Literatura no patente citada en la descripción

- T. W. **Greene**; G. M. **Wuts**. Protecting Groups in Organic Synthesis. *Wiley*, 1999 [0035]
- Remington: The Science and Practice of Pharmacy. *Lippincott Williams & Wilkins*, 2000 [0089]
- **Bradford** MM. *Analytical Biochemistry*, 1976, vol. 72, 248-54 [0115]
- **Cheng** Y; **Prusoff** WH. *Biochemical Pharmacology*, 1973, vol. 22, 23, 3099-108 [0116]
- **January** B *et al.* *British Journal of Pharmacology*, 1998, vol. 123 (4), 701-11 [0121]
- *Am. Thoracic Soc*, 2000 [0132]

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de la fórmula (II):



(II)

donde:

R¹ y R² tomados juntos son -NHC(=O)CH=CH-; y

R⁵ es seleccionado de -O-C₁₋₆alquilenilo-NR¹⁰R¹¹ y C₁₋₆alquilenilo-NR¹²R¹³ y R⁶ es hidrógeno, o

R⁵ es C₁₋₄alcoxi y R⁶ es-C₁₋₆alquilenilo-NR¹²R¹³,

donde cada uno de R¹⁰, R¹¹, R¹² y R¹³ es independientemente hidrógeno o alquilo C₁₋₄, o R¹⁰ y R¹¹, junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, forman un anillo piperazinilo, o una sal o solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Compuesto de la reivindicación 1 donde R⁵ es -O-C₁₋₆alquilenilo-NR¹⁰R¹¹ y R⁶ es hidrógeno.

3. Compuesto de la reivindicación 1 o la reivindicación 2, donde la estereoquímica en el carbono alquilénico que lleva el grupo hidroxilo es (R).

4. Compuesto de la reivindicación 1, que es seleccionado de:

5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona;

8-hidroxi-5-[(R)-1-hidroxi-2-(2-{4-[4-(2-piperazin-1-il-etoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-etil]-1*H*-quinolin-2-ona;

5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-etil)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona;

5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-dimetilamino-etil)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona;

5-[(R)-2-(2-{4-[3-(2-amino-etil)-4-metoxi-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona; y

sales, solvatos y estereoisómeros farmacéuticamente aceptables de los mismos.

5. Compuesto de la reivindicación 1, que es 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona o una sal, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. Compuesto de la reivindicación 5, que es sulfato de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona.

7. Compuesto de la reivindicación 5, que es napadisilato de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona.

8. Compuesto de la reivindicación 5, que es oxalato de 5-[(R)-2-(2-{4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil}-etilamino)-1-hidroxi-etil]-8-hidroxi-1*H*-quinolin-2-ona.

9. Combinación que comprende el compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, y uno o más agentes terapéuticos.

10. Combinación de la reivindicación 9, en el que el agente terapéutico es un corticoesteroide, un agente anticoli-
nético, o un inhibidor de PDE4.

11. Combinación según la reivindicación 9, que comprende un compuesto seleccionado de propionato de fluticasona, éster fluorometílico del ácido 6 α , 9 α -difluoro-11 α -hidroxi-16 α -metil-17 α -[(4-metil-1,3-tiazol-5-carbonil)oxi]-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 α -carbotiico y éster S-fluorometílico del ácido 6 α , 9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonil)oxi]-11 α -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 α -carbotiico.

12. Composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o una combinación de cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

13. Composición farmacéutica según la reivindicación 12, donde la composición es adecuada para la administración por inhalación.

14. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o una combinación según cualquiera de las reivindicaciones 9 a 11 para su uso en terapia.

15. Compuesto según la reivindicación 14, para su uso en el tratamiento de una enfermedad o condición médica en un mamífero asociada con la actividad del receptor adrenérgico β_2 .

16. Compuesto de la reivindicación 15 para su uso en el tratamiento de un mamífero que tenga una enfermedad o afección pulmonar.

17. Compuesto de la reivindicación 16 para su uso en el tratamiento de un mamífero que tenga asma o una enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

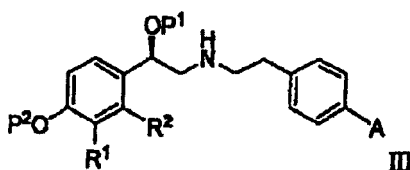
18. Compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 15 a 17 para su uso en terapia en forma de un medicamento adecuado para la administración por inhalación.

