

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 370 960**

51 Int. Cl.:
C07D 401/04 (2006.01)
A61K 31/4709 (2006.01)
A61P 1/00 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08855156 .9**
96 Fecha de presentación: **28.11.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2225222**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **08.09.2010**

54 Título: **UN DERIVADO DE QUINOLINA QUE ACTÚA COMO ANTAGONISTA DEL RECEPTOR P2X7.**

30 Prioridad:
30.11.2007 US 991265 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
26.12.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
26.12.2011

73 Titular/es:
ASTRAZENECA AB
ASTRAZENECA R&D CHARNWOOD BAKEWELL
ROAD
SÖDERTÄLJE 151 85, SE

72 Inventor/es:
GUILE, Simon, David y
THOMPSON, Toby

74 Agente: **de Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 370 960 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

Un derivado de quinolina que actúa como un antagonista del receptor P2X₇.

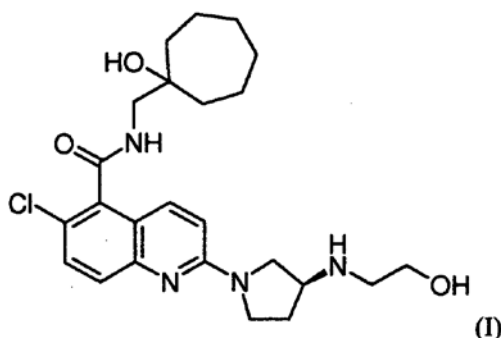
La presente invención se refiere a un derivado de quinolina, un procedimiento para su preparación, su uso en terapia, una composición farmacéutica que lo contiene y un procedimiento para preparar una composición farmacéutica.

El receptor P2X₇ (previamente conocido como receptor P2Z), que es un canal iónico regulado por ligando, está presente en una variedad de tipos de células, en la mayoría de las que se sabe que están implicadas en procesos inflamatorios/inmunitarios, específicamente macrófagos, mastocitos y linfocitos (T y B). La activación del receptor P2X₇ por nucleótidos extracelulares, en particular trifosfato de adenosina, conduce a la liberación de interleuquina-1 β (IL-1 β) y a la formación de células gigantes (macrófagos/células microgliales), desgranulación (mastocitos) y proliferación (linfocitos T) y apoptosis y liberación de L-selectina (linfocitos). Los receptores P2X₇ también están localizados en células presentadoras de antígeno (APC), queratinocitos, células acinares de glándulas salivales (células de glándulas parótidas), hepatocitos y células mesangiales. Sería deseable preparar compuestos eficaces como antagonistas del receptor P2X₇ para usar en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, inmunitarias o cardiovasculares, en etiologías en las que el receptor P2X₇ puede tener una función.

Una propiedad importante para un fármaco que actúa como un antagonista del receptor P2X₇ es que tenga potencia alta. Además, también es deseable que dichos fármacos tengan una selectividad y propiedades farmacocinéticas buenas con el fin de potenciar más la eficacia del fármaco. Como ejemplo, puede ser ventajoso para dichos fármacos presentar actividad baja frente al canal de potasio codificado por el gen relacionado con éter-a-go-go humano (hERG). En relación con esto, la actividad baja frente a la unión de hERG in vitro indica una actividad baja in vivo.

Los antagonistas de P2X₇ que comprenden grupos quinolinilo son conocidos de los documentos WO2003/080579, WO2004/106305, WO2005/009968 y WO2006/059945. Ahora se ha encontrado sorprendentemente que un compuesto abarcado de forma genérica dentro de la clase de compuestos descritos en el documento WO2004/106305, presenta propiedades farmacéuticas ventajosas. Por ejemplo, además de tener una potencia alta, el compuesto de la presente invención presenta actividad muy baja frente a la unión de hERG, potenciando su idoneidad para usar como un producto farmacéutico.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona, por lo tanto, un compuesto de fórmula (I),



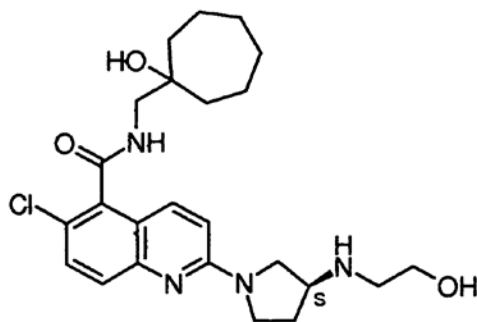
o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

Se entenderá que el compuesto de la presente invención puede existir en las formas solvatada, por ejemplo hidratada, así como no solvatada. Hay que entender que la presente invención abarca todas dichas formas solvatadas.

El compuesto de la presente invención tiene una actividad antagonista de P2X₇ muy alta. Además, tiene una afinidad muy baja por el canal de potasio codificado por el gen relacionado con el éter-a-go-go humano (hERG), y por lo tanto es ventajoso en relación con los márgenes de seguridad.

Las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto de fórmula (I) incluyen, pero sin limitar, sales de adición de ácido tales como sal de hidrocloreuro, hidrobromuro, fosfato, acetato, fumarato, maleato, tartrato, citrato, oxalato, metanosulfonato o p-toluenosulfonato.

El compuesto de la presente invención comprende un centro quiral en la posición 3 del anillo de pirrolidinilo (es decir, en el átomo de carbono al que está unido directamente el sustituyente -NHCH₂CH₂OH). En la presente invención, la configuración estereoquímica en este centro quiral es (S), designada por el sistema de Cahn-Ingold-Prelog y como se representa en la siguiente estructura de fórmula (I).



Para evitar dudas, el estereoisómero (S) de la presente invención puede estar presente como una mezcla con el estereoisómero (R). Por ejemplo, el estereoisómero (S) puede estar presente en una mezcla 1:1 con el estereoisómero (R).

- 5 En una realización, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) que es ópticamente puro. En el contexto de la presente memoria descriptiva, la expresión ópticamente puro se define en términos de exceso enantiomérico (e.e.), que se calcula a partir de la relación de la diferencia entre las cantidades de los respectivos enantiómeros presentes y la suma de estas cantidades, expresado como porcentaje. Como ilustración, una preparación que contiene 95% de un enantiómero y 5% del otro enantiómero tiene un exceso enantiomérico (e.e.) de 90% [es decir, $(95-5)/(95+5) \times 100$]. De acuerdo con la presente invención, un compuesto ópticamente puro tiene un e.e. de al menos 90%. En una realización de la invención, un compuesto ópticamente puro tiene un e.e. de al menos 95%. En una realización adicional de la invención, un compuesto ópticamente puro tiene un e.e. de al menos 98%.

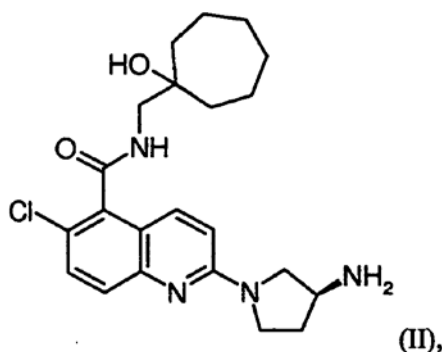
- 15 El nombre químico del compuesto de fórmula (I) es 6-cloro-N-[(1-hidroxicicloheptil)metil]-2-[(3S)-3-[(2-hidroxi-etil)amino]-pirrolidin-1-il]quinolina-5-carboxamida, determinado por el programa de nomenclatura IUPAC de ACD Labs, Toronto, Canadá.

En una realización de la invención, se proporciona un compuesto que es: 6-cloro-N-[(1-hidroxicicloheptil)metil]-2-[(3S)-3-[(2-hidroxi-etil)amino]-pirrolidin-1-il]quinolina-5-carboxamida, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable.

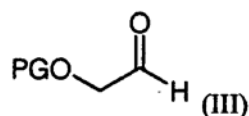
- 20 El compuesto de la presente invención puede ser anhídrido o estar en forma de un hidrato. Por consiguiente, una realización de la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) en forma de un hidrato. Cuando está en una forma hidratada, el contenido de agua del compuesto puede variar en función de la temperatura o la humedad relativa. Por ejemplo, el contenido de agua del compuesto en condiciones específicas (p. ej., un conjunto dado de temperatura/humedad relativa) puede ser hemi-, mono- o dihidrato, o el contenido de agua puede ser no estequiométrico. El contenido de agua de un material hidrato no estequiométrico de acuerdo con la presente invención, puede estar, por ejemplo, en el intervalo de 0,1% a 8% en p/p.

La presente invención proporciona además un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I) como se ha definido antes, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, que comprende:

- (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II)



- 30 con un compuesto de fórmula (III), en la que PG representa un grupo protector (p. ej., grupos protectores sililo tales como trietilsililo, *tert*-butildimetilsililo, éteres de bencilo tales como bencilo, para-metoxibencilo, 3,4-dimetoxibencilo y grupos protectores éster tales como acetato y benzoato),

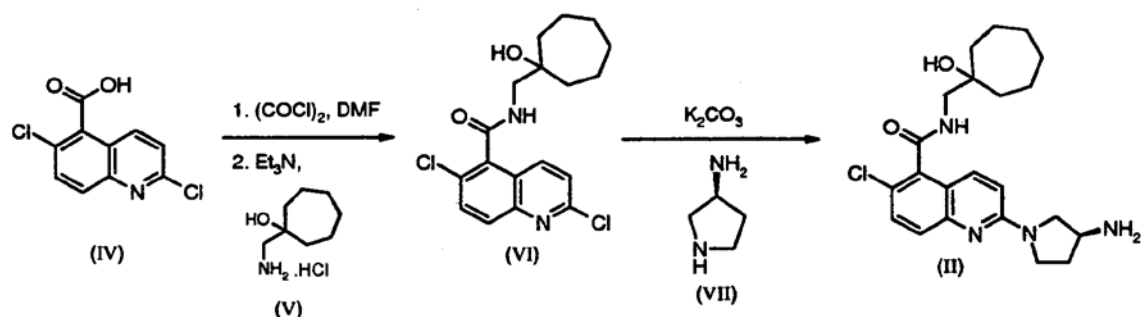


en condiciones de aminación reductora, y formando opcionalmente una sal del compuesto farmacéuticamente aceptable.

- 5 La reacción de (II) y (III) se puede llevar a cabo en disolventes orgánicos polares tales como metanol, etanol, diclorometano o N-metilpirrolidina, solo o combinado con ácido acético, en presencia de un agente de reducción adecuado tal como cianoborohidruro sódico, triacetoxiborohidruro sódico o borohidruro sódico. La reacción se puede llevar a cabo de forma conveniente a una temperatura en el intervalo de 0°C a 100°C, por ejemplo a 25°C.

Los compuestos de fórmula (III) están disponibles en el comercio, se conocen en la bibliografía o se pueden preparar usando técnicas conocidas para el experto en la materia.

- 10 Los compuestos de fórmula (II) se pueden preparar como se representa en el esquema 1.



Esquema 1

- 15 El ácido 2,6-dicloroquinolina-5-carboxílico (documento WO2004/106305) se convirtió en el correspondiente cloruro de ácido por tratamiento con cloruro de oxalilo y dimetilformamida en diclorometano a temperatura ambiente. El cloruro de ácido después se convirtió en la amida (VI) por adición a una disolución de 1-(aminometil)-cicloheptanol (V) (W.C. Vincek, C.S. Aldrich, R.T. Borchardt y G.L. Grunewald, *J. Med. Chem.*, 1981, 21(1), 7-12) en diclorometano. Después la amida (VI) se hizo reaccionar con (S)-3-aminopirrolidina (VII) (Alfa Aesar, ee 99%) en acetonitrilo a temperatura de reflujo en presencia de carbonato potásico para proporcionar la amina (II).

- 20 Los expertos en la técnica apreciarán que en los procedimientos de la presente invención, puede ser necesario proteger algunos grupos funcionales tales como grupos hidroxilo, carboxilo o amino en los reactivos de partida o compuestos intermedios, con grupos protectores. Por lo tanto, la preparación de los compuestos de fórmula (I) puede implicar en una determinada etapa la protección con y/o eliminación de uno o más grupos protectores. La protección y desprotección de grupos funcionales se describe en "Protective Groups in Organic Synthesis", 2ª edición, T.W. Greene y P.G.M. Wuts, Wiley-Interscience (1991) y "Protecting Groups", P.J. Kocienski, Georg Thieme Verlag (1994). Los compuestos de fórmula (I) anteriores se pueden convertir en una sal farmacéuticamente aceptable usando métodos convencionales.

- 30 El compuesto de la presente invención tiene una potencia, selectividad y propiedades farmacocinéticas beneficiosas. Por ejemplo, el compuesto de la presente invención tiene baja afinidad por el canal de potasio codificado por el gen relacionado con éter-a-go-go humano (hERG). En relación con esto, los fármacos que interactúan con el canal de potasio codificado por hERG y por consiguiente con el restablecimiento del potencial celular negativo por el eflujo de K⁺, pueden producir una prolongación del intervalo QT, conduciendo a un síndrome de QT largo adquirido (LQT) [M. C. Sanguinetti, C. Jiang, M. E. Curran, M. T. Keating, *Cell* 1995, 81, 299-307; y K. Finlayson et al., *Eur. J. Pharm.* 2004, 500, 129-142]. Esto, en consecuencia, puede inducir una arritmia potencialmente mortal, conocida como Torsade de Points (TdP) [W. Haferkamp et al., *Eur. Heart J.* 2000, 21, 1216-1331]. Por lo tanto, las nuevas entidades químicas, si no están dirigidas al uso cardiovascular, que carezcan de efectos en los canales cardiacos, y en particular en el canal de hERG, proporcionarán un perfil de seguridad mejorado y por lo tanto tendrán una ventaja terapéutica y reguladora frente a fármacos con efectos prolongadores del QT. Kiss et al (*Assay Drug Dev. Technol.* 2003, 1,127-135) describen un método para ensayar la capacidad de los compuestos para inhibir la actividad de canales iónicos tal como hERG. Springthorpe y Strandlund (documento WO 2005037052) describen un método para ensayar la capacidad de los compuestos para unirse a los canales de potasio IKr (hERG).

El compuesto de acuerdo con la presente invención, también presenta una biodisponibilidad oral aceptable, determinada por parámetros farmacocinéticos. El compuesto de acuerdo con la presente invención también presenta

una unión baja a proteínas plasmáticas. El compuesto de acuerdo con la presente invención también presenta una actividad baja en un cribado de fosfolipidosis in vitro.

El compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, puede ser beneficioso en el tratamiento de:

- 5 1. tracto respiratorio: enfermedades obstructivas de las vías aéreas incluyendo, asma, incluyendo asma bronquial, alérgico, intrínseco, extrínseco, inducido por el ejercicio, inducido por fármacos (incluyendo inducido por aspirina y por AINE) e inducido por el polvo, tanto intermitente como persistente y de todas las gravedades, y otras causas de hipersensibilidad de las vías aéreas; enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC); bronquitis, incluyendo bronquitis infecciosa y eosinofílica; enfisema; bronquiectasias; fibrosis quística; sarcoidosis; pulmón del granjero y enfermedades relacionadas; neumonitis por hipersensibilidad; fibrosis pulmonar, incluyendo alveolitis fibrosante criptogénica, neumonías intersticiales idiopáticas, fibrosis que complica la terapia antineoplásica e infección crónica, incluyendo tuberculosis y aspergilosis y otras infecciones fúngicas; complicaciones del trasplante pulmonar; vasculitis y trastornos tromboticos de la vasculatura pulmonar, e hipertensión pulmonar; actividad antitusiva incluyendo el tratamiento de la tos crónica asociada con afecciones inflamatorias y secretoras de las vías aéreas y tos iatrogénica; rinitis aguda y crónica incluyendo rinitis medicamentosa y rinitis vasomotora; rinitis alérgica perenne y estacional incluyendo la rinitis nerviosa (fiebre del heno); poliposis nasal; infección vírica aguda incluyendo el resfriado común y la infección debida a virus respiratorio sincitial, influenza, coronavirus (incluyendo SARS) y adenovirus;
- 10 2. huesos y articulaciones: artritis asociada con o incluyendo osteoartritis/osteoartrosis, tanto primarias como secundarias a, por ejemplo, displasia de cadera congénita; espondilitis cervical y lumbar, y lumbalgia y dolor de cuello; artritis reumatoide y enfermedad de Still; espondiloartropatías seronegativas incluyendo espondilitis anquilosante, artritis psoriática, artritis reactiva y espondiloartropatía no diferenciada; artritis séptica y otras artropatías relacionadas con infección y enfermedades óseas tales como tuberculosis, incluyendo enfermedad de Pott y síndrome de Poncet; sinovitis inducida por cristales aguda y crónica incluyendo gota por urato, enfermedad por depósito de pirofosfato cálcico y inflamación de tendón, bursa y sinovial relacionada con apatito cálcico; enfermedad de Behcet; síndrome de Sjorgen primario y secundario; esclerosis sistémica y escleroderma limitado; lupus eritematoso sistémico, enfermedad de tejido conjuntivo mixto y enfermedad de tejido conjuntivo no diferenciado; miopatías inflamatorias incluyendo dermatomiositis y poliomiocitis; polimialgia reumática; artritis juvenil incluyendo artritis inflamatorias idiopáticas de cualquier distribución articular y síndromes asociados, y fiebre reumática y sus complicaciones sistémicas; vasculitis incluyendo arteritis de células gigantes, arteritis de Takayasu, síndrome de Churg-Strauss, poliarteritis nodosa, poliarteritis microscópica, y vasculitis asociada con infección vírica, reacciones de hipersensibilidad, crioglobulinas y paraproteínas; lumbalgia; fiebre mediterránea familiar; síndrome de Muckle-Wells, y fiebre familiar de Hibernia, enfermedad de Kikuchi; artralgiyas inducidas por fármacos, tendinitis y miopatías;
- 20 3. dolor y reestructuración del tejido conjuntivo de trastornos musculoesqueléticos debidos a lesión (por ejemplo lesión deportiva) o enfermedad: artritis (por ejemplo artritis reumatoide, osteoartritis, artropatía por gota o cristales) otras enfermedades de articulaciones (tales como degeneración de discos intervertebrales o degeneración de la articular temporomandibular), enfermedad de reestructuración ósea (tales como osteoporosis, enfermedad de Paget o osteonecrosis), policondritis, escleroderma, trastornos del tejido conjuntivo mixto, espondiloartropatías o enfermedad periodontal (tal como periodontitis);
- 25 4. piel: psoriasis, dermatitis atópica, dermatitis de contacto u otras dermatosis eczematosas, y reacciones de hipersensibilidad retardada; fito y fotodermatitis; dermatitis seborreica, dermatitis herpetiforme, liquen plano, liquen escleroso y atrófico, pioderma gangrenoso, sarcoidosis cutánea, lupus eritematoso discoide, pénfigo, penfigoide, epidermolisis ampollosa, urticaria, angioedema, vasculitis, eritemas tóxicos, eosinofilia cutáneas, alopecia areata, calvicie de patrón masculino, síndrome de Sweet, síndrome de Weber-Christian, eritema multiforme; celulitis, tanto infecciosa como no infecciosa; paniculitis; linfomas cutáneos, cáncer de piel no melánico y otras lesiones displásicas; trastornos inducidos por fármacos, incluyendo erupciones fijas por fármacos;
- 30 5. ojos: blefaritis, conjuntivitis, incluyendo conjuntivitis alérgica perenne y vernal; iritis; uveítis anterior y posterior; coroiditis; trastornos autoinmunes, degenerativos o inflamatorios que afectan a la retina; oftalmitis incluyendo oftalmitis simpática; sarcoidosis; infecciones, incluyendo víricas, fúngicas y bacterianas;
- 35 6. tracto gastrointestinal: glositis, gingivitis, periodontitis; esofagitis, incluyendo el reflujo; gastroenteritis eosinofílica, mastocitosis, enfermedad de Crohn, colitis incluyendo la colitis ulcerosa, proctitis, prurito anal; enfermedad celiaca, síndrome del intestino irritable, y alergias relacionadas con alimentos que pueden tener efectos distantes del intestino (por ejemplo, migraña, rinitis o eccema);
- 40 7. abdominal: hepatitis, incluyendo autoinmune, alcohólica y vírica; fibrosis y cirrosis hepática; colecistitis; pancreatitis, tanto aguda como crónica;
- 45 8. genitourinario: nefritis incluyendo intersticial y glomerulonefritis; síndrome nefrótico; cistitis incluyendo cistitis aguda y crónica (intersticial) y úlcera de Hunner; uretritis aguda y crónica, prostatitis, epididimitis, ooforitis y

salpingitis; vulvovaginitis; enfermedad de Peyronie; disfunción eréctil (tanto masculina como femenina);

9. rechazo de aloinjerto: agudo y crónico después de, por ejemplo, trasplante de riñón, corazón, hígado, pulmón, médula ósea, piel o córnea, o después de una transfusión de sangre; o enfermedad crónica de injerto contra huésped;

- 5 10. SNC: enfermedad de Alzheimer y otras demencias como la ECJ y la nvECJ; amiloidosis; esclerosis múltiple y otros síndromes desmielinizantes; aterosclerosis cerebral y vasculitis; arteritis temporal; miastenia gravis; dolor agudo y crónico (agudo, intermitente o persistente, ya sea de origen central o periférico), incluyendo dolor visceral, dolor de cabeza, migraña, neuralgia del trigémino, dolor facial atípico, dolor en las articulaciones y los huesos, dolor que se origina en el cáncer y la invasión tumoral, síndromes de dolor neuropático incluyendo neuropatías diabética, post-herpética y asociadas al VIH; neurosarcoidosis; complicaciones de tumores malignos del sistema nervioso central y periférico, procesos infecciosos o autoinmunes;
- 10

11. otros trastornos autoinmunes y alérgicos incluyendo tiroiditis de Hashimoto, enfermedad de Graves, enfermedad de Addison, diabetes mellitus, púrpura trombocitopénica idiopática, fascitis eosinofílica, síndrome de hiper-IgE, síndrome antifosfolípido;

- 15 12. otros trastornos con un componente inflamatorio o inmunológico; incluyendo el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), lepra, síndrome de Sezary, y síndromes paraneoplásicos;

- 20 13. cardiovascular: aterosclerosis, que afecta a la circulación coronaria y periférica; pericarditis; miocarditis, miocardiopatías inflamatorias y autoinmunes incluyendo la sarcoidosis del miocardio; lesiones por isquemia y reperfusión; endocarditis, valvulitis y aortitis incluyendo infecciosa (por ejemplo, sífilis); vasculitis; trastornos de las venas proximales y periféricas incluyendo flebitis y trombosis, incluyendo trombosis venosa profunda y complicaciones de las varices;

- 25 14. oncología: tratamiento de cánceres comunes incluyendo tumores de próstata, mama, pulmón, ovario, páncreas, intestino y colon, estómago, piel y cerebro, y tumores malignos que afectan a la médula ósea (incluyendo las leucemias) y sistemas linfoproliferativos, tales como el linfoma de Hodgkin y no Hodgkin; incluyendo la prevención y el tratamiento de las recurrencias de la enfermedad metastásica y tumores, y síndromes paraneoplásicos; y,

15. tracto gastrointestinal: enfermedad celíaca, proctitis, gastroenteritis eosinofílica, mastocitosis, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, colitis microscópica, colitis indeterminada, trastorno del intestino irritable, síndrome del intestino irritable, diarrea no inflamatoria, alergias relacionados con alimentos que tienen efectos distantes del intestino, por ejemplo, migraña, rinitis y eczema.

- 30 Por consiguientes, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, como se ha definido en lo que antecede, para usar en terapia.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, como se ha definido en lo que antecede, para la fabricación de un medicamento para usar en terapia.

- 35 En el contexto de la presente memoria descriptiva, el término "terapia" también incluye "profilaxis" salvo que se indique específicamente lo contrario. Los términos "terapéutico" y "terapéuticamente" deben considerarse de acuerdo con esto.

En otro aspecto, la invención proporciona el compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, como se ha definido en lo que antecede, para el tratamiento de la artritis reumatoide.

- 40 En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, como se ha definido en lo que antecede, en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de la artritis reumatoide.

- 45 En otro aspecto, la invención proporciona el compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, como se ha definido en lo que antecede, para el tratamiento del asma o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, como se ha definido en lo que antecede, en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento del asma o la enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

- 50 En otro aspecto, la invención proporciona el compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, como se ha definido en lo que antecede, para el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino o enfermedad de Crohn.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, como se ha definido en lo que antecede, en la fabricación de un medicamento para

usar en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino o enfermedad de Crohn.

La invención también proporciona un método para tratar la artritis reumatoide, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, como se ha definido en lo que antecede.

- 5 La invención también proporciona un método para tratar una enfermedad obstructiva de las vías aéreas (p. ej., asma o EPOC), que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, como se ha definido en lo que antecede.

10 La invención también proporciona un método para tratar la enfermedad inflamatoria del intestino o enfermedad de Crohn, que comprende administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, como se ha definido en lo que antecede.

Con el fin de usar un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, para el tratamiento terapéutico de un animal de sangre caliente, tal como el hombre, dicho ingrediente normalmente se formula de acuerdo con la práctica farmacéutica habitual, en forma de una composición farmacéutica.

15 Por lo tanto, en otro aspecto la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable (principio activo), y un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar dicha composición, que comprende mezclar el principio activo con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Dependiendo del modo de administración, la composición farmacéutica comprenderá, por ejemplo, de 0,05 a 99% en peso (porcentaje en peso), tal como de 0,05 a 80% en peso, por ejemplo de 0,10 a 70% en peso, tal como de 0,10 a 50% en peso, del principio activo, basándose todos los porcentajes en peso en la composición total.

20

25 Las composiciones farmacéuticas de esta invención se pueden administrar de una forma estándar para el estado patológico que se desea tratar, por ejemplo por administración tópica (tal como al pulmón y/o vías aéreas o a la piel), oral, rectal o parenteral. Para estos propósitos, los compuestos de esta invención se pueden formular por medios conocidos en la técnica, en forma, por ejemplo, de aerosoles, formulaciones de polvo seco, comprimidos, cápsulas, jarabes, polvos, gránulos, disoluciones o suspensiones acuosas u oleosas, emulsiones (lípidos), polvos dispersables, supositorios, pomadas, cremas, gotas y disoluciones o suspensiones acuosas u oleosas inyectables estériles.

30 Una composición farmacéutica adecuada de esta invención es una adecuada para la administración oral en forma de dosificación unitaria, por ejemplo un comprimido o cápsula que contiene entre 0,1 mg y 1 g de principio activo.

35 En otro aspecto, una composición farmacéutica de la invención es una adecuada para la inyección intravenosa, subcutánea o intramuscular. Cada paciente puede recibir, por ejemplo, una dosis intravenosa, subcutánea o intramuscular de 0,01 mg.kg⁻¹ a 100 mg.kg⁻¹ del compuesto de esta invención, por ejemplo, en el intervalo de 0,1 mg.kg⁻¹ a 20 mg.kg⁻¹, administrándose la composición de 1 a 4 veces al día. La dosis intravenosa, subcutánea e intramuscular puede darse en forma de una inyección de bolo. Alternativamente, la dosis intravenosa se puede dar por una infusión continua a lo largo de un periodo de tiempo. Alternativamente, cada paciente recibirá una dosis oral diaria que es aproximadamente equivalente a la dosis parenteral diaria, administrándose la composición de 1 a 4 veces al día.

40 La invención se refiere además a las terapias de combinación, en las que un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, o una composición o formulación farmacéutica que comprende un compuesto de la invención, se administra de forma simultánea o secuencial o como una preparación combinada con otro agente o agentes terapéuticos, para el tratamiento de una o más de las afecciones listadas.

45 En particular, para el tratamiento de enfermedades inflamatorias tales como (pero sin restringir) la artritis reumatoide, osteoartritis, asma, rinitis alérgica, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), psoriasis y enfermedad inflamatoria del intestino, los compuestos de la invención se pueden combinar con los agentes listados a continuación.

50 Donadores de óxido nítrico que inhiben la ciclooxigenasa (CINOD); glucocorticosteroides (sea administrados por vía tópica, oral, intramuscular, intravenosa o intraarticular); metotrexato; leflunomida; hidroxicloquina; d-penicilamina; auranofina u otras preparaciones de oro parenterales u orales; analgésicos; diacereina; terapias intraarticulares tales como derivados del ácido hialurónico; y complementos nutricionales tales como glucosamina.

La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, junto con una citoquina o agonista o antagonista de la función de citoquina (incluyendo agentes que actúan en las rutas de señalización de citoquinas tales como moduladores del sistema SOCS) incluyendo alfa, beta y gamma-interferones; factor de crecimiento insulínico de tipo 1 (IGF-1).

55 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus

sales farmacéuticamente aceptable, con un modulador de la función de los receptores de quimioquinas tales como un antagonista de CCR1, CCR2, CCR2A, CCR2B, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CCR10 y CCR11 (para la familia C-C); CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4 y CXCR5 (para la familia C-X-C) y CX3CR1 para la familia C-X₃-C.

5 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, con un inhibidor de metaloproteasas de la matriz (MMP), es decir, las estromelinas, las colagenasas y las gelatinasas, así como agreganasa; en especial colagenasa-1 (MMP-1), colagenasa-2 (MMP-8), colagenasa-3 (MMP-13), estromelina-1 (MMP-3), estromelina-2 (MMP-10), y estromelina-3 (MMP-11) y MMP-9 y MMP-12, incluyendo agentes tales como doxiciclina.

10 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un inhibidor de la biosíntesis de leucotrienos, inhibidor de 5-lipooxigenasa (5-LO) o antagonista de la proteína activadora de la 5-lipooxigenasa (FLAP) tales como zileutón; ABT-761; fenleutón; tepoxalina; Abbott-79175; Abbott-85761; una N-(5-sustituido)-tiofeno-2-alquilsulfonamida; 2,6-di-terc-butilfenolhidrazonas; metoxitetrahidropiranos tales como Zeneca ZD-2138; el compuesto SB-210661; un compuesto de 2-cianonaftaleno sustituido con piridinilo tal como L-739.010; un compuesto de 2-cianoquinolina tal como L-746.530; o un compuesto de indol o quinolina tal como MK-591, MK-886, y BAY x 1005.

15 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un antagonista del receptor para leucotrienos (LT) B₄, LTC₄, LTD₄ y LTE₄ seleccionado del grupo que consiste en fenotiazina-3-1s tal como L-651.392; compuestos de amidino tales como CGS-25019c; benzoxalaminas tales como ontazolast; bencenocarboximidamidas tales como BIIL 284/260; y compuestos tales como zafirlukast, ablukast, montelukast, pranlukast, verlukast (MK-679), RG-12525, Ro-245913, iralukast (CGP 45715A), y BAY x 7195.

20 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un inhibidor de fosfodiesterasa (PDE) tal como una metilxantina incluyendo teofilina y aminofilina; un inhibidor selectivo de isoenzimas de PDE incluyendo un inhibidor de PDE₄, un inhibidor de la isoforma PDE_{4D} o un inhibidor de PDE₅.

25 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un antagonista del receptor de histamina de tipo 1, tales como cetirizina, loratadina, desloratadina, fexofenadina, acrivastina, terfenadina, astemizol, azelastina, levocabastina, clorfeniramina, prometazina, ciclizina o mizolastina; aplicado por vía oral, tópica o parenteral.

30 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un inhibidor de la bomba de protones (tales como el omeprazol) o un antagonista del receptor de histamina de tipo 2 gastroprotector.

35 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un antagonista del receptor de histamina de tipo 4.

40 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un agente simpaticomimético vasoconstrictor agonista del adrenoceptor alfa-1/alfa-2, tales como propilhexedrina, fenilefrina, fenilpropanolamina, efedrina, pseudoefedrina, hidrocloreuro de nafazolina, hidrocloreuro de oximetazolina, hidrocloreuro de tetrahidrozolina, hidrocloreuro de ximetazolina, hidrocloreuro de tramazolina o hidrocloreuro de etilnorepinefrina.

45 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un agente anticolinérgico incluyendo antagonistas del receptor muscarínico (M₁, M₂ y M₃) tales como atropina, hioscina, glicopirrolato, bromuro de ipratropio, bromuro de tiotropio, bromuro de oxitropio, pirenzepina o telenzepina.

50 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un agonista de beta-adrenoceptores (incluyendo receptores beta de subtipos 1-4) tales como isoprenalina, salbutamol, formoterol, salmeterol, terbutalina, orciprenalina, mesilato de bitolterol o pirbuterol, o uno de sus enantiómeros quirales.

55 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y una cromona, tal como cromoglicato de sodio o nedocromilo sódico.

La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, con un glucocorticoide, tal como flunisolida, acetónido de triamcinolona, dipropionato de beclometasona, budesónida, propionato de fluticasona, ciclesonida o furoato de mometasona.

La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, con un agente que modula un receptor nuclear hormonal tal como PPAR.

La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, junto con una inmunoglobulina (Ig) o preparación de Ig o un antagonista o anticuerpo que modula la función de Ig tal como anti-IgE (por ejemplo omalizumab).

5 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y otro agente antiinflamatorio sistémico o aplicado por vía tópica, tales como talidomida o un derivado de la misma, un retinoide, ditanol o calcipotriol.

10 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y combinaciones de aminosalicilatos y sulfapiridina tales como sulfasalazina, mesalazina, balsalazida y olsalazina; y agentes inmunomoduladores tales como tiopurinas, y corticosteroides tales como budesonida.

15 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, junto con un agente antibacteriano tal como un derivado de penicilina, una tetraciclina, un macrólido, una beta-lactama, una fluoroquinolona, metronidazol, un aminoglicósido inhalado; un agente antivírico incluyendo aciclovir, famciclovir, valaciclovir, ganciclovir, cidofovir, amantadina, rimantadina, ribavirina, zanamavir y oseltamavir; un inhibidor de proteasa tal como indinavir, nelfinavir, ritonavir y saquinavir; un inhibidor nucleósido de la transcriptasa inversa tal como didanosina, lamivudina, estavudina, zalcitabina o zidovudina; o un inhibidor no nucleósido de la transcriptasa inversa tal como nevirapina o efavirenz.

20 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un agente cardiovascular tal como un bloqueador del canal de calcio, un bloqueador beta-adrenoceptor, un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (ACE), un antagonista del receptor de angiotensina 2; un agente reductor de lípidos tales como una estatina o un fibrato; un modulador de la morfología de las células sanguíneas tales como pentoxifilina; trombolítico, o un anticoagulante tal como un inhibidor de la agregación de plaquetas.

25 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un agente del SNC tal como un antidepresivo (tal como sertralina), un fármaco antiparkinsoniano (tal como deprenil, L-dopa, ropinirol, pramipexol, un inhibidor de MAO-B tal como selegina y rasagilina, un inhibidor de COMT tal como tasmar, un inhibidor de A-2, un inhibidor de la recaptación de dopamina, un antagonista de NMDA, un agonista de nicotina, un agonista de dopamina o un inhibidor de la óxido nítrico sintasa neuronal), o un fármaco anti-Alzheimer tal como donepezil, rivastigmina, tacrina, un inhibidor de la COX-2, propentofilina o metrifonato.

30 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, y un agente para el tratamiento del dolor agudo o crónico, tal como un analgésico de acción central o periférica (por ejemplo un opiáceo o derivado del mismo), carbamazepina, fenitoína, valproato sódico, amitriptilina u otros agentes antidepresivos, paracetamol, o un agente antiinflamatorio no esteroideo.

35 La presente invención se refiere además a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, junto con un agente anestésico local aplicado por vía parenteral o tópica (incluyendo inhalado) tal como lignocaína o un derivado del mismo.

40 Un compuesto de la presente invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, también se puede usar en combinación con un agente antiosteoporosis incluyendo un agente hormonal tal como raloxefina o un bifosfonato tal como alendronato.

45 La presente invención se refiere además también a la combinación de un compuesto de la invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, junto con un: (i) inhibidor de triptasa; (ii) antagonista del factor activador de plaquetas (PAF); (iii) inhibidor de la enzima convertidora de interleuquina (ICE); (iv) inhibidor de IMPDH; (v) inhibidores de moléculas de adhesión incluyendo antagonista de VLA-4; (vi) catepsina; (vii) inhibidor de quinasa tal como un inhibidor de tirosina quinasa (tal como Btk, Itk, Jak3 o MAP, por ejemplo Gefitinib o mesilato de Imatinib), una serina / treonina quinasa (tal como un inhibidor de una MAP quinasa tal como p38, JNK, proteína quinasa A, B o C, o IKK), o una quinasa implicada en la regulación del ciclo celular (tal como una quinasa dependiente de ciclina); (viii) inhibidor de la glucosa-6 fosfato deshidrogenasa; (ix) antagonista de receptores de quinina B1 o B2; (x) agente anti-gota, por ejemplo colchicina; (xi) inhibidor de la xantina oxidasa, por ejemplo alopurinol; (xii) agente uricosúrico, por ejemplo probenecida, sulfipirazona o benzbromarona; (xiii) secretagogo de hormonas del crecimiento; (xiv) factor de crecimiento transformante (TGF β); (xv) factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF); (xvi) factor de crecimiento de fibroblastos, por ejemplo, factor de crecimiento de fibroblastos básico (bFGF); (xvii) crema de capsaicina; (xviii) antagonista del receptor de taquiquina NK1 o NK3 tal como NKP-608C, SB-233412 (talnetant) o D-4418; (xix) inhibidor de elastasa tal como UT-77 o ZD-0892; (xx) inhibidor de óxido nítrico sintasa inducida (iNOS); (xxi) molécula homóloga de receptores de quimioattractores expresada en células TH2, (tal como un antagonista de CRTH2); (xxii) inhibidor de P38; (xxiii) agente modulador de la función de receptores similares a Toll (TLR), (xxiv) agente modulador de la actividad de otro receptor purinérgico; o (xxv) inhibidor de la activación del factor de

transcripción tal como NFκB, API, o STATS.

Un compuesto de la presente invención, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, también se puede usar en combinación con un agente terapéutico existente para el tratamiento del cáncer, por ejemplo, los agentes adecuados incluyen:

- 5 (i) un fármaco antiproliferativo/antineoplásico o una combinación de los mismos, usado en oncología médica, tal como un agente alquilante (por ejemplo, cis-platino, carboplatino, ciclofosfamida, mostaza nitrogenada, melfalán, clorambucilo, busulfán o una nitrosourea); un antimetabolito (por ejemplo, un antifolato tal como una fluoropirimidina como 5-fluorouracilo o tegafur, raltitrexed, metotrexato, arabinósido de citosina, hidroxiurea, gemcitabina o paclitaxel); un antibiótico antitumoral (por ejemplo, una antraciclina tal como adriamicina, bleomicina, doxorubicina, daunomicina, epirubicina, idarubicina, mitomicina-C, dactinomicina o mitramicina); un agente antimitótico (por ejemplo, un alcaloide de la vinca tal como vincristina, vinblastina, vindesina o vinorelbina, o un taxoide tal como taxol o taxotere); o un inhibidor de la topoisomerasa (por ejemplo una epipodofilotoxina tal como etopósido, tenipósido, amsacrina, topotecán o una camptotecina);
- 10 (ii) un agente citostático tal como antioestrógeno (por ejemplo, tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, droloxifeno o idoxifeno), un reductor de receptor de estrógenos (por ejemplo fulvestrant), un antiandrógeno (por ejemplo bicalutamida, flutamida, nilutamida o acetato de ciproterona), un antagonista de LHRH o un agonista de LHRH (por ejemplo goserelina, leuprorelina o buserelina), un progestágeno (por ejemplo acetato de megestrol), un inhibidor de aromatasas (por ejemplo como anastrozol, letrozol, vorazol o exemestano) o un inhibidor de 5α-reductasa tal como finasterida;
- 15 (iii) un agente que inhibe la invasión de células de cáncer (por ejemplo un inhibidor de metaloproteinasas como marimastat o un inhibidor de la función del receptor del activador de plasminógeno uroquinasa);
- (iv) un inhibidor de la función del factor de crecimiento, por ejemplo: un anticuerpo contra el factor de crecimiento (por ejemplo, el anticuerpo anti-erbB2 trastuzumab, o el anticuerpo anti-erbB1 cetuximab [C225]), un inhibidor de la farnesil transferasa, un inhibidor de la tirosina quinasa o un inhibidor de la serina/treonina quinasa, un inhibidor de la familia de factor de crecimiento epidérmico (por ejemplo, un inhibidor de la familia de receptores de tirosina quinasa EGFR tal como *N*-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-metoxi-6-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (gefitinib, AZD1839), *N*-(3-etinilfenil)-6,7-bis(2-metoxietoxi)quinazolin-4-amina (erlotinib, OSI-774) o 6-acrilamido-*N*-(3-cloro-4-fluorofenil)-7-(3-morfolinopropoxi)quinazolin-4-amina (CI 1033)), un inhibidor de la familia de factores de crecimiento derivados de plaquetas, o un inhibidor de la familia de factores de crecimiento de hepatocitos;
- 25 (v) un agente antiangiogénico tal como uno que inhibe los efectos del factor de crecimiento endotelial vascular (por ejemplo, el anticuerpo contra el factor de crecimiento celular endotelial vascular bevacizumab, un compuesto descrito en el documento WO 97/22596, WO 97/30035, WO 97/32856 o WO 98/13354), o un compuesto que funciona por otro mecanismo (por ejemplo linomida, un inhibidor de la función de la integrina αvβ3 o una angiostatina);
- 30 (vi) un agente de daño vascular tal como combretastatina A4, o un compuesto descrito en los documentos WO 99/02166, WO 00/40529, WO 00/41669, WO 01/92224, WO 02/04434 o WO 02/08213;
- (vii) un agente usado en la terapia génica antisentido, por ejemplo uno dirigido a una de las dianas listadas antes, tal como ISIS 2503, un anti-ras antisentido;
- 40 (viii) un agente usado en un procedimiento de terapia génica, por ejemplo procedimientos para sustituir genes aberrantes tales como p53 aberrante o BRCA1 o BRCA2 aberrantes, procedimientos de GDEPT (terapia de profármaco enzimático dirigida a genes) tales como los que usan citosina desaminasa, timidina quinasa o una enzima nitrorreductasa bacteriana y procedimientos para aumentar la tolerancia del paciente a la quimioterapia o radioterapia, tal como terapia génica de resistencia a múltiples fármacos; o
- 45 (ix) un agente usado en un procedimiento inmunoterapéutico, por ejemplo procedimientos ex vivo e in vivo para aumentar la inmunogenicidad de las células tumorales del paciente, tal como transfección con citoquinas tales como interleuquina 2, interleuquina 4 o factor estimulador de la colonias de granulocitos y macrófagos, procedimientos para reducir la anergia de linfocitos T, procedimientos que usan células inmunitarias transfectadas tales como células dendríticas transfectadas con citoquinas, procedimientos que usan líneas de células tumorales transfectadas con citoquinas y procedimientos que usan anticuerpos antiidiopáticos.
- 50

La invención se explicará ahora por referencia al siguiente ejemplo ilustrativo. En el ejemplo, los espectros de RMN se midieron en un espectrómetro Varian Unit a una frecuencia de protones de 300 ó 400 MHz. Los espectros de MS se midieron en un espectrómetro Agilent 1100 MSD G1946D o un espectrómetro Hewlett Packard HP1100 MSD G1946A. Las separaciones por HPLC preparativa se llevaron a cabo usando una columna Waters Symmetry® o Xterra® usando ácido trifluoroacético acuoso al 0,1% : acetonitrilo acuoso al 0,1% : acetonitrilo o acetato amónico al 0,1% : acetonitrilo como eluyente. Las reacciones en microondas se llevaron a cabo en un microondas en modo único CEM Discover. Los compuestos y los compuestos intermedios se nombraron por el programa de

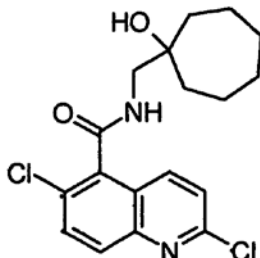
55

nomenclatura IUPAC de ACD Labs, Toronto, Canadá.

Ejemplo 1

6-Cloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]-2-[(3*S*)-3-[(2-hidroxi)etil]amino]-pirrolidin-1-il]quinolina-5-carboxamida

a) 2,6-Dicloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]quinolina-5-carboxamida



5

A una disolución agitada de ácido 2,6-dicloroquinolina-5-carboxílico (40,0 g) (documento WO2004/106305, Ejemplo 76, etapa b) en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente, en diclorometano (600 ml), se añadió gota a gota dimetilformamida (0,13 ml) y cloruro de oxalilo (36,2 ml) a lo largo de 2 horas en 3 porciones. Después, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla se concentró a vacío, se añadió diclorometano (400 ml) y la mezcla se añadió gota a gota a una disolución de hidrócloruro de 1-(aminometil)cicloheptanol (32,7 g) (W.C. Vincek, C.S. Aldrich, R.T. Borchardt y G.L. Grunewald, *J. Med. Chem.*, 1981, 21(1), 7-12) y trietilamina (69,1 ml) en diclorometano (600 ml) a 0°C a lo largo de 15 minutos. La mezcla se agitó durante 1 hora y después se añadió agua (400 ml). La mezcla se filtró a vacío y el sólido se lavó secuencialmente con agua (2 x 400 ml), acetonitrilo (400 ml) y éter dietílico (400 ml), y después se secó a vacío para proporcionar el producto del subtítulo en forma de un sólido incoloro (59,0 g).

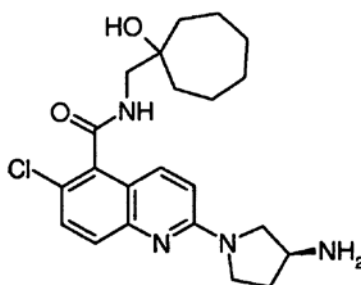
10

15

m/z 367 (M+H, 100%).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,24 (1H, d), 7,99 (1H, d), 7,70 (1H, d), 7,47 (1H, d), 6,52 - 6,42 (1H, m), 3,59 (2H, d), 1,87 - 1,44 (12H, m).

b) 2-[(3*S*)-3-Aminopirrolidin-1-il]-6-cloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]quinolina-5-carboxamida



20

Una mezcla de 2,6-dicloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]quinolina-5-carboxamida (100 g), carbonato potásico (83 g), (S)-3-aminopirrolidina (Alfa Aesar, 99% de ee) (41 ml) y acetonitrilo (1 litro) se calentó con agitación a 82°C en atmósfera de nitrógeno durante 8 horas. Después, la mezcla se dejó enfriar a temperatura ambiente, se vertió en agua (3,3 litros) y la mezcla se agitó durante 1 hora antes de filtrarla y lavarla con agua (2 x 300 ml) y acetonitrilo (200 ml), y se secó a vacío para dar el producto del subtítulo en forma de un sólido amarillo pálido (94,0 g).

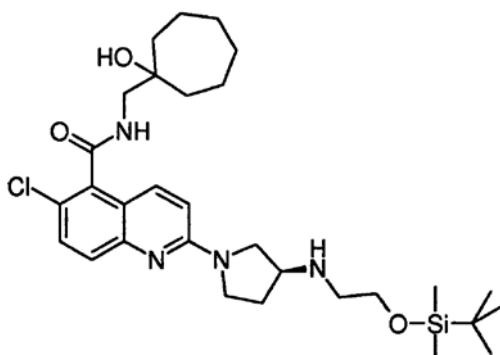
25

m/z 417 (M+H, 100%).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,88 (1H, d), 7,58 (1H, d), 7,36 (1H, d), 6,69 (1H, d), 6,64 (1H, t), 3,86 - 3,68 (3H, m), 3,67 - 3,58 (1H, m), 3,53 (2H, d), 3,36 - 3,27 (1H, m), 2,52 - 2,33 (1H, m), 2,30 - 2,16 (1H, m), 1,94 - 1,18 (13H, m).

30

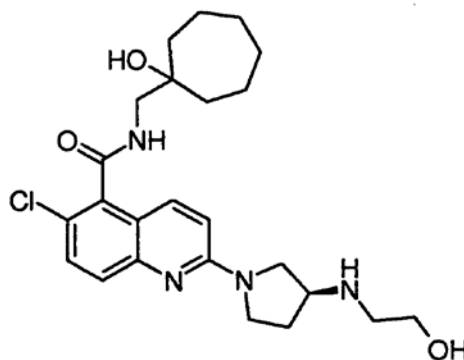
c) 2-[(3*S*)-3-[(2-[[*tert*-Butil(dimetil)silil]oxi)etil]amino]pirrolidin-1-il]-6-cloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]quinolina-5-carboxamida



5 La 2-[(3S)-3-aminopirrolidin-1-il]-6-cloro-N-[(1-hidroxicicloheptil)metil]-quinolina-5-carboxamida (17,6 g) se suspendió en diclorometano (300 ml) y se añadieron tamices moleculares (17,6 g) en atmósfera de nitrógeno. Se añadió gota a gota [[1,1-dimetiletil]-dimetilsilil]oxi]acetaldehído (7,2 ml) con agitación a lo largo de 5 minutos y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 horas. Se añadió triacetoxiborohidruro sódico (17,9 g) en una porción y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 17 horas más antes de añadir agua (10 ml), la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos, se concentró sobre sílice a vacío y se purificó por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, elución en gradiente de NH₃ en metanol 7 M: metanol : diclorometano 1:2:97 - 1:8:91) para proporcionar el producto del subtítulo en forma de un sólido incoloro (16,0 g). Las fracciones impuras (4,1 g) se volvieron a purificar por cromatografía en columna ultrarrápida (SiO₂, elución en gradiente de NH₃ en metanol 7 M : metanol : diclorometano 1:2:97 - 1:8:91) para proporcionar el producto del subtítulo en forma de un sólido incoloro (2,8 g). m/z 575 (M+H, 100%).

10 RMN ¹H (300 MHz, DMSO) δ 8,40 (1H, t), 7,77 (1H, d), 7,53 - 7,39 (2H, m), 6,91 (1H, d), 4,17 (1H, s), 3,78 - 3,00 (9H, m), 2,64 (2H, t), 2,14 - 2,00 (1H, m), 1,83 - 1,72 (1H, m), 1,70 - 1,26 (12H, m), 0,81 (9H, d), 0,00 (6H, s).

15 d) 6-Cloro-N-[(1-hidroxicicloheptil)metil]-2-[(3S)-3-[(2-hidroxi)etil]amino]-pirrolidin-1-il]quinolina-5-carboxamida



20 A una disolución de 2-[(3S)-3-[(2-[[*tert*-butil(dimetil)silil]oxi]etil]amino]pirrolidin-1-il]-6-cloro-N-[(1-hidroxicicloheptil)metil]quinolina-5-carboxamida (26,0 g) en tetrahidrofurano (125 ml) se añadió gota a gota cloruro de hidrógeno (50 ml, 4 M en dioxano) a lo largo de 10 minutos enfriando con un baño de hielo para mantener la temperatura interior por debajo de 30°C. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 horas antes de concentrarla a vacío. El producto bruto se volvió a disolver en MeOH (30 ml) y se purificó por cromatografía (SiO₂, elución en gradiente de NH₃ en metanol 7 M : metanol : diclorometano 1:4:95 - 1:10:89). Las fracciones puras se concentraron a vacío (20,1 g) y después se suspendieron en acetonitrilo : metanol (99:1, volumen total de 400 ml) durante 18 horas antes de filtrarlas y lavarlas con acetonitrilo (30 ml). El sólido se secó a vacío para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (18,5 g).

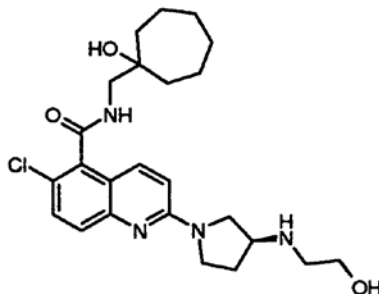
25 P.f. = 138-140°C

m/z 461 (M+H, 100%).

30 RMN ¹H (400 MHz, DMSO) 8,44 (1H, t), 7,81 (1H, d), 7,52 (1H, d), 7,48 (1H, d), 6,94 (1H, d), 3,73 - 3,27 (9H, m), 2,63 (2H, td), 2,15 - 2,05 (1H, m), 1,86 - 1,77 (1H, m), 1,73 - 1,31 (12H, m).

Ejemplo 2

6-Cloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]-2-[(3*S*)-3-[(2-hidroxietyl)amino]-pirrolidin-1-il]quinolina-5-carboxamida hidrato



5 Condiciones generales para el ejemplo 2: los espectros de RMN se midieron en un espectrómetro Bruker Avance 360 MHz, Bruker Avance 400 MHz o Bruker DPX250 250 MHz.

a) 1-[(Trimetilsilil)oxi]cicloheptanocarbonitrilo

Se cargaron cicloheptanona (1001,0 g) y yoduro de cinc (10,0 g) en un recipiente de reacción. Se cargó cianuro de trimetilsililo (1311 ml) en 5 porciones iguales, manteniendo la temperatura de 20°C a 25°C, y la reacción se agitó durante 2 horas para proporcionar el compuesto del título en forma de un aceite amarillo pálido (2049,0 g).

10 RMN ¹H δ_{CDCl₃} 1,91-1,82 (2H, m), 1,75-1,64 (2H, m), 1,53-1,26 (8H, m), 0,00 (9H, s)

b) 1-(Aminometil)cicloheptanol

15 Se cargó una disolución de 1-[(trimetilsilil)oxi]cicloheptanocarbonitrilo (737,5 g) en tetrahidrofurano (738 ml) en un recipiente que contenía disolución de hidruro de litio y aluminio en tetrahidrofurano 1 molar (4980 ml), y tetrahidrofurano (369 ml) mientras se mantenía la temperatura de 55°C a 60°C. Se cargó tetrahidrofurano (738 ml) y la reacción se agitó durante 3 horas de 60°C a 65°C. La reacción se enfrió de 10 a 15°C y se cargó con agua (193 ml), disolución de hidróxido sódico previamente mezclada [agua (389 ml), hidróxido sódico (69 g)], tetrahidrofurano (738 ml) y agua (193 ml) manteniendo la temperatura de 15°C a 25°C. La mezcla se agitó durante 70 minutos y se filtró. La torta de filtración se lavó con tetrahidrofurano (1476 ml) dos veces. Los filtrados y los lavados se combinaron y se cargaron en un recipiente de reacción y se concentraron hasta aproximadamente 1480 ml de 65°C a 70°C. La mezcla se enfrió de 15°C a 25°C y se transfirió a un recipiente con tetrahidrofurano (369 ml), para proporcionar el compuesto del título (381 g) en forma de una disolución incolora en tetrahidrofurano (1613 ml).

20 RMN ¹H δ_{CDCl₃} 4,61 (2H, s), 2,44 (2H, s), 1,63-1,15 (12H, m)

c) Hidrocloruro de 1-(aminometil)cicloheptanol

25 Se cargaron cloruro de acetilo (264 ml) y tetrahidrofurano (191 ml) en un recipiente que contenía 2-propanol (1143 ml), manteniendo la temperatura de 10°C a 15°C. Se cargaron 1-(aminometil)cicloheptanol (381 g) en tetrahidrofurano (1613 ml) y tetrahidrofurano (381 ml) manteniendo la temperatura de 10°C a 15°C. La mezcla de reacción se agitó durante 50 minutos y se filtró. La torta de filtración se lavó con tetrahidrofurano/2-propanol previamente mezclado [tetrahidrofurano (267 ml), 2-propanol (114 ml)], y tetrahidrofurano (1905 ml). La torta de filtración se secó a 40°C durante 23 horas para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido incoloro (464 g).

30 RMN ¹H δ_{CD₃OD} 4,97 (3H, s), 2,91 (2H, s), 1,80 - 1,48 (12H, m).

c) 2,6-Dicloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]quinolina-5-carboxamida

35 Se cargaron cloruro de tionilo (249 ml) y tolueno (276 ml) en un recipiente de reacción que contenía ácido 2,6-dicloroquinolina-5-carboxílico (276,0 g) y tolueno (2760 ml). La mezcla de reacción se agitó de 80°C a 85°C durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró hasta aproximadamente 1380 ml de 30°C a 40°C. Se cargó tolueno (2760 ml) y la mezcla se concentró hasta aproximadamente 1380 ml de 30°C a 40°C. Se cargó tolueno (828 ml), y se cargaron la disolución resultante y tolueno (276 ml) en un recipiente de reacción que contenía hidrocloruro de 1-(aminometil)cicloheptanol (205 g), trietilamina (491 ml) y tolueno (1930 ml) de 0°C a 10°C. La reacción se agitó durante 1 hora de 0°C a 5°C, y después 2 horas de 20°C a 25°C. Se cargó agua (2200 ml) y la mezcla se agitó durante 40 minutos y se filtró. La torta de filtración se lavó con agua (1100 ml) dos veces, tolueno (1380 ml), agua (1100 ml) y tolueno (1380 ml). La torta de filtración se secó a 40°C durante 41 horas para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido blanco (375,76 g).

40

RMN ^1H δ_{DMSO} 8,65 (1H, t), 8,24 (1H, d), 8,01 (, 1H, d), 7,89 (1H, d), 7,72 (1H, d), 4,27 (1H, s), 3,36 (2H, d), 1,74 - 1,32 (12H, m)

e) 2-[(3S)-3-Aminopirrolidin-1-il]-6-cloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]-quinolina-5-carboxamida

5 Se cargaron (S)-3-aminopirrolidina (96 ml) y acetonitrilo (300 ml) en un recipiente que contenía 2,6-dicloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]quinolina-5-carboxamida (300,0 g), carbonato potásico (249,0 g) y acetonitrilo (2400 ml). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 20 horas. Se cargó agua (6900 ml) de 20°C a 25°C. La mezcla se agitó durante 95 minutos y se filtró. La torta de filtración se lavó con agua (1200 ml) y acetonitrilo (1200 ml). La torta de filtración se secó a 40°C durante 48 horas para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido amarillo (283 g).

10 RMN ^1H δ_{DMSO} 8,45 (1H, t), 7,82 (1H, d), 7,56 - 7,46 (2H, m), 6,95 (1H, d), 4,21 (1H, s), 3,71 - 3,48 (4H, m), 3,36 - 3,23 (3H, m), 2,15 - 2,06 (1H, m), 1,83 - 1,32 (13H, m).

f) 2-[(3S)-3-[(2-[(*tert*-Butil(dimetil)silil)oxi]etil)amino]pirrolidin-1-il]-6-cloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]quinolina-5-carboxamida

15 Se cargaron [(1,1-dimetiletil)-dimetilsilil]oxi]acetaldehído (66,3 g) y tetrahidrofurano (150 ml) en un recipiente que contenía 2-[(3S)-3-aminopirrolidin-1-il]-6-cloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]-quinolina-5-carboxamida (158,7 g), sulfato magnésico (75,0 g), triacetoxiborohidruro sódico (175,5 g) y tetrahidrofurano (1350 ml) de 15°C a 25°C. La mezcla de reacción se agitó durante 20 horas y se cargó disolución de hidrogenocarbonato sódico previamente mezclada [agua (730 ml), hidrogenocarbonato sódico (72,2 g)]. Se cargaron heptanos mixtos (150 ml) y la mezcla se agitó durante 90 minutos y se separaron las capas. La capa orgánica se volvió a cargar al recipiente con disolución de hidrogenocarbonato sódico previamente mezclada [agua (730,3 ml), hidrogenocarbonato sódico (72,2 g)] y se agitó durante 30 minutos antes de separar las capas. La capa orgánica se lavó con agua (750 ml) y se volvió a cargar en el recipiente de reacción. Se cargó tetrahidrofurano (1500 ml) y la mezcla se concentró hasta aproximadamente 1500 ml de 40°C a 45°C. Se cargó tetrahidrofurano (1500 ml) y la mezcla se concentró hasta aproximadamente 1500 ml de 40°C a 45°C y se filtró. La torta de filtración se lavó con tetrahidrofurano (150 ml) y el filtrado y lavado se combinaron y se cargaron en un recipiente de reacción. Se cargaron heptanos (1500 ml) y la mezcla se concentró hasta aproximadamente 1500 ml de 40°C a 50°C. Se cargaron heptanos (1500 ml) y la mezcla se concentró hasta aproximadamente 1500 ml de 40°C a 50°C. La mezcla se enfrió de 15°C a 20°C, se agitó durante 75 minutos y se filtró. La torta de filtración se lavó con heptanos (300 ml) y se secó en el filtro para proporcionar el compuesto del título bruto en forma de un sólido amarillo pálido (182,8 g).

30 El producto del título bruto (170 g) se cargó en un recipiente de reacción con metanol (170 ml) y 2-propanol (510 ml). La mezcla se calentó de 40°C a 45°C y se agitó durante 40 minutos. La mezcla se enfrió de 18°C a 23°C y se agitó durante 2,5 horas. La mezcla se enfrió de 0 a 5°C, se agitó durante 1 hora y se filtró. La torta de filtración se lavó con metanol/2-propanol previamente mezclados [metanol (85 ml), 2-propanol (255 ml)] y se secó a 40°C para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido blanquecino (124 g).

35 RMN ^1H δ_{DMSO} 8,40 (1H, t), 7,77 (1H, d), 7,53 - 7,39 (2H, m), 6,91 (1H, d), 4,17 (1H, s), 3,78 - 3,00 (9H, m), 2,64 (2H, t), 2,14 - 2,00 (1H, m), 1,83 - 1,72 (1H, m), 1,70 - 1,26 (12H, m), 0,81 (9H, d), 0,00 (6H, s).

g) 6-Cloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]-2-[(3S)-3-[(2-hidroxietil)amino]-pirrolidin-1-il]quinolina-5-carboxamida hidrato

40 Se cargó una disolución de ácido clorhídrico previamente mezclada { HCl (516,0 g), agua (4813 ml)} en un recipiente de reacción que contenía 2-[(3S)-3-[(2-[(*tert*-butil(dimetil)silil)oxi]etil)amino]pirrolidin-1-il]-6-cloro-*N*-[(1-hidroxicicloheptil)metil]quinolina-5-carboxamida (525,0 g) y tolueno (5250 ml) de 20°C a 30°C. La mezcla de reacción se agitó de 25°C a 30°C durante 20 horas y se filtró. La torta de filtración se lavó con agua (525 ml). El filtrado y el lavado se combinaron y las capas se separaron. La capa acuosa se lavó con tolueno (2625 ml), y se cargó en un recipiente de reacción. Se cargaron disolución de bicarbonato potásico previamente mezclada [agua (1803 ml), bicarbonato potásico (601,3 g)] y *n*-butanol (5250 ml) de 25°C a 30°C y la mezcla resultante se agitó durante 45 67 minutos. Se separaron las fases y la fase acuosa se extrajo con *n*-butanol (2625 ml). Las fases de butanol combinadas se combinaron y lavaron con agua (2600,0 ml) 4 veces. En este momento la disolución de butanol se combinó con la disolución de butanol de una reacción de la misma escala. La disolución se filtró y la torta de filtración se lavó con *n*-butanol (1050 ml). El filtrado y el lavado se combinaron y se concentraron hasta aproximadamente 9,5 litros de 40°C a 50°C. Se cargó *n*-butanol (1050 ml) y se concentró hasta aproximadamente 9,5 litros de 40°C a 50°C. Se cargó *n*-butanol (1050 ml) y se concentró hasta aproximadamente 10,5 litros de 40°C a 50°C. Se cargó *n*-butanol (1050 ml) y se concentró hasta aproximadamente 10,5 litros de 40°C a 50°C. Se cargó *n*-butanol (1050 ml) y se concentró hasta aproximadamente 10,5 litros de 40°C a 50°C. La mezcla se concentró hasta aproximadamente 5,3 litros de 40°C a 50°C. La mezcla se mantuvo de 40°C a 50°C durante 61 horas y se cargaron heptanos mixtos (5250 ml) de 40°C a 50°C. La mezcla se agitó de 40°C a 50°C durante 60 minutos, de 20 a 25°C 55 durante 92 minutos y se filtró. La torta de filtración se lavó con heptanos y *n*-butanol previamente mezclados [heptanos (2100 ml), *n*-butanol (2100 ml)]. La torta de filtración se secó a 40°C durante 30 horas, a 60°C durante 24 horas, a 65°C durante 19 horas y a 80°C durante 9 horas para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido blanquecino (524,4 g).

RMN ^1H δ_{DMSO} 8,44 (1H, t), 7,81 (1H, d), 7,52 (1H, d), 7,48 (1H, d), 6,94 (1H, d), 3,73 - 3,27 (9H, m), 2,63 (2H, td), 2,15 - 2,05 (1H, m), 1,86 - 1,77 (1H, m), 1,73 - 1,31 (12H, m).

Para obtener una forma hidratada consistente, la 2-((3S)-3-((2-((*tert*-butil(dimetil)silil)oxi)etil)amino)pirrolidin-1-il)-6-cloro-*N*-[(1-hidrox cicloheptil)metil]quinolina-5-carboxamida obtenida se procesó más como sigue. Un recipiente de Hastelloy se cargó con 6-cloro-*N*-[(1-hidrox cicloheptil)metil]-2-((3S)-3-((2-hidroxi)etil)amino)pirrolidin-1-il]quinolina-5-carboxamida (40 g, 1 p.), tolueno (7,0 vol., 280 ml) y agua (11,2 ml, 7,0 eq.) y el contenido se calentó de 45 a 50°C y se agitó a esta temperatura durante 22 horas. Después, la mezcla se enfrió de 18 a 23°C a lo largo de 1 hora y después se envejeció de 18 a 23°C durante 1 hora más antes de filtrar con un flujo de nitrógeno y vacío. La filtración tardó 6 minutos. La torta se lavó con una mezcla de tolueno (80 ml, 2,0 vol.) y agua (3,2 ml, 0,08 vol.) y se secó sobre el filtro durante 30 minutos con flujo de nitrógeno antes de retirarlo. El producto se aisló en forma de un sólido amarillo pálido, 46,7 g. Una porción de material húmedo (35,2 g) a vacío de 18 a 23°C durante 72 horas para dar 30,2 g del compuesto del título (100% de recuperación, proporcional). Se determinó que el contenido de agua del producto era 1,7% en p/p por trituration de Karl Fischer usando un medidor de humedad Mitsubishi CA-20 (Predicta OM-1000).

15 Ensayos farmacológicos

Ensayo de P2X₇

Algunos compuestos tales como el trifosfato de benzoilbenzoil-adenosina (bbATP) se sabe que son agonistas del receptor P2X₇, produciendo la formación de poros en la membrana plasmática (*Drug Development Research* (1996), 37(3), p.126). Por consiguiente, cuando el receptor se activa usando bbATP en presencia de bromuro de etidio (una sonda de ADN fluorescente), se observa un aumento en la fluorescencia del bromuro de etidio unido al ADN intracelular. El aumento de fluorescencia se puede usar como una medida de la activación del receptor P2X₇ y por lo tanto para cuantificar el efecto de un compuesto en el receptor P2X₇.

De esta forma, se ensayó la actividad antagonista del compuesto de la invención en el receptor P2X₇. Por lo tanto, el ensayo se llevó a cabo en placas de microvaloración de fondo plano de 96 pocillos, llenándose los pocillos con 250 μl de disolución de ensayo que comprendía 200 μl de una suspensión de células THP-1 ($2,5 \times 10^6$ células/ml) que contenía bromuro de etidio 10^{-4} M, 25 μl de una disolución tampón de alto contenido de potasio que contenía bbATP 10^{-5} M, y 25 μl de la disolución tampón de alto contenido de potasio que contenía concentraciones del compuesto de ensayo normalmente de 30 μM - 0,001 μM . La placa se cubrió con una lámina de plástico y se incubó a 37°C durante 1 hora. Después la placa se leyó en un lector de placa fluorescente Perkin-Elmer, excitación a 520 nm, emisión a 595 nm, anchuras de rejillas: Ex 15 nm, Em 20 nm. Con el propósito de comparación, se usaron por separado bbATP (un agonista del receptor P2X₇) y piridoxal-5-fosfato (un antagonista del receptor P2X₇) en el ensayo como controles. A partir de las lecturas obtenidas, se calculó un valor de pCl_{50} , siendo este valor el logaritmo negativo de la concentración de compuesto de ensayo necesaria para reducir la actividad agonista de bbATP en 50%.

35 Protocolo de unión de hERG

El ensayo de hERG se llevó a cabo de acuerdo con el procedimiento descrito en el documento WO2005/037052. La afinidad (pCl_{50}) de los compuestos por la subunidad del canal iónico codificado por el gen relacionado con éter-a-go-go humano (hERG) se determinó por unión competitiva del radioligando 3,7-bis[2-(4-nitro[3,5- ^3H]fenil)etil]-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonano a membranas celulares de HEK (riñón embrionario humano) que expresaban hERG, en un formato de lavado en filtro.

Las membranas se incubaron durante 3 horas a temperatura ambiente con diluciones seriadas de los compuestos de ensayo, el radioligando 3,7-bis[2-(4-nitro[3,5- ^3H]fenil)etil]-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonano en una concentración final 1 nM, y tampón de ensayo (HEPES 10 mM, NaCl 130 mM, KCl 5 mM, EGTA 1 mM, MgCl_2 0,8 mM, pH 7,4). El ensayo se llevó a cabo en un volumen final de 200 μl , en presencia de dimetilsulfóxido al 1% (v/v). Se determinó la