

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 370 518**

51 Int. Cl.:
C07D 207/09 (2006.01)
C07D 403/12 (2006.01)
C07D 401/12 (2006.01)
A61K 31/4025 (2006.01)
A61P 3/04 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06774260 .1**
96 Fecha de presentación: **28.06.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1904442**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **02.04.2008**

54 Título: **AGENTES RECEPTORES H3 DE HISTAMINA, PREPARACIÓN Y USOS TERAPÉUTICOS.**

30 Prioridad:
01.07.2005 US 696257 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
19.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
19.12.2011

73 Titular/es:
**ELI LILLY AND COMPANY
LILLY CORPORATE CENTER
INDIANAPOLIS IN 46285, US**

72 Inventor/es:
**BEAVERS, Lisa, Selsam;
FINLEY, Don, Richard;
GADSKI, Robert, Alan;
HIPSKIND, Philip, Arthur;
HORNBACK, William, Joseph;
JESUDASON, Cynthia, Darshini;
PICKARD, Richard, Todd;
TAKAKUWA, Takako y
VAUGHT, Grant, Mathews**

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

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).

ES 2 370 518 T3

DESCRIPCIÓN

Agentes receptores H3 de histamina, preparación y usos terapéuticos

La presente solicitud de patente reivindica el beneficio de la Solicitud de Patente Provisional de EE.UU. N° 60/696.257 presentada el 1 de julio de 2.005.

- 5 La presente invención se refiere a nuevos compuestos de aril-metanona-pirrolidinil-metil-pirrolidinilo, a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, a usos terapéuticos de estos compuestos y composiciones y a compuestos intermedios y métodos para fabricar estos compuestos.

El receptor H3 de histamina es relativamente específico de neuronas e inhibe la liberación de una serie de monoaminas, incluyendo histamina. El receptor H3 de histamina es un autoreceptor presináptico y heteroreceptor situado en el sistema nervioso tanto central como periférico. El receptor H3 de histamina regula la liberación de histamina y otros neurotransmisores, tales como serotonina y acetilcolina. Estos son ejemplos de respuestas mediadas por receptor H3 de histamina. Pruebas recientes sugieren que el receptor H3 muestra actividad constitutiva intrínseca, in vitro así como in vivo (es decir, es activo en ausencia de un agonista). Los compuestos que actúan como agonistas inversos pueden inhibir su actividad. Se esperaría por lo tanto que un antagonista o agonista inverso de receptores H3 de histamina aumentarían la liberación de neurotransmisores regulados por receptores H3 en el cerebro. Un agonista de los receptores H3 de histamina, por el contrario, conduce a una inhibición de la biosíntesis y o liberación de histamina y otros neurotransmisores, tales como serotonina y acetilcolina. Estos hallazgos sugieren que los agonistas de los receptores H3 de histamina, agonistas inversos, y antagonistas podrían ser importantes mediadores de actividad neuronal y las actividades de otras células que puede expresar este receptor. El agonismo inverso o antagonismo selectivo del receptor H3 de histamina eleva los niveles de histamina en el cerebro, y otras monoaminas, e inhibe actividades tales como consumo de alimentos al tiempo que se minimizan las consecuencias periféricas no específicas. Por este mecanismo, inducen un desvelo prolongado, función cognitiva mejorada, reducción de la absorción de alimento y normalización de reflejos vestibulares. De acuerdo con esto, el receptor H3 de histamina es un objetivo importante para nuevos productos terapéuticos en la enfermedad de Alzheimer, alteraciones del humor y la atención, deficiencias cognitivas, obesidad, vértigo, esquizofrenia, epilepsia, trastornos del sueño, narcolepsia y mareo.

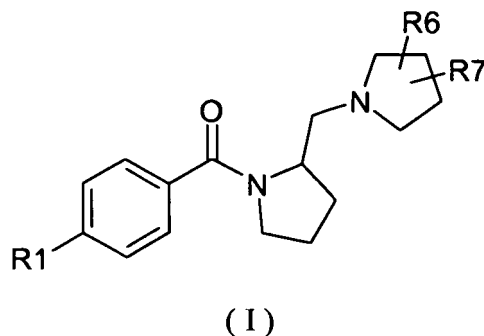
La histamina media su actividad mediante cuatro subtipos de receptores, H1R, H2R, H3R y un receptor recién identificado denominado GPRv53 [(Oda T., et al., J. Biol. Chem. 275 (47): 36781-6 (2.000)]. Nombres alternativos para GPRv53 son PORT3 o H4R. Aunque se han desarrollado ligandos relativamente selectivos para H1R, H2R y H3R, se han desarrollado pocos ligandos específicos que puedan distinguir H3R de H4R. H4R es un receptor extensamente distribuido encontrado a altos niveles en leucocitos humanos. La activación o inhibición de este receptor podía dar como resultado efectos secundarios indeseables cuando se fija como objetivo el antagonismo del receptor H3R. La identificación del receptor H4R presenta biología de la histamina fundamentalmente cambiada y se debe considerar en el desarrollo de antagonistas de los receptores H3 de histamina.

35 Se crearon algunos antagonistas de los receptores H3 de histamina que se parecen a la histamina en poseer un anillo de imidazol generalmente sustituido en la posición 4 (5) (Ganellin et al., Ars Pharmaceutica, 1.995, 36: 3, 455-468). Estos compuestos que contienen imidazol presentan la desventaja de una deficiente penetración de barrera sangre-cerebro, interacción con proteínas del citocromo P- 450 y toxicidades hepáticas y oculares. Recientemente, se han descrito otros ligandos de imidazol y de no imidazol del receptor H3 de histamina, tales como los del documento WO 2002/076925.

El documento WO 2004/037257 se refiere a fenilpiperidinas y fenilpirrolidinas como moduladores de los receptores H3 de histamina y el documento WO 2003/064411 se refiere a amidas de azetidinas aminoalquilsustituidas, pirrolidinas, piperidinas y azepanos, útiles para el tratamiento de trastornos relacionados con el receptor H3 de histamina.

45 Queda la necesidad de tratamientos mejorados usando agentes farmacéuticos alternativos o mejorados que actúen como agonistas de los receptores H3 de histamina, agonistas inversos o antagonistas, para modular la actividad del receptor H3 y tratar las enfermedades que podían beneficiarse de la modulación de los receptores H3. La presente invención proporciona tal contribución a la técnica basada en el hallazgo de que una nueva clase de compuestos de aril-metanona-pirrolidinil-metil-pirrolidinilo presenta una alta afinidad, actividad selectiva y potente en el receptor H3 de histamina. La invención objeto es distinta en las estructuras particulares y sus actividades.

La presente invención proporciona un compuesto representado estructuralmente por la Fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

R1 es independientemente

- 10 - $\text{SO}_2\text{N(R2)(R3)}$ - $\text{SO}_2\text{-N-pirrolidinilo}$ (en el que la pirrolidina está opcionalmente sustituida con R4), - $\text{SO}_2\text{-N-piperidini}$ (en el que la piperidina está opcionalmente sustituida con R4) o - $\text{SO}_2\text{-N-morfolinilo}$;

R2 es independientemente -H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_4$) (opcionalmente sustituido con uno a tres halógenos);

R3 es independientemente

- 15 - alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$) (opcionalmente sustituido con uno a tres halógenos), - [alquileo ($\text{C}_2\text{-C}_4$)]-N-pirrolidinilo, -[alquileo ($\text{C}_2\text{-C}_4$)]-N-piperidinilo, -[alquileo ($\text{C}_2\text{-C}_4$)]-N-morfolinilo, -[alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_4$)]-2-piridinilo, -[alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_4$)]-3-piridinilo o - [alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_4$)]-4-piridinilo;

R4 es independientemente $-\text{CH}_3$, $-\text{CF}_3$, $-\text{CN}$ o $-\text{SO}_2\text{CH}_3$;

R6 es independientemente -H o -alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_3$) (opcionalmente sustituido con uno a tres halógenos); y

R7 es independientemente -H o alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_3$) (opcionalmente sustituido con uno a tres halógenos).

- 20 La presente invención proporciona compuestos que muestran una unión selectiva y de alta afinidad para el receptor H3 de histamina y así los compuestos son útiles como antagonistas de los receptores H3 de histamina o agonistas inversos. En otro aspecto, la presente invención proporciona compuestos que son útiles como antagonistas selectivos o agonistas inversos del receptor H3 de histamina pero presentan poca o ninguna afinidad de unión de GPRv53. Además, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I para uso en el tratamiento de un
- 25 trastorno del sistema nervioso. La presente invención proporciona además un compuesto de Fórmula I para uso en el tratamiento de la obesidad o trastornos cognitivos. En otro aspecto más, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden antagonistas o agonistas inversos del receptor H3 de histamina.

- 30 Los términos generales usados en la descripción de compuestos, composiciones y métodos descritos en la presente memoria, tienen sus significados habituales. En toda la solicitud inmediata, los siguientes términos tienen los significados indicados:

- El término "GPRv53" significa un receptor de histamina nuevo recién identificado como se describe en Oda, et al., *supra*. Nombres alternativos para este receptor son PORT3 o H4R. El término "H3R" significa el receptor H3 de histamina que inhibe la liberación de una serie de monoaminas, incluyendo histamina. El término "H1R" significa el subtipo de receptores H1 de histamina. El término "H2R" significa el subtipo de receptores H2 de histamina. El
- 35 término "antagonistas H3R" se define como un compuesto de la presente invención con la capacidad para bloquear la producción de cAMP estimulada por forskolina como respuesta a agonista R (-)- α metilhistamina. El término "agonista inverso H3R" se define como un compuesto de la presente invención con la capacidad para inhibir la actividad constitutiva de H3R. "Antagonistas H3R o agonistas inversos selectivos" significa un compuesto de la presente invención con una afinidad mayor para el receptor de histamina H3 que para receptor de histamina
- 40 GPRv53.

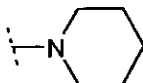
En la fórmula general del presente documento, los términos químicos generales tienen sus significados habituales.

- "Alquileo ($\text{C}_1\text{-C}_4$)" son un radical hidrocarbodiilo saturado de configuración lineal o ramificada constituida por de 1 a 4 átomos de carbono. Se incluye dentro del alcance de este término metileno, 1,2-etano-diilo, 1,1-etano-diilo, 1,3-propano-diilo, 1,2-propano-diilo, 1,3 butano-diilo, 1,4 -butano-diilo y similares. "Alquileo ($\text{C}_2\text{-C}_4$)" son un radical hidrocarbodiilo saturado de configuración lineal o ramificada constituida por 2 a 4 átomos de carbono. Se incluyen dentro del alcance del término 1,2-etano-diilo, 1,3-propano-diilo, 1,2-propano-diilo, 1,3-butano-diilo, 1,4-butano-diilo y similares.
- 45

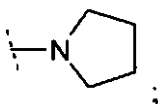
"Alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_3$)" son uno a tres átomos de carbono tales como metilo, etilo, propilo y similares, opcionalmente sustituidos con uno a tres halógenos y "alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_4$)" son uno a cuatro átomos de carbono tales como metilo, etilo,

propilo, butilo y similares y formas ramificadas e isómeras de los mismos, opcionalmente sustituidos con uno a tres halógenos y "alquilo (C_1-C_6)" son uno a seis átomos de carbono tales como metilo, etilo, propilo, butilo, pentilo, hexilo y similares y formas ramificadas o isómeras de los mismos, opcionalmente sustituidos con uno a tres halógenos.

- 5 "Cicloalquilo (C_3-C_7)" significa un anillo con tres a siete átomos de carbono tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y cicloheptilo. "-N-piperidinilo" es

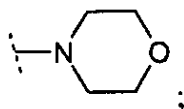


"-N-pirrolidinilo" es



"-N-morfolinilo" es

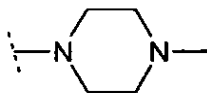
10 10



15

"-N-piperazin-N-metilo" es

20



15

: en el que las líneas discontinuas representan los puntos de unión.

"Halógeno" o "halo" significa flúor, cloro, bromo y yodo.

- 20 El término "opcionalmente sustituido" como se usa en la presente memoria significa que los grupos en cuestión son o no sustituidos o sustituidos con uno o más de los sustituyentes especificados. Cuando los grupos en cuestión están sustituidos con más de un sustituyente, los sustituyentes pueden ser iguales o diferentes. Además, cuando se usan los términos "independientemente", "son independientemente" y "seleccionados independientemente de" se debería entender que los grupos en cuestión pueden ser iguales o diferentes. Algunos de los términos definidos anteriormente pueden darse más de una vez en la fórmula estructural y en tal caso cada término se definirá independientemente del otro.

- 25 El término "paciente" incluye animales humanos y no humanos tales como animales de compañía (perros y gatos y similares) y ganado. Ganado son animales criados para producción de alimentos. Los animales rumiantes o "que mastican el bolo alimenticio" tales como vacas, toros, vaquillas, bueyes, ovejas, búfalos, bisontes, cabras y antílopes son ejemplos de ganado. Otros ejemplos de ganado incluyen cerdos y aves (aves de corral) tales como pollos, patos, pavos y gansos. Otros ejemplos más de ganado incluyen pescado, marisco y crustáceos criados en acuicultura. También se incluyen animales exóticos usados en producción alimentaria tales como caimanes, búfalos de agua y rítidas (por ejemplo, emú, ñandú y avestruces). El paciente que se tiene que tratar es preferiblemente un mamífero, en particular un ser humano.

- 35 Los términos "tratamiento", "que trata" y "tratar", como se usan en la presente memoria, incluyen sus significados aceptados en general, es decir, la administración y cuidado de un paciente para el fin de prevenir, prohibir, contener, mitigar, mejorar, disminuir, detener, retardar o invertir la progresión o gravedad de una enfermedad, trastorno o estado patológico, descrito en la presente memoria, incluyendo la mejora o alivio de los síntomas o complicaciones o la cura o eliminación de la enfermedad, trastorno o afección.

Como se usa en la presente memoria, el término "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de compuesto de la presente invención que es capaz de mejorar los síntomas de los diversos estados patológicos

descritos en la presente memoria. La dosis específica de un compuesto administrada según esta invención se determinará por supuesto por las circunstancias particulares que rodeen al caso, incluyendo el compuesto administrado, la ruta de administración, el estado en que se encuentre el paciente y la afección patológica que se tenga que tratar.

5 En general, el término "farmacéutico" cuando se usa como un adjetivo significa sustancialmente no tóxicos para organismos vivos. Por ejemplo, el término "sal farmacéuticamente aceptable" como se usa en la presente memoria, se refiere a sales de los compuestos de Fórmula I que son sustancialmente no tóxicos para organismos vivos. Véase, por ejemplo, Berge, S. M, Bighley, L. D., y Monkhouse, D. C., "Pharmaceutical Salts," J. Pharm. Sci., 66: 1, 1.977. La presente invención también incluye sales farmacéuticamente aceptables de los presentes compuestos.

10 "Composición" significa una composición farmacéutica y se desea que incluya un producto farmacéutico que comprende el ingrediente o los ingredientes activos incluyendo el compuesto o los compuestos de Fórmula I y el ingrediente o los ingredientes inertes que constituyen el portador. De acuerdo con esto, las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen cualquier composición preparada por mezcla de un compuesto de la presente invención y un portador farmacéuticamente aceptable.

15 El término "disolvente adecuado" se refiere a cualquier disolvente o mezcla de disolventes, inerte para la reacción en marcha que solubiliza lo suficiente los agentes reaccionantes para proporcionar un medio dentro del que se efectúa la reacción deseada.

La expresión "forma farmacéutica unitaria" significa unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para individuos humanos y otros animales no humanos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado, junto con un portador farmacéutico adecuado.

20 En una realización, la presente invención proporciona compuestos de Fórmula I como se describió con detalle anteriormente. Mientras todos los compuestos de la presente invención son útiles, algunos de los compuestos son particularmente interesantes y son preferidos.

25 En otra realización la presente invención proporciona un compuesto representado estructuralmente por la Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que:

R1 es independientemente

- SO₂N(R2)(R3) -SO₂-N-pirrolidino (en el que la pirrolidina está opcionalmente sustituida con R4), -SO₂-N-piperidinilo (en el que la piperidina está opcionalmente sustituida con R4) o -SO₂-N-morfolinilo

R2 es independientemente -H o alquilo (C₁-C₄) (opcionalmente sustituido con uno a tres halógenos);

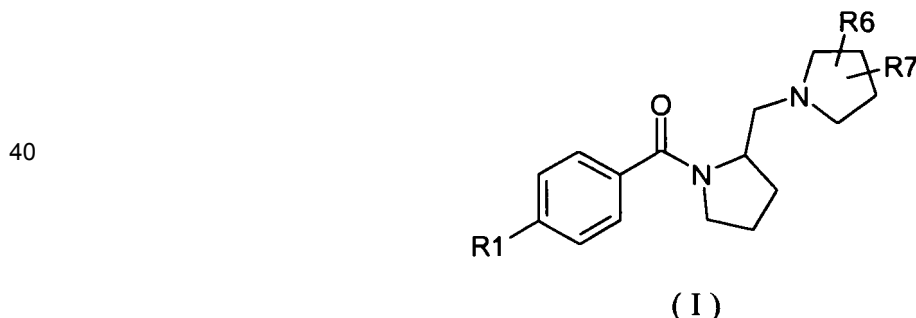
30 R3 es independientemente

- alquilo (C₁-C₆) (opcionalmente sustituido con uno a tres halógenos), -[alquilen (C₂-C₄)]-N-pirrolidinilo, -[alquilen (C₂-C₄)]-N-piperidinilo, -[alquilen (C₂-C₄)]-N-morfolinilo, -[alquilen (C₁-C₄)]-2-piridinilo, -[alquilen (C₁-C₄)]-3-piridinilo o -[alquilen (C₁-C₄)]-4-piridinilo;

R4 es independientemente -CH₃, -CF₃, -CN o -SO₂CH₃;

35 R6 es independientemente -H o -CH₃ y R7 es independientemente -H o -CH₃.

En otra realización la presente invención es un compuesto representado estructuralmente por la Fórmula I:



o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, en la que:

45 R1 es independientemente

- SO₂N(R2)(R3) -SO₂-N-pirrolidinilo (en el que la pirrolidina está opcionalmente sustituida con R4), -SO₂-N-piperidinilo

(en el que la piperidina está opcionalmente sustituida con R4) o -SO₂N-morfolinilo;

R2 es independientemente -H o alquilo (C₁-C₄);

R3 es independientemente alquilo (C₁-C₆), [alquilen (C₂-C₄)]-N-pirrolidinilo, -[alquilen (C₂-C₄)]-N-piperidinilo, -[alquilen (C₂-C₄)]-N-morfolinilo, -[alquilen (C₁-C₄)]-2-piridinilo, -[alquilen (C₁-C₄)]-3-piridinilo o -[alquilen (C₁-C₄)]-4-piridinilo;

5 R4 es independientemente -CH₃, -CF₃, -CN o -SO₂Me;

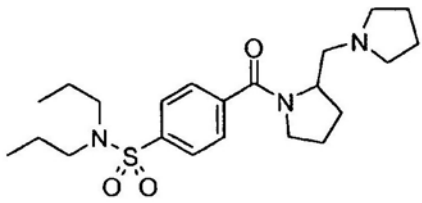
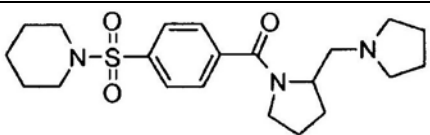
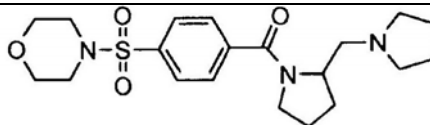
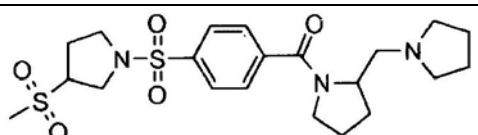
R6 es independientemente -H o -alquilo (C₁-C₃); R7 es independientemente -H o -alquilo (C₁-C₃).

Se proporcionan realizaciones adicionales de la invención en las que cada una de las realizaciones descritas anteriormente en la presente memoria se reduce además como se describe en las siguientes preferencias. Específicamente, cada una de las preferencias a continuación se combina independientemente con cada una de las realizaciones anteriores y la combinación particular proporciona otra realización en que la variable indicada en la preferencia se reduce según la preferencia.

Preferiblemente R2 es -H. Preferiblemente R2 es alquilo (C₁-C₃). Preferiblemente R2 es metilo o etilo. Preferiblemente R3 es alquilo (C₁-C₆) (opcionalmente sustituido con uno a tres halógenos). Preferiblemente R4 es -SO₂CH₃. Preferiblemente R6 es -H. Preferiblemente R7 es -H. Preferiblemente R6 es -H y R7 es -H. Preferiblemente R6 y R7 son independientemente -H o -CH₃. Preferiblemente R6 es -CH₃ y R7 es -H.

Realizaciones adicionales de la invención incluyen los compuestos de fórmula X7, X17, X18 y X19, o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Una realización adicional de la invención son cualquier preparación de compuesto intermedio nuevo descrita en la presente memoria que son útiles para preparar los antagonistas o agonistas inversos de los receptores H3 de histamina de fórmula I, o X7, X17, X18 o X19.

Tabla 1:

Número Fórmula	Estructura
X7	
X17	
X18	
X19	

La presente invención proporciona además un antagonista o agonista inverso de Fórmula I que se caracteriza por tener poca o ninguna afinidad por el receptor GPRv53 de histamina. Debido a su interacción con el receptor H3 de histamina, los presentes compuestos son útiles en el tratamiento de una amplia variedad de afecciones y trastornos en que es beneficiosa una interacción con el receptor H3 de histamina. Así, los usos de esta invención incluyen una administración profiláctica y terapéutica de un compuesto o composición farmacéutica de Fórmula I. Las formulaciones farmacéuticas de Fórmula I pueden proporcionar un método para aumentar selectivamente los niveles de histamina en las células o aumentar la liberación de histamina por células, poniendo en contacto las células con

un antagonista o agonista inverso del receptor H3 de histamina, siendo el antagonista o agonista inverso un compuesto de Fórmula I.

Así, los compuestos o composiciones farmacéuticas de fórmula I pueden encontrar uso por ejemplo para prevenir, tratar y/o aliviar enfermedades o afecciones del sistema nervioso central, el sistema nervioso periférico, el sistema cardiovascular, el sistema pulmonar, el sistema gastrointestinal y el sistema endocrinológico, al tiempo que se reduce y o se elimina uno o más de los efectos secundarios no deseados asociados a los tratamientos actuales.

Además, la presente invención proporciona un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéutica del mismo o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéutica del mismo y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable; para uso en la inhibición del receptor H3 de histamina; para uso en la inhibición de la respuesta celular mediada por un receptor H3 de histamina en un mamífero; para uso para aumentar la liberación de neurotransmisores regulados por receptor H3 en un mamífero; para uso en el tratamiento de una enfermedad que surge de excesiva actividad de los receptores H3 de histamina y para uso en el tratamiento de trastornos del sistema nervioso en un mamífero incluyendo pero no limitándose a obesidad, trastornos cognitivos, trastornos por déficit de atención, procesos de memoria, demencia y trastornos de la cognición tales como enfermedad de Alzheimer y trastorno por hiperactividad por déficit de atención; trastorno bipolar, déficits cognitivos en trastornos psiquiátricos, déficits de memoria, déficits del aprendizaje, demencia, deficiencia cognitiva leve, migraña, alteraciones del humor y la atención, mareo, inflamación neurogénica, trastorno obsesivo-compulsivo, enfermedad de Parkinson, esquizofrenia, depresión, ataques o convulsiones; trastornos del sueño tales como la narcolepsia; Disfunción vestibular tal como enfermedad de Meniere, dolor, abuso de fármacos, depresión, epilepsia, desfase del sueño, desvelo, síndrome de Tourette y vértigo.

La presente invención se refiere además con el uso de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéutica del mismo o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéutica del mismo y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable; para la fabricación de un medicamento para inhibir el receptor H3 de histamina; para la fabricación de un medicamento para inhibir una respuesta celular mediada por receptor H3 de histamina en un mamífero; para la fabricación de un medicamento para aumentar la liberación de neurotransmisores regulados por receptor H3 en el cerebro de un mamífero; para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad que surge de excesiva actividad de los receptores H3 de histamina; para la fabricación de un medicamento para tratar enfermedades cognitivas en un mamífero y para la fabricación de un medicamento para tratar trastornos del sistema nervioso en un mamífero incluyendo pero no limitándose a obesidad, trastornos cognitivos, trastornos por déficit de atención, procesos de la memoria, demencia y trastornos de la cognición tales como enfermedad de Alzheimer y trastorno por hiperactividad por déficit de la atención; trastorno bipolar, déficits cognitivos en trastornos psiquiátricos, déficits de la memoria, déficits del aprendizaje, demencia, deficiencia cognitiva leve, migraña, alteración del humor y la atención, mareo, inflamación neurogénica, trastorno obsesivo compulsivo, enfermedad de Parkinson, esquizofrenia, depresión, epilepsia y ataques o convulsiones; trastornos del sueño tales como narcolepsia; disfunción vestibular tal como enfermedad de Meniere, dolor, abuso de fármacos, depresión, desfase del sueño, desvelo, síndrome de Tourette y vértigo. En otra realización de la invención, los presentes compuestos se usan para la preparación de un medicamento para el tratamiento de cualquier afección y enfermedad mediada por receptores H3 de histamina.

La presente invención proporciona además una composición farmacéutica de Fórmula I que puede ser útil en el tratamiento o la prevención de un trastorno o enfermedad en que la modulación de la actividad de los receptores H3 de histamina presenta un efecto beneficioso. La presente invención proporciona además un antagonista o agonista inverso de Fórmula I que se caracteriza por tener mayor afinidad por el receptor H3 de histamina cuando se compara con la afinidad por los receptores H1R, H2R o H4R de histamina. En otra realización más de la invención los presentes compuestos se usan para la preparación de una composición farmacéutica para el tratamiento de una regulación del apetito o trastorno por gasto de energía. En una realización más de la invención, se combina tratamiento de un paciente con los presentes compuestos con dieta y/o ejercicio. En otra realización, los compuestos intermedios son útiles para preparar compuestos finales de la invención. Además las realizaciones de la presente invención incluyen la síntesis de los ejemplos mencionados en la presente memoria por métodos incluidos en la presente memoria y enriquecidos por métodos conocidos en la técnica, para crear ligandos de topografía de emisión de positrones (PET) que unen receptores H3 de histamina y son útiles para formación de imágenes por PET.

La invención incluye tautómeros, enantiómeros y otros estereoisómeros de los compuestos también. Así, como conoce un experto en la materia, algunos arilos pueden existir en formas tautómeras. Se considera que tales variaciones están dentro del alcance de la invención. Se entenderá que, como se usa en la presente memoria, las referencias a los compuestos de Fórmula I significan que incluyen también las sales farmacéuticas, los enantiómeros y mezclas racémicas de los mismos. Los compuestos de la presente invención pueden ser quirales y se desea que se incluya cualquier enantiómero, cuando se separan, enantiómeros puros o parcialmente purificados o mezclas racémicas de los mismos dentro del alcance de la invención.

La designación " — " se refiere a un enlace que sobresale hacia afuera del plano de la página. La denominación " ····· " se refiere a un enlace que sobresale hacia adentro del plano de la página. La denominación " ~~~~ " se refiere a un enlace en el que la estereoquímica no está definida.

Los compuestos de Fórmula I, cuando existen como una mezcla diastereómera, se pueden separar en pares diastereómeros de enantiómeros, por ejemplo, por cristalización fraccionada de un disolvente adecuado, tal como metanol o acetato de etilo o una mezcla de los mismos. El par de enantiómeros así obtenidos se puede separar en estereoisómeros individuales por medios convencionales, por ejemplo por el uso de un ácido ópticamente activo como agente de resolución. Alternativamente, cualquier enantiómero de un compuesto de Fórmula I se puede obtener por síntesis estereoespecífica usando materiales de partida ópticamente puros o agentes reaccionantes de configuración conocida o mediante síntesis enantioselectiva.

Los estereoisómeros y enantiómeros de compuestos de Fórmula I se pueden preparar por un experto en la técnica utilizando técnicas y procesos conocidos, tales como los descritos por J. Jacques, et al., "Enantiomers, Racemates, and Resolutions," John Wiley and Sons, Inc., 1.981, y E. L. Eliel and S.H. Wilen, "Stereochemistry of Organic Compounds," (Wiley-Interscience 1.994), y la Solicitud de Patente Europea N° EP-A-838448, publicada el 29 de abril de 1.998.

Los compuestos de la presente invención pueden formar solvatos con disolventes de bajo peso molecular estándar usando métodos conocidos para el experto en la materia. También se considera que tales solvatos están dentro del alcance de la presente invención.

La invención también incluye profármacos de los presentes compuestos, que en su administración experimentan conversión química por procesos metabólicos antes de llegar a ser sustancias farmacológicamente activas. En general, tales profármacos serán derivados funcionales de compuestos presentes, que son fácilmente convertibles *in vivo* en un compuesto de la presente invención. Se describen procedimientos convencionales para la selección y la preparación de derivados de profármacos adecuados, por ejemplo, en "Design of Prodrugs", ed. H. Bundgaard, Elsevier, 1.985.

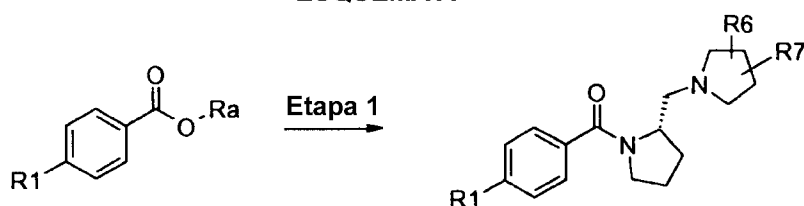
Los compuestos de Fórmula I se pueden preparar por un experto en la materia siguiendo una variedad de procedimientos, algunos de los cuales se ilustran en los procedimientos y esquemas explicados más adelante. El orden particular de las etapas requerido para producir los compuestos de Fórmula I depende del compuesto particular que se sintetice, el compuesto de partida y la relativa responsabilidad de los restos sustituidos. Los agentes reaccionantes o materiales de partida están fácilmente disponibles para un experto en la materia y en el grado no comercialmente disponible, se sintetizan fácilmente por un experto en la materia siguiendo procedimientos estándar empleados comúnmente en la técnica, junto con los diversos procedimientos y esquemas explicados más adelante.

Los siguientes Esquemas, Procedimientos, Preparaciones y Ejemplos se proporcionan para elucidar mejor la práctica de la presente invención.

Los términos y las abreviaturas usadas en las Preparaciones y Ejemplos presentes tienen su significado normal a menos que se designe de otro modo. Por ejemplo, como se usa en la presente memoria, los siguientes términos tienen los significados indicados; "min" se refiere a minutos; "h" se refiere a horas; "TLC" se refiere a cromatografía de capa fina; "HPLC" se refiere a cromatografía líquida de alta resolución; "R_f" se refiere a factor de retención; "R_t" se refiere a tiempo de retención; "δ" se refiere a parte por millón campo abajo de tetrametilsilano; "MS" se refiere a espectrometría de masas; "MS (ES)" se refiere a espectrometría de masas por electropulverización; "APCI" se refiere a ionización química atmosférica; "UV" se refiere a espectrometría ultravioleta; "¹H NMR" se refiere a espectrometría de resonancia magnética de protón nuclear; "TA" se refiere a temperatura ambiente; "PS-Trisamina" es Tris-(2-aminoetil)aminopoliestireno; "PS-Carbodiimida" o "PS-CDI" se refiere a N-Ciclohexilcarbodiimido-N'-propiloximetilpoliestireno; "PS-DIEA" se refiere a N,N-(Diisopropil)aminometilpoliestireno (agente antiestático inorgánico al 1%); "PS-DMAP" se refiere a N-(metilpoliestireno)-4-(metilamino)piridina; "Boc" o "BOC" se refiere a carbamato de terc-butilo; "HOBt" es 1-hidrobenzotriazol; "MeOH" se refiere a metanol; "DMF" se refiere a dimetilformamida; "EtOAc" se refiere a acetato de etilo.

Esquemas Generales:

ESQUEMA A



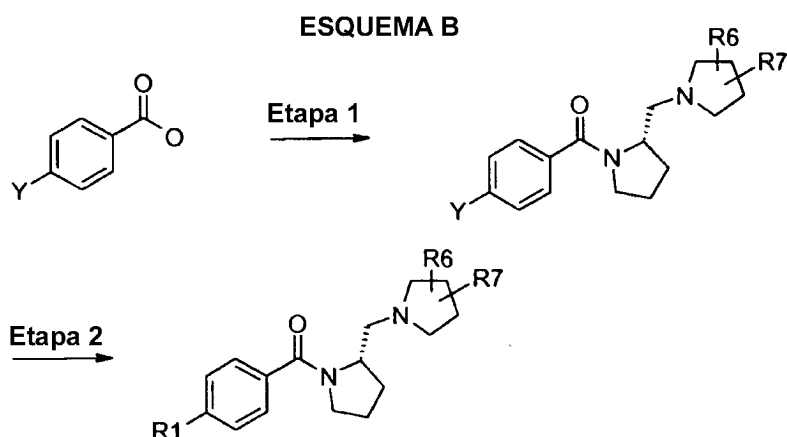
En el Esquema A, R_a es H o las correspondientes sales de ácido. En el Esquema 1, Etapa 1 los ácidos carboxílicos

o la sal de litio, sodio o potasio del ácido donde R_a puede ser H, Li, Na o K se convierten en las correspondientes amidas usando una serie de métodos de acoplamiento diferentes conocidos en la bibliografía. Algunos de los métodos se describen en Klausner & Bodansky, *Synthesis*, 1.972, 9, 453-463.

Por ejemplo, ácido 4-(piperidin-1-sulfonyl)-benzoico (donde R_1 = 4-(piperidin-1-sulfonyl) o la correspondiente sal de litio o sodio se suspende en un disolvente orgánico adecuado tal como diclorometano, DMF o mezclas de los mismos. Se añade un agente de acoplamiento de amida adecuado, es decir, TBTU o HATU, o EDC, DCC, etc., seguido por HOBt, etc., a temperatura ambiente. Una base amina, tal como diisopropiletilamina y amina adecuada en este caso, (S)(+)-1-(2-pirrolidinilmetil)pirrolidina se añade a la mezcla. Se agita la mezcla de temperatura ambiente durante un periodo de 8-48 horas. Se enfría rápidamente la reacción por adición de agua. Se puede extraer la mezcla resultante, concentrar y purificar según técnicas conocidas en la materia.

Alternativamente, se puede formar el correspondiente cloruro de ácido a partir del correspondiente ácido o la sal del mismo usando cloruro de tionilo o cloruro de oxalilo y unas gotas de DMF y se puede tratar con una amina adecuada para dar la amida deseada.

Por ejemplo, se disuelve 1,00 g de ácido 4-(2-cloroetil)benzoico (donde R_1 = 4-(2-cloroetilo)) en 10 ml de cloruro de tionilo y se agita a reflujo durante un periodo de 1-12 horas y se retira exceso de cloruro de tionilo a vacío. Se disuelve el residuo en un disolvente adecuado en este caso CH_2Cl_2 para hacer una disolución de cloruro de ácido y se añade a una disolución de una amina adecuada en este caso (S)(+)-1-(2-pirrolidinilmetil)pirrolidina y un eliminador de protones, es decir, trietilamina en CH_2Cl_2 . Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante un periodo de 30 minutos a 12 horas. Se puede concentrar, extraer y purificar la mezcla resultante según las técnicas conocidas.

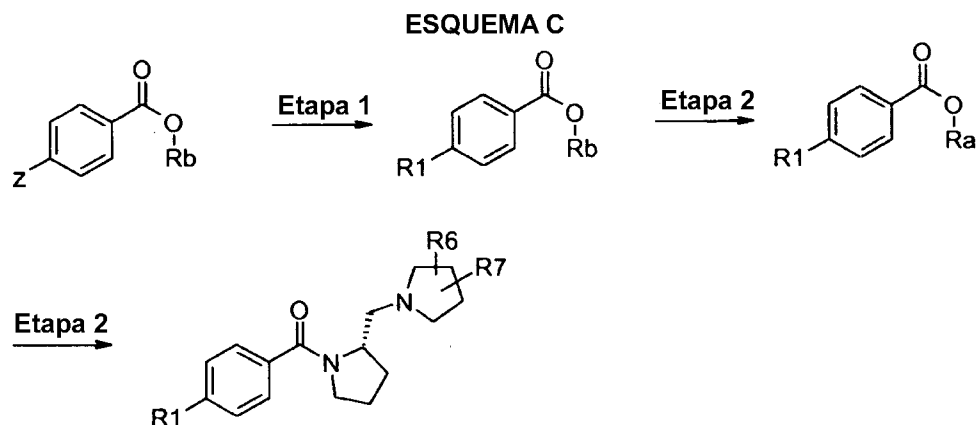


En el Esquema B, Y es cualquier grupo que contiene un grupo funcional que se puede modificar además a R_1 vía alquilación, acilación, oxidación, reducción, sulfonylación, desplazamiento, etc. En el Esquema B, Etapa 1, los ácidos carboxílicos se transforman en pirrolidinilmetilpirrolidinamidas por los métodos descritos en el Esquema A (etapa 1).

Por ejemplo, se trata (4-fluoro-fenil)-(2-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-il)-metanona (donde Y = F) con un nucleófilo adecuado, en este caso, 2-pirrolidin-1-il-etilamina en un disolvente adecuado tal como DMSO y KF/Al_2O_3 al 33% y se calienta la reacción durante 1-3 días para proporcionar 4-(2-pirrolidin-1-il-etilamino)-fenil-(2-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-il)-metanona.

Por ejemplo, se trata 4-(2-cloro-etil)-fenil-(2-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-il)-metanona (donde Y = 2-cloroetilo) con un nucleófilo adecuado, en este caso, ciclopentilamina en un disolvente adecuado tal como DMF y con NaI y se calienta la reacción durante 1-3 días para proporcionar 4-(2-ciclopentilamino-etil)-fenil-(2-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-il)-metanona.

Por ejemplo, se trata (4-bromo-fenil)-(2-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidinil)metanona (donde Y = Br) con un nucleófilo adecuado, en este caso, 4-mercaptopiridina en un disolvente adecuado tal como DMF con carbonato de potasio y se calienta la reacción para hacerla hervir a reflujo durante 1-3 días para proporcionar 4-(piridin-4-ilsulfanil)-fenil-(2-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-il)-metanona.



En el Esquema C, Z = NH₂ o SH y Rb puede ser pero no está limitado a, los correspondientes metil, etil o bencil ésteres. En el Esquema C, Etapa 1 (en la que Z = NH₂) el grupo amino se puede convertir en R1 por acilación, sulfonilación, alquilación o desplazamiento.

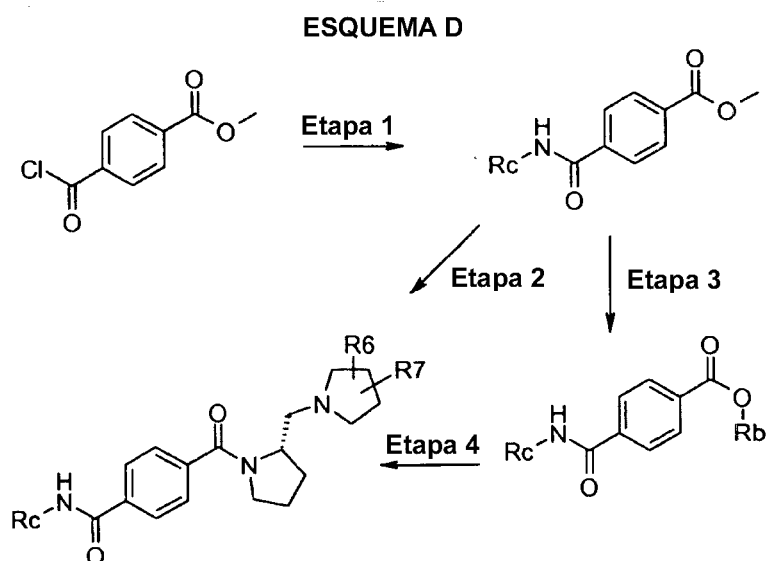
- 5 Por ejemplo, se trata metil éster del ácido 4-amino-benzoico con un haluro de sulfonilo, en este caso cloruro de 4-metanosulfonil bencenosulfonilo, en un disolvente adecuado, tal como una mezcla 1:1 de diclorometano y piridina a temperatura normal durante 2-24 horas para proporcionar metil éster de ácido 4-(4-metanosulfonil-bencenosulfonilamino)-benzoico.

- 10 Alternativamente, en el que Z = SH, el grupo tiol puede convertirse en R1 por alquilación con un haluro de alquilo o alquil éster de metanosulfonilo. Por ejemplo, se trata metil éster de ácido 4-mercaptobenzoico con un agente de alquilación, en este caso 3-piridin-4-il-propil éster de ácido metanosulfónico (preparado por sulfonilación del alcohol) en un disolvente adecuado tal como DMF en presencia de carbonato de potasio y se calentó durante 2-24 horas para proporcionar metil éster de ácido 4-(3-piridin-4-il-propilsulfanil)-benzoico.

- 15 En el Esquema C, Etapa 2, se pueden saponificar los ésteres resultantes (en los que R_b = Me, Et, Bz etc.), usando condiciones estándar para proporcionar los correspondientes ácidos carboxílicos o la sal de litio, sodio o potasio del ácido donde R_a puede ser H, Li, Na o K.

- 20 Por ejemplo, se disuelve metil éster de ácido 3-(1-metanosulfonil-piperidin-4-ilmetil)-benzoico en un disolvente adecuado tal como MeOH o dioxano y se añade LiOH 1 M. Se agita la mezcla de reacción a temperatura ambiente o se puede calentar a 50°C durante 30 minutos a 18 horas. Se retira a vacío el disolvente y se aísla el ácido o la sal según las técnicas conocidas en la técnica.

En el Esquema C, Etapa 3, los ácidos carboxílicos o las correspondientes sales de litio, sodio o potasio (en las que R_a=H, Li, Na, K) se convierten en las piperidinilmetilpiperidinoamidas por los métodos descritos en el Esquema A, Etapa 1.



En el Esquema D, R_c es un grupo alquilo tal como $C(O)NHR_c = R_1$. En el Esquema D, Etapa 1, se acila el cloruro de ácido con un grupo alquilo para dar una amida.

Por ejemplo, se trata cloruro de éster monometílico del ácido tereftálico con una alquilamina, en este caso 3-piperidinopropilamina y trietilamina, en un disolvente adecuado tal como diclorometano a temperatura normal durante 1-12 horas para proporcionar la amida deseada, éster metílico del ácido N-(3-piperidin-1-il-propil)-tereftalámico.

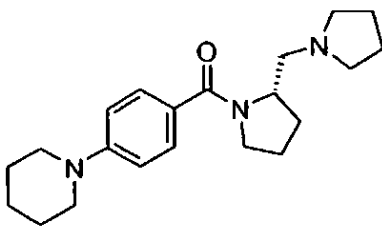
En el Esquema D, Etapa 2, el éster metílico se convierte en la pirrolidinamida por tratamiento con 1-(2-pirrolidinilmetil)pirrolidina y trimetilaluminio en un disolvente adecuado tal como tetrahidrofurano. Se agita la mezcla a temperatura normal durante 2-24 horas para proporcionar N-(3-piperidin-1-il-propil)-4-(2-(S)-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-carbonil)-benzamida.

Alternativamente, en el Esquema D, Etapa 3, el éster metílico se puede saponificar a los correspondientes ácidos carboxílicos o la sal de litio, sodio o potasio del ácido (en el que $R_b = H, Li, Na$ o K) como se describe en el Esquema C (Etapa 2).

En el Esquema D, Etapa 3, los ácidos carboxílicos o las correspondientes sales de litio, sodio o potasio (en las que $R_b = H, Li, Na, K$) se convierten en las pirrolidinilmetilpirrolidinamidas por los métodos descritos en el Esquema A, Etapa 1.

Ejemplo de Referencia 5

(4-Piperidin-1-il-fenil)-(2-(S)-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-il)-metanona

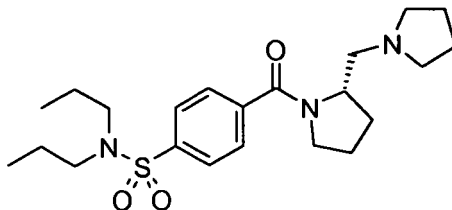


Procedimiento B:

Se pusieron ácido 4-piperidin-1-ilbenzoico (96 mg, 0,47 mmoles), (S)(+)-1-(2-pirrolidinilmetil)pirrolidina (86 mg, 0,56 mmoles) y PS-carbodiimida (424 mg, 0,56 mmoles) en el vial de reacción con DMF al 5% en diclorometano (5 ml) y se mezcló bien. Se selló el vial de reacción con un tapón de Teflón y se agitó a temperatura ambiente durante 3 días. Se filtró la mezcla de reacción y se lavó con diclorometano. Se concentró el líquido filtrado y se purificó el residuo resultante por cromatografía de columna sobre gel de sílice ($CH_2Cl_2:NH_3$ 2 M en MeOH = 45:1) para dar 50 mg (31%) del compuesto del título. MS (APCI+) 342 (M+H)+.

Ejemplo 7

N,N-Dipropil-4-(2-(S)-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-carbonil)-bencenosulfonamida



Se preparó el compuesto del título a partir de ácido 4-dipropilsulfanilbenzoico de una manera sustancialmente similar al Procedimiento B. MS (APCI+) 422 (M+H)+.

Compuesto intermedio 4

Ácido 4-(piperidin-1-sulfonil)-benzoico

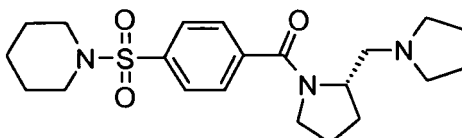
Procedimiento F:

Se disolvió ácido 4-(clorosulfonil)benzoico (CAS 10130-89-9) (441 mg, 2,0 mmoles) y trietilamina (202 mg, 2,0 mmoles) en diclorometano (20 ml) y se agitó bajo nitrógeno mientras se añadía piperidina (340 mg, 4,0 mmoles) en diclorometano (5 ml) a la mezcla a temperatura ambiente. Después de 18 h se concentró la mezcla de reacción. Se

puso en suspensión acuosa el material bruto en NaHCO_3 , acuoso, se lavó con dietil éter y se separó. Se añadió acetato de etilo a la capa acuosa y se ajustó el pH a 2 con HCl 1 N. Se separaron las capas y se extrajo la capa acuosa con EtOAc (2x). Se combinaron los extractos de EtOAc , se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y se evaporó. Se purificó el residuo por cromatografía de columna de gel de sílice (gradiente $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 0-8%) para proporcionar 350 mg (65%) del compuesto del título. MS (ES+) 270,1 (M+H)⁺.

Ejemplo 18

4-(Piperidin-1-sulfonil)-fenil-(2-(S)-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-il)-metanona



Procedimiento G:

Se agita ácido 4-(piperidin-1-sulfonil)-benzoico (323 mg, 1,2 mmoles) en $\text{DMF}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ al 10% se añade poco a poco como hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-carbodiimida (EDCI) (287 mg, 1,5 mmoles). Se añade hidroxibenzotriazol (203 mg, 1,5 mmoles) y se agita la reacción a temperatura ambiente durante 30-40 min. Se añade N,N-diisopropiletilamina (0,47 ml, 2,7 mmoles) y (S)(+)-1-(2-pirrolidinilmetil)pirrolidina (CAS 51207-66-0) (154 mg, 1,0 mmol) y se agita la reacción 18 h. Se diluye la reacción con CH_2Cl_2 , se lava con NaHCO_3 acuoso y salmuera, se seca (Na_2SO_4) y se concentra a vacío. Se purifica la mezcla bruta por cromatografía SCX (lavado con MeOH , después elución con NH_3 2 M/ MeOH) y cromatografía sobre columna de gel de sílice (gradiente: CH_2Cl_2 al 100% a NH_3 2 M al 10% en $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$) para proporcionar 250 mg (61%) del compuesto del título. MS (ES+) 406,2 (M+H)⁺.

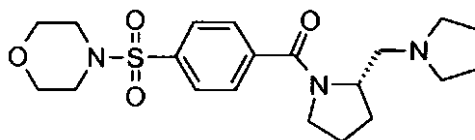
Compuesto intermedio 5

Ácido 4-(morfolino-4-sulfonil)-benzoico

Se prepara el compuesto intermedio del título a partir de ácido 4-(clorosulfonil)benzoico (CAS 10130-89-9) (662 mg, 3,0 mmoles) y morfolina (522 mg, 6,0 mmoles) de una manera sustancialmente similar al Procedimiento F para proporcionar 450 mg (55%) del compuesto del título. MS (ES+) 272,3.(M+H)⁺.

Ejemplo 19

4-(Morfolino-4-sulfonil)-fenil-(2-(S)-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-il)-metanona



Se prepara el compuesto del título a partir de ácido 4-(morfolino-4-sulfonil)-benzoico (407 mg, 1,5 mmoles) y (S)(+)-1-(2-pirrolidinilmetil)pirrolidina (CAS 51207-66-0) (193 mg, 1,2 mmoles) de una manera sustancialmente similar al Procedimiento G para proporcionar 175 mg (34%) del compuesto del título. MS(ES+) 408,3 (M+H)⁺.

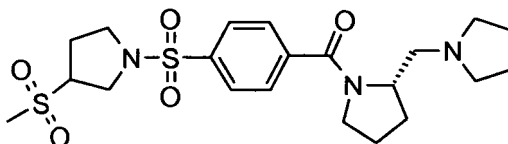
Compuesto intermedio 6

Ácido 4-(3-metanosulfonil-pirrolidin-1-sulfonil)-benzoico

Se prepara el compuesto intermedio del título a partir de ácido 4-(clorosulfonil)benzoico (CAS 10130-89-9) (375 mg, 1,7 mmoles) y 3-(metilsulfonil)pirrolidina (CAS 433980-62-2) (343 mg, 2,3 mmoles) de una manera sustancialmente similar al Procedimiento F para proporcionar 250 mg (44%) del compuesto del título. MS (ES-) 332,0.(M-H)⁻.

Ejemplo 20

4-(3-Metanosulfonil-pirrolidin-1-sulfonil)-fenil-(2-(S)-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-il)-metanona



Se prepara el compuesto del título a partir de ácido 4-(3-metanosulfonyl-pirrolidin-1-sulfonyl)-benzoico (230 mg, 0,69 mmoles) y (S)(+)-1-(2-pirrolidinilmetil)pirrolidina (CAS 51207-66-0)(88 mg, 0,57 mmoles) de una manera sustancialmente similar al Procedimiento G para proporcionar 133 mg (50%) del compuesto del título. MS(ES+) 470,2 (M+ H)+.

El tiempo óptimo para realizar las reacciones de los Esquemas, Preparaciones y Procedimientos se puede determinar controlando el progreso de la reacción mediante técnicas cromatográficas convencionales. El experto apreciará que no todos los ingredientes son compatibles con todas las condiciones de reacción. Estos compuestos pueden ser protegidos o modificados en un punto conveniente en la síntesis por métodos conocidos en la técnica. (Por ejemplo, véase: Greene and Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, Tercera Edición, John Wiley and Sons Inc., 1.999). Además, se prefiere conducir las reacciones de la invención bajo una atmósfera inerte, tal como, por ejemplo, argón, o particularmente, nitrógeno. La elección de disolvente en general no es crítica siempre que el disolvente empleado sea inerte para la reacción en marcha y solubiliza lo suficiente los agentes reaccionantes para efectuar la reacción deseada. Los compuestos se aíslan preferiblemente y se purifican antes de su uso en reacciones posteriores. Algunos compuestos se pueden cristalizar de la disolución de reacción durante su formación y se recogen después por filtración o se puede retirar el disolvente de la reacción por extracción, evaporación o decantación. Los compuestos intermedios y los productos finales de Fórmula I se pueden purificar además, si se desea por técnicas comunes tales como recristalización o cromatografía sobre soportes sólidos tales como gel de sílice o alúmina.

Preferiblemente, el compuesto se administra por vía oral. Preferiblemente, la preparación farmacéutica está en una forma de administración unitaria. En tal forma, la preparación se subdivide en dosis unitarias de tamaño apropiado que contienen cantidades apropiadas de los componentes activos, por ejemplo, una cantidad eficaz para conseguir el fin deseado. La cantidad de la composición activa inventiva en una dosis unitaria de preparación se puede variar en general o ajustar a partir de aproximadamente 0,01 miligramos a aproximadamente 1.000 miligramos, preferiblemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 950 miligramos, más preferiblemente de aproximadamente 0,01 a aproximadamente 500 miligramos y típicamente de aproximadamente 1 a aproximadamente 250 miligramos, según la aplicación particular. La dosis real empleada se puede variar dependiendo de la edad del paciente, el sexo, peso y gravedad de la afección que se esté tratando. Tales técnicas son conocidas para los expertos en la materia. En general, la forma farmacéutica oral humana que contiene los ingredientes activos se puede administrar 1 ó 2 veces al día.

Las composiciones de la invención se pueden formular de manera que se proporcione liberación rápida, prolongada o retardada del ingrediente activo después de administración al paciente. Formas farmacéuticas adecuadas para liberación prolongada incluyen comprimidos estratificados que contienen capas de velocidad de disgregación variables o matrices poliméricas de liberación controlada impregnadas con los componentes activos y conformados en forma de comprimidos o cápsulas que contienen tales matrices poliméricas porosas encapsuladas.

Las sales farmacéuticamente aceptables y la metodología común para prepararlas son conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, P. Stahl, et al., HANDBOOK OF PHARMACEUTICAL SALTS: PROPERTIES, SELECTION AND USE, (VCHA/ Wiley-VCH, 2.002); S. M. Berge, et al., "Pharmaceutical Salts," Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 66, N° 1, enero de 1.977. Los compuestos de la presente invención se formulan preferiblemente como composiciones farmacéuticas administradas por una variedad de rutas. Lo más preferiblemente, tales composiciones son para administración oral. Tales composiciones farmacéuticas y procedimientos para prepararlas son conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, REMINGTON: THE SCIENCE AND PRACTICE OF PHARMACY (A. Gennaro, et al., eds., 19ª ed., Mack Publishing Co., 1.995).

Aunque se conoce en la técnica una serie de antagonistas H3R, ninguno ha demostrado ser satisfactorio para la obesidad o fármacos cognitivos. Hay pruebas crecientes de que la histamina desempeña un papel importante en la homeostasis de la energía. La histamina, que actúa como neurotransmisor en el hipotálamo, suprime el apetito. La histamina es una amina casi ubicua encontrada en muchos tipos de células y se une a una familia de receptores acoplados a proteína G (los GPCR). Esta familia proporciona un mecanismo por el que la histamina puede provocar distintas respuestas celulares basadas en la distribución de receptor. Tanto el H1R como el H2R están ampliamente distribuidos. H3R se expresa principalmente en el cerebro, especialmente en el tálamo y núcleo caudado. Se encontró alta densidad de expresión de H3R en el centro de alimentación del cerebro. Recientemente se ha identificado un receptor de histamina nuevo GPRv53. Se encontró GPRv53 en altos niveles en glóbulos blancos periféricos; Sólo se han identificado niveles bajos en el cerebro por algunos investigadores mientras otros no pueden detectarlo en el cerebro. Sin embargo, cualquier esfuerzo de descubrimiento de fármacos iniciado alrededor de H3R debe considerar GPRv53 así como los otros subtipos.

Los compuestos de la presente invención se pueden evaluar fácilmente usando un Ensayo de Proximidad por

Centelleo (SPA) de inhibición competitiva basado en un ensayo de unión H3R usando [3H] α metilhistamina como ligando. Se pueden transfectar líneas celulares estables, incluyendo pero no limitándose a HEK para preparar membranas usadas para el ensayo de unión. La técnica se ilustra a continuación (Preparación de Membranas del Subtipo de Receptor de Histamina) para los subtipos de receptores de histamina.

Se usan membranas aisladas como se describe en (Preparación de Membranas de Subtipo de Receptor de Histamina) en un ensayo funcional de [35S]GTP γ S. La unión de [35S]GTP γ S a membranas indica actividad agonista. Se ensaya en compuestos de la invención de Fórmula I su capacidad para inhibir la unión en presencia de agonistas. Alternativamente, se usan las mismas líneas celulares transfectadas para un ensayo cAMP en el que agonistas H3R inhibían la síntesis activada de forskolina de cAMP. Se ensaya en compuestos de Fórmula I su capacidad para permitir la síntesis de cAMP estimulada por forskolina en presencia de agonista.

A. Preparación de membranas H1R:

Se clona ADNc para el receptor de histamina 1 humana (H1R) en un vector de expresión de mamíferos que contiene el promotor CMV (ADNpc3,1(+), Invitrogen) y se transfectó en células HEK293 usando el Reactivo de Transfección FuGENE (Roche Diagnostics Corporation). Se seleccionan células transfectadas usando G418 (500 μ l/ml). Se cultivan colonias que sobreviven a la selección y se ensaya la unión de histamina a células cultivadas en placas de 96 pozos usando un ensayo de unión de radioligando basado en ensayo de proximidad por centelleo (SPA). En resumen, se cultivan células que representan clones seleccionados individuales como monocapas confluentes en placas de 96 pozos (Costar Clear Bottom Plates, #3632) mediante pozos de siembra con 25.000 células y que se cultivan durante 48 horas (37°C, CO₂ al 5%). Se retiró medio de crecimiento y se enjuagaron los pozos dos veces con PBS (menos Ca²⁺ o Mg²⁺). Para unión total, se ensayaron células en una reacción de SPA que contenía Tris-HCl 50 mM (tampón de ensayo), pH 7,6, 1 mg de perlas SPA de aglutinina de germen de trigo (Amersham Pharmacia Biotech, #RPNQ0001), y ³H-pirilamina 0,8 nM (Net-594, NEN) (volumen total por pozo = 200 μ l). Se añadió astemizol (10 μ M, Sigma #A6424) a pozos apropiados para determinar unión no específica. Se cubrieron las placas con FasCal y se incubaron a temperatura ambiente durante 120 minutos. Después de incubación, se centrifugaron las placas a 1.000 rpm (~800 g) durante 10 minutos a temperatura ambiente. Las placas se contaron en un contador de centelleo Microbeta Wallac Trilux 1450. Se seleccionaron varios clones como positivos para unión y se usó un único clon (H1R40) para preparar membranas para estudios de unión. Se volvieron a suspender gránulos de células, que representaban ~10 gramos, en 30 ml de tampón de ensayo, se mezcló por agitador vortical y se centrifugó (40.000 g a 4°C) durante 10 minutos. La suspensión de nuevo del gránulo, agitación vortical y centrifugación se repitió 2 veces más. El gránulo final de células se volvió a suspender en 30 ml y se homogeneizó con un Homogeneizador de Tejidos Polytron. Se hicieron determinaciones de proteínas usando el reactivo de Ensayo de Proteínas Coomassie Plus (Pierce). Se usaron cinco microgramos de proteína por pozo en el ensayo de unión a receptor SPA.

B. Preparación de membranas H2R:

Se clona ADNc para el receptor de histamina 2 humano, se expresó y se transfectó en células HEK293 como se describió anteriormente. Se ensaya la unión de histamina a células por SPA descrito anteriormente. Para unión total, se ensayaron células en una reacción SPA que contenía Tris-HCl 50 mM (tampón de ensayo), pH 7,6, 1 mg de perlas SPA con aglutinina de germen de trigo (Amersham Pharmacia Biotech, #RPNQ0001), y ³H-tiotidina 6,2 nM (Net-688, NEN) (volumen total por pozo = 200 μ l). Se añadió cimetidina (10 μ M, Sigma #C4522) a pozos apropiados para determinar unión no específica.

Se seleccionan varios clones como positivos para unión y se usa un sólo clon (H2R10) para preparar membranas para estudios de unión. Se usaron cinco microgramos de proteína por pozo en el ensayo de unión a receptor SPA.

C. Preparación de membranas H3R:

Se clona ADNc para el receptor de histamina 3 humano y se expresa como se describe en (A. Preparación de membranas H1R), anteriormente. Se seleccionan células transfectadas usando G418 (500 μ l/ml), se cultivan y se ensaya la unión de histamina por el SPA descrito anteriormente. Para unión total, se ensayaron células en una reacción SPA descrita anteriormente que contenía Tris-HCl 50 mM (tampón de ensayo), pH 7,6, 1 mg de perlas SPA con aglutinina de germen de trigo (Amersham Pharmacia Biotech, #RPNQ0001), y (³H)-n-alfa-metilhistamina 1 nM (NEN, NET1027) (volumen total por pozo = 200 μ l). Se añade tioperimida para determinar unión no específica. Se seleccionan varios clones como positivos para unión y se usa un sólo clon (H3R8) para preparar membranas para estudios de unión descritos anteriormente. Se usaron cinco microgramos de proteína por pozo en el ensayo de unión a receptor SPA.

Los compuestos según la invención presentan preferiblemente un valor Ki no mayor que 5 μ M cuando se determina por el Ensayo de Unión de Receptor H3 de Histamina descrito en la presente memoria. Más preferiblemente, los compuestos según la invención presentan un valor Ki menor que 1 μ M. Todos los compuestos indicados en los ejemplos presentan un Ki para el receptor H3 menor que 1 μ M. Preferiblemente, los compuestos de la invención presentan un valor Ki menor que 500 nM e incluso es más preferido menor que 100 nM cuando se determina por el Ensayo de Unión de Receptor H3 de Histamina descrito en la presente memoria. Los compuestos más preferidos de

la invención presentan afinidad por el receptor H3 mayor que 20 nM. Además, los compuestos según la invención presentan preferiblemente una afinidad de unión mayor al receptor H3 de histamina que al receptor GPRv53.

D. Preparación de Membranas GPRv53

- 5 Se clona ADNc para el receptor GPRv53 humano y se expresa como se describe en (A. Preparación de membranas H1R), anterior. Se seleccionan células transinfectadas, se ensaya la unión de histamina y se selecciona. Se cultivan 50 células HEK293 GPRv53 para confluencia en DMEM/F12 (Gibco) enriquecido con FBS al 5% y 500 ug/ml G418 y se lava con PBS de Delbecco (Gibco) y se recogen por arrastre. Se homogeneizan las células completas con un Polytron tissuemizer en tampón de unión, Tris 50 mM pH 7,5. Se incuban lisados de células, 50 ug, en placas de 96 pozos con Histamina (3H) 3 nM y compuestos en tampón de unión durante 2 horas a temperatura ambiente. Se filtran lisados por filtros de fibra de vidrio (Perkin Elmer) con un recogedor de células Tomtec. Se cuentan los filtros con láminas de centelleo en fundido (Perkin Elmer) en un contador de Centelleo Wallac Trilux 1450 Microbeta durante 5 minutos.

Resultados Farmacológicos

cAMP ELISA

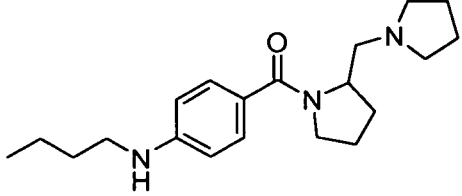
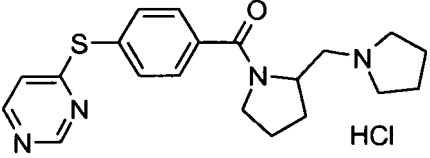
- 15 Se siembran células HEK293 H3R8 preparadas como se describió anteriormente a una densidad de 50.000 células/pozo y se cultivan durante la noche en DMEM/F12 (Gibco) enriquecido con FBS al 5% y 500 ug/ml G418. Al día siguiente se retiró el medio de cultivo de tejidos y se reemplazó con 50 µl de medio de cultivo celular que contenía 3-isobutil-1-metilxantina (Sigma) 4 mM y se incubó durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se añadió antagonista en 50 µl de medio de cultivo de células y se incubó durante 20 minutos a temperatura ambiente.
- 20 Después se añadió agonista R (-)-α metilhistamina (RBI) a una respuesta a la dosis de 1×10^{-10} a 1×10^{-5} M a los pozos en 50 µl de medio de cultivo de células y se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente. Después se añadieron a cada pozo 50 µl de medio de cultivo de células que contenía Forskolina 20 µM (Sigma) y se incubó durante 20 minutos a temperatura ambiente. Se retiró medio de cultivo de tejidos y se lisaron células en HCl 0,1 M y se midió cAMP por ELISA (Assay Designs, Inc.).

25 Ensayo de Unión [³⁵S] GTPγ[S]

- Se ensaya la actividad antagonista de compuestos seleccionados para inhibición de unión [³⁵S] GTPγ[S] a membranas H3R en presencia de agonistas. Los ensayos se realizan a temperatura ambiente en HEPES 20 mM, NaCl 100 mM, MgCl₂ 5 mM y GDP 10 uM a pH 7,4 en un volumen final de 200 ul en placas Costar de 96 pozos. Se añaden a cada pozo membranas de línea celular HEK293 que expresan H3R8 (20 ug/pozo) y GDP en un volumen
- 30 de 50 µl de tampón de ensayo. Después se añade antagonista a los pozos en un volumen de 50 µl de tampón de ensayo y se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente. Después se añade agonista R(-) alfa metilhistamina (RBI) o a una respuesta a la dosis de 1×10^{-10} a 1×10^{-5} M o una concentración fijada de 100 nM en un volumen de 50 µl de tampón de ensayo y se incubó durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se añadió a cada pozo GTP γ [³⁵S] en un volumen de 50 µl de tampón de ensayo a una concentración final de 200 pM, seguido por adición de 50 µl de perlas SPA recubiertas de WGA 20 mg/ml (Amersham). Se recomptaron las placas en contador de centelleo Wallac Trilux 1450 Microbeta durante 1 minuto. Se diluyeron en serie compuestos que inhibieron más del 50% de la unión específica de ligando radioactivo al receptor para determinar un K_i (nM).
- 35

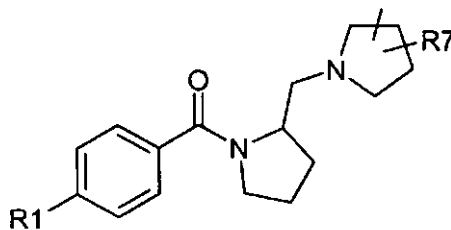
Los K_i en el H3R humano se proporcionan a continuación para el compuesto indicado.

Tabla 2:

Ejemplos de Referencia	Ki (nM)
	21,6
	11,7

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto representado estructuralmente por la Fórmula I:



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

5 R1 es independientemente -SO₂N(R₂)(R₃), -SO₂-N-pirrolidini (en el que la pirrolidina está opcionalmente sustituida con R₄), -SO₂-N-piperidini (en el que la piperidina está opcionalmente sustituida con R₄) o -SO₂-N-morfolinilo

R2 es independientemente -H o alquilo (C₁-C₄) (opcionalmente sustituido con uno a tres halógenos);

10 R3 es independientemente alquilo (C₁-C₆) (opcionalmente sustituido con uno a tres halógenos), -[alquilen (C₂-C₄)]-N- pirrolidinilo, -[alquilen (C₂-C₄)]-N-piperidinilo, -[alquilen (C₂-C₄)]-N-morfolinilo, -[alquilen (C₁-C₄)]-2-piridinilo, -[alquilen (C₁-C₄)]-3-piridinilo o -[alquilen (C₁-C₄)]-4-piridinilo;

R4 es independientemente -CH₃, -CF₃, -CN o -SO₂CH₃;

R6 es independientemente -H o -alquilo (C₁-C₃) (opcionalmente sustituido con uno a tres halógenos); y

R7 es independientemente -H o -alquilo (C₁-C₃) (opcionalmente sustituido con uno a tres halógenos).

15 2. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R⁶ y R⁷ son -H o -CH₃.

3. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R⁶ es -CH₃ y R⁷ es -H.

4. El compuesto según la reivindicación 1, en el que R⁶ es -H y R⁷ es -H.

5. El compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en las fórmulas X7, X17, X18 y X19:

Número Fórmula	Estructura
X7	
X17	
X18	

(continúa)

Número Fórmula	Estructura
X19	

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. El compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:

N,N-Dipropil-4-(2-(S)-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-carbonil)-bencenosulfonamida;

5 4-(Piperidin-1-sulfonyl)-fenil-(2-(S)-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-il)-metanona;

4-(Morfolin-4-sulfonyl)-fenil-(2-(S)-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-il)-metanona;

4-(3-Metanosulfonyl-pirrolidin-1-sulfonyl)-fenil-(2-(S)-pirrolidin-1-ilmetil-pirrolidin-1-il)-metanona;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1-6, y un portador farmacéuticamente aceptable.

8. Un compuesto de Fórmula I o una sal del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para su uso en terapia.

9. Un compuesto de Fórmula I o una sal del mismo, según una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, para su uso en el tratamiento de la obesidad.