19. Compuesto según la reivindicación 14, para su uso en terapia en combinación con uno o más agentes terapéuticos para el tratamiento de un mamífero que tenga una enfermedad o afección asociada con la actividad del receptor adrenérgico β_2 .

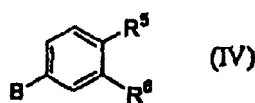
20. Proceso para preparar un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, el proceso comprendiendo:

(a) hacer reaccionar

(i) un compuesto de la fórmula (III):

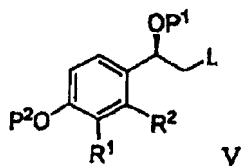


con un compuesto de la fórmula (IV):

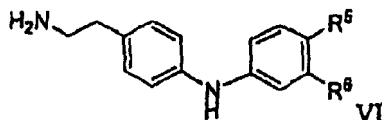


en presencia de un catalizador de metal de transición; o

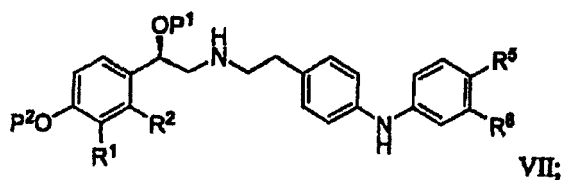
(ii) un compuesto de la fórmula (V):



con un compuesto de la fórmula (VI)



donde P¹ es un grupo protector de hidroxilo y P² es un grupo protector de hidroxilo; uno de A y B es un grupo saliente y el otro de A y B es -NH₂, L es un grupo saliente y R¹, R², R⁵ y R⁶ se definen como en la fórmula (II), para proporcionar un compuesto de la fórmula (VII);



y

- (b) eliminar los grupos protectores P¹ y P² para proporcionar un compuesto de la fórmula (II), o una sal o estereoisómero del mismo.

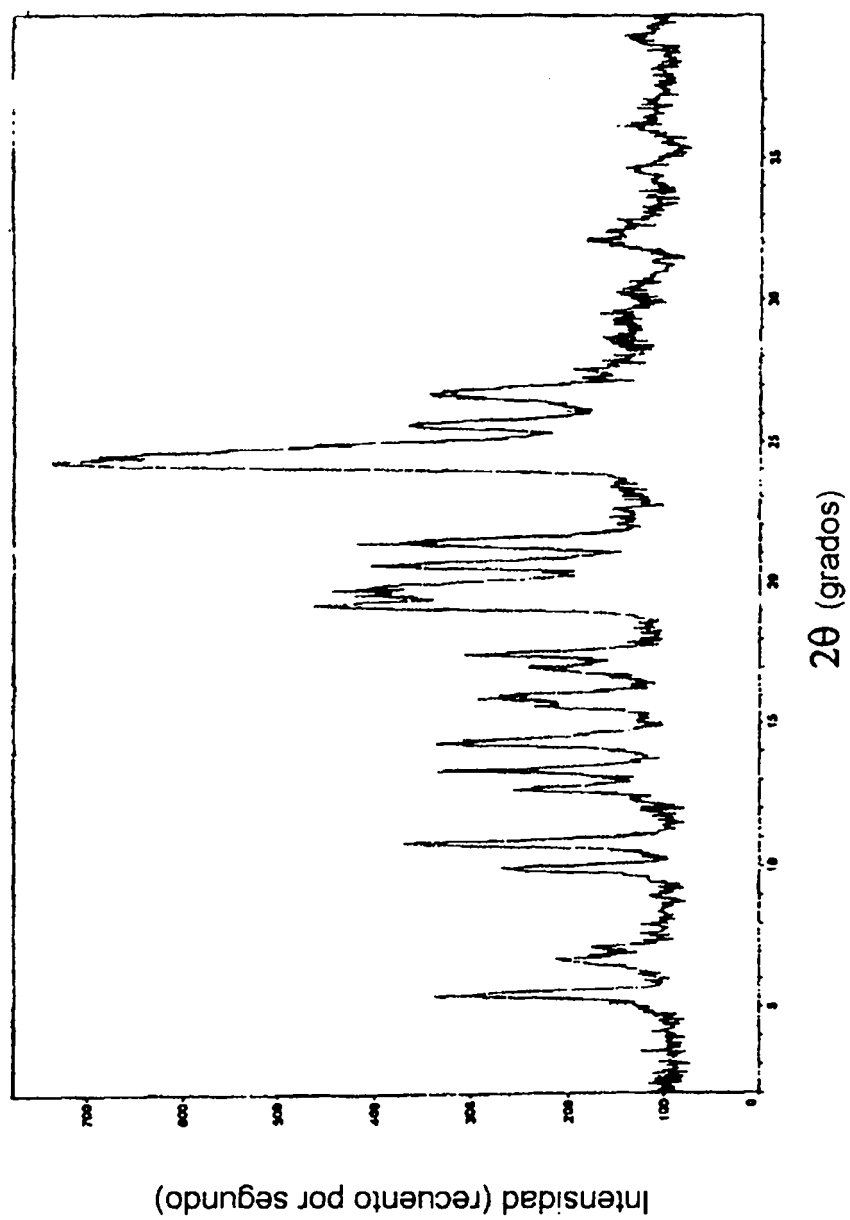


FIG. 1

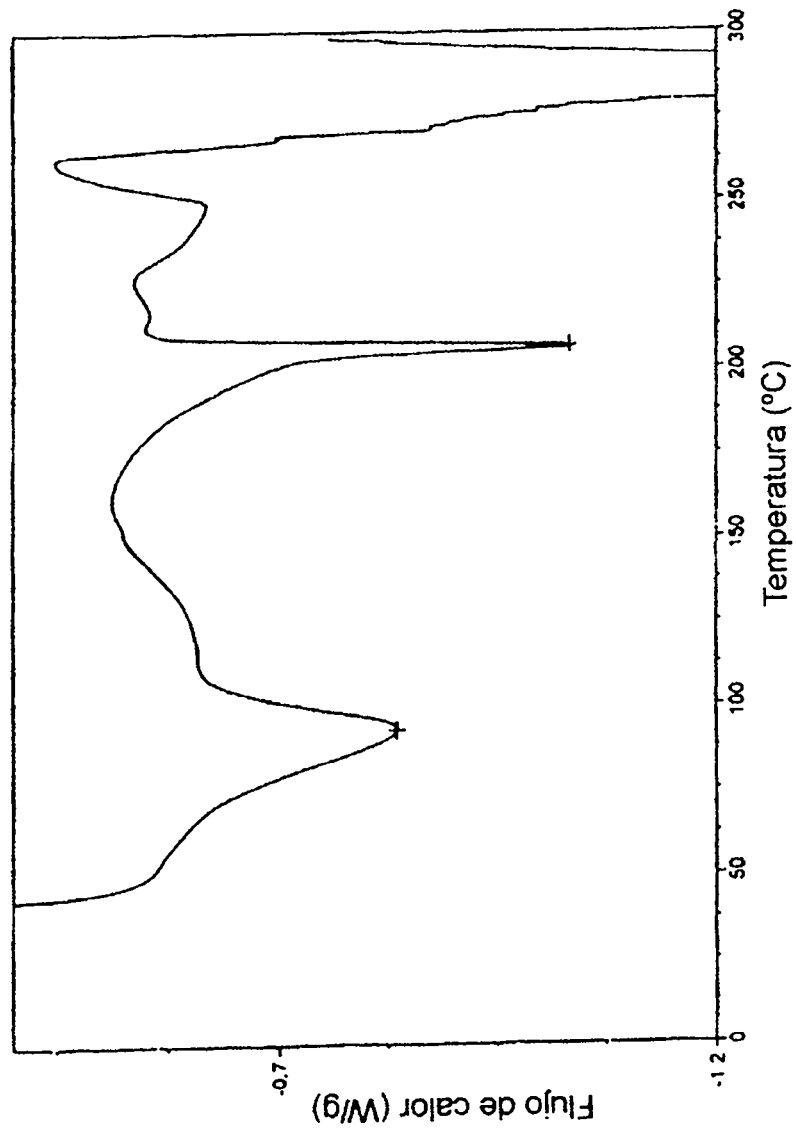


FIG. 2

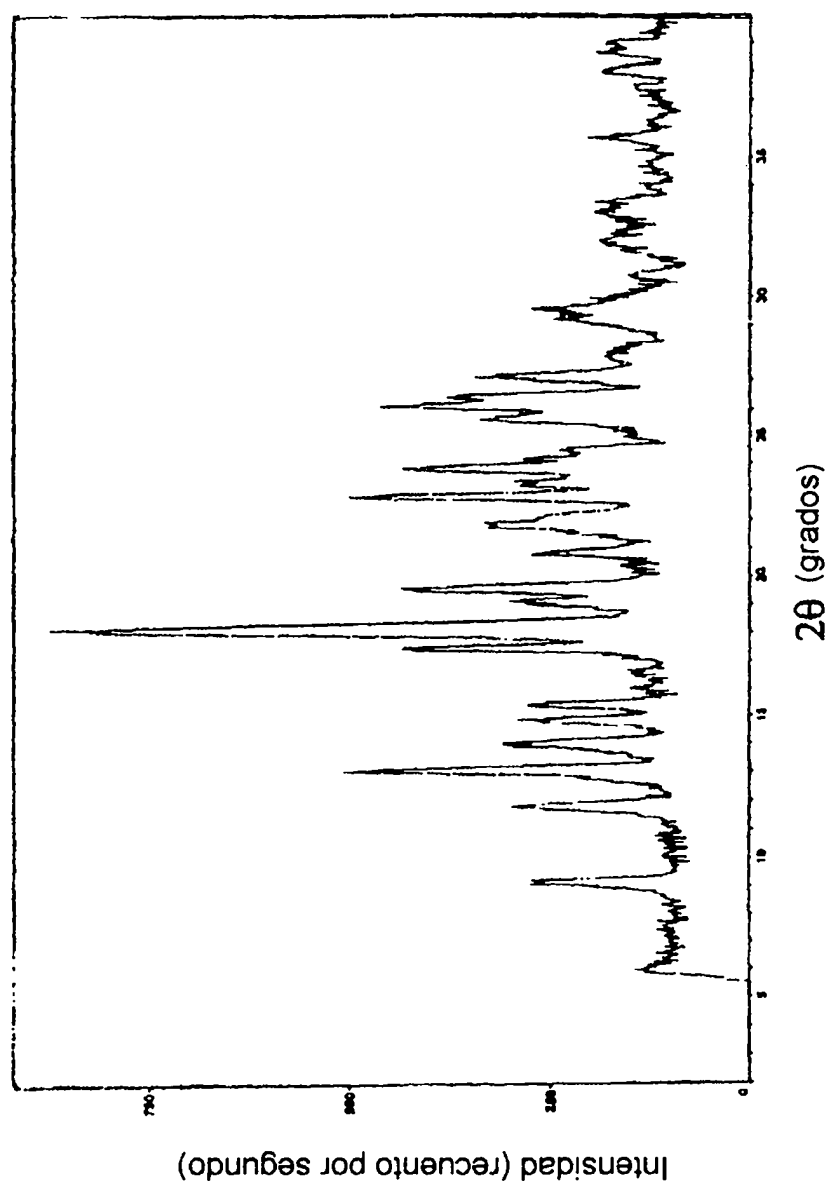


FIG. 3

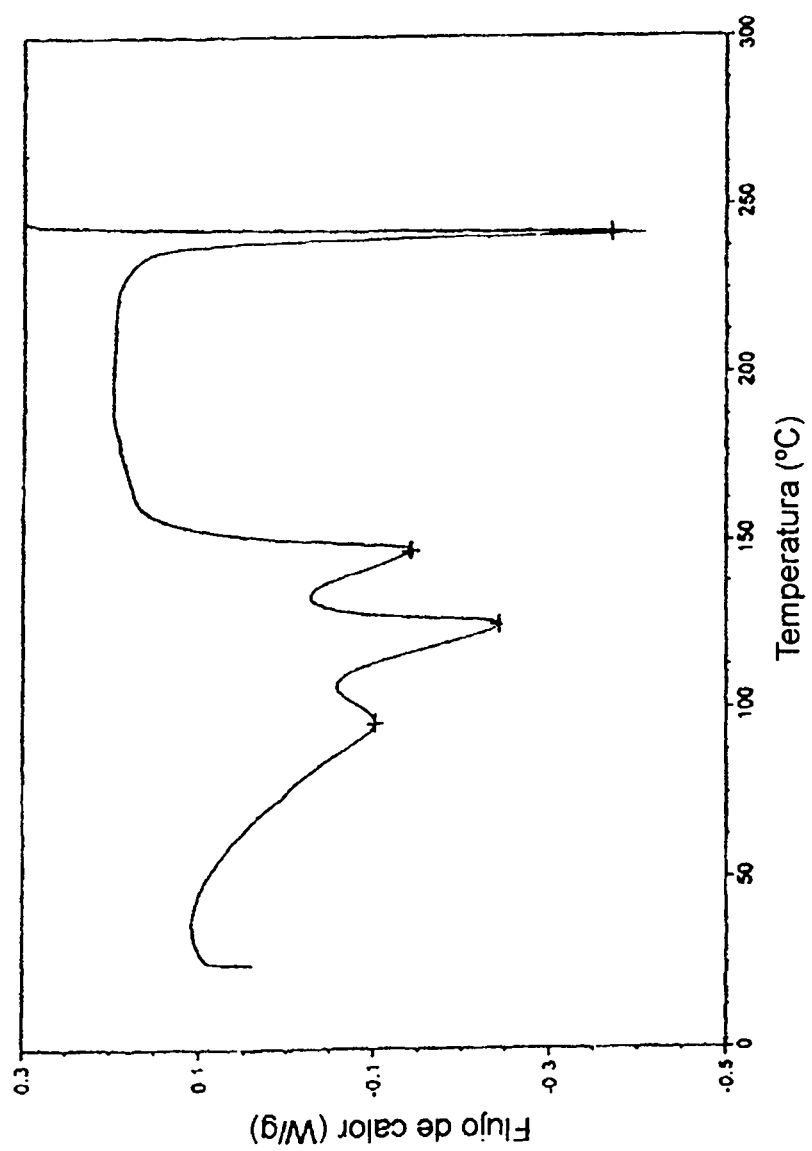


FIG. 4

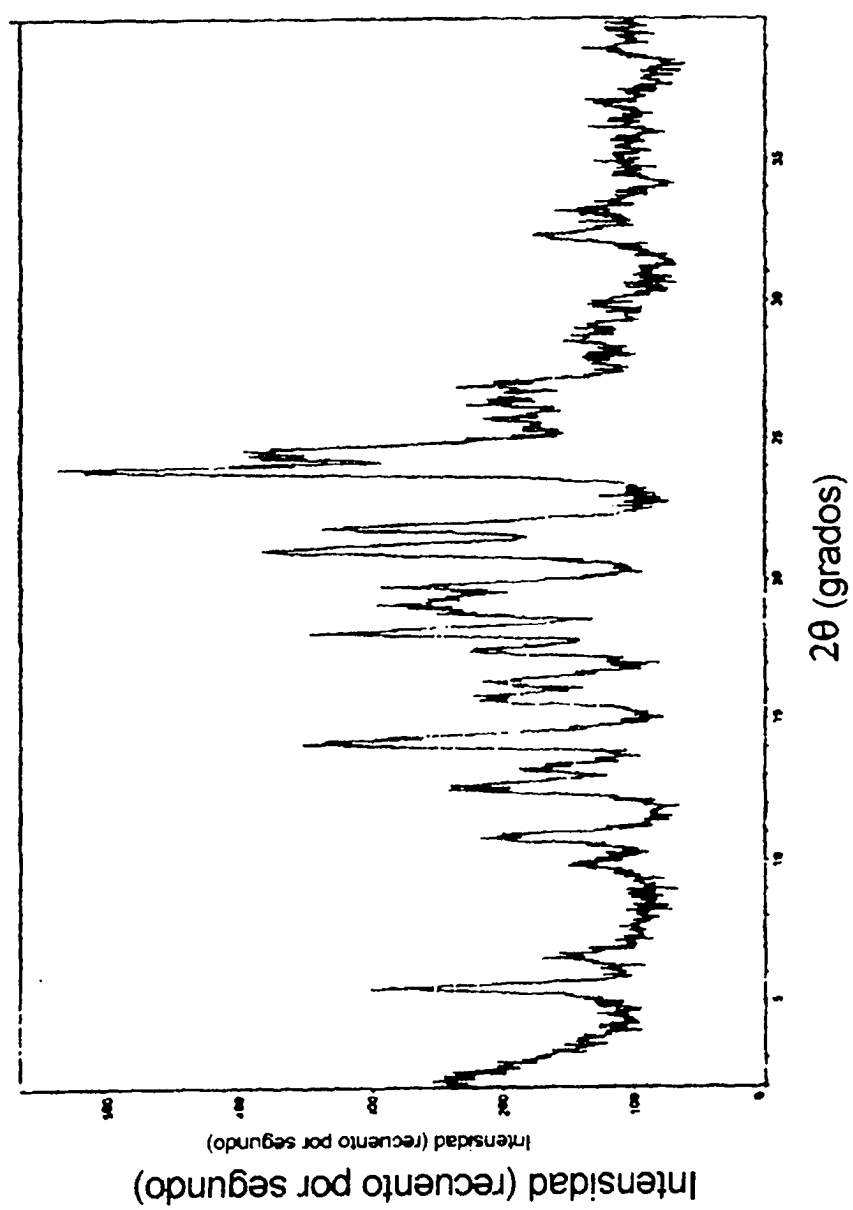


FIG. 5

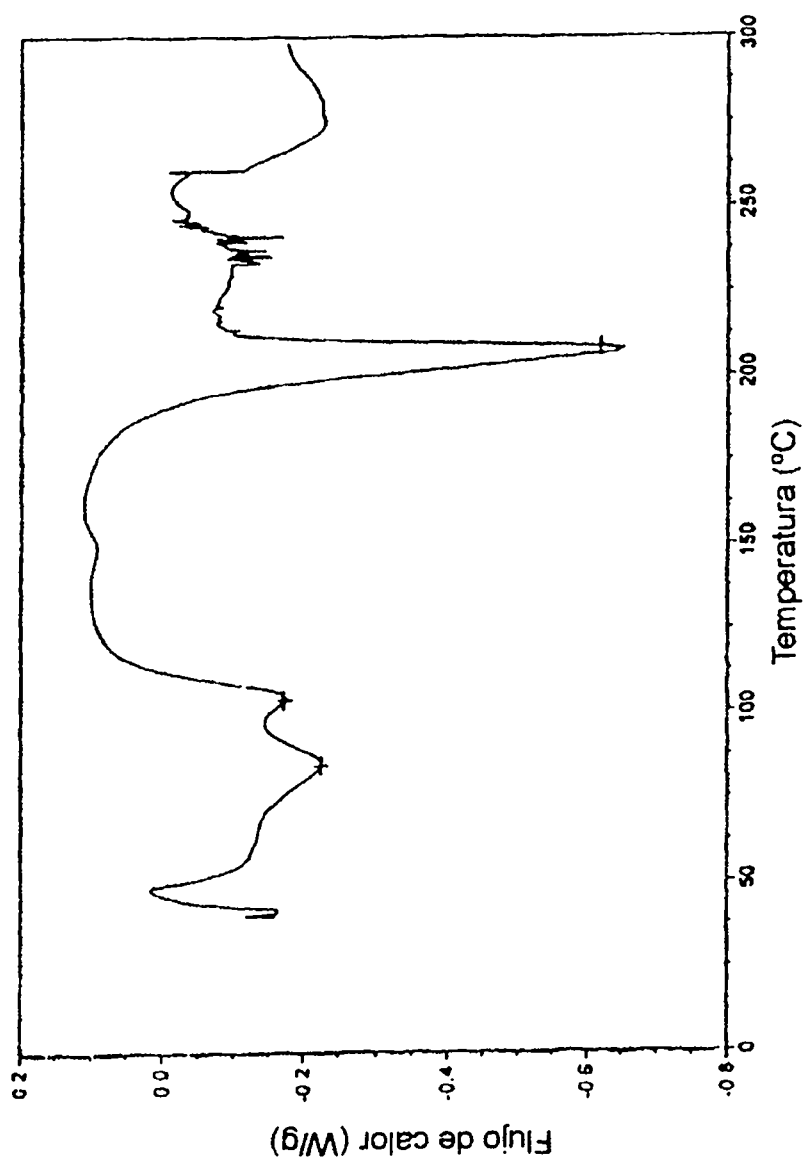


FIG. 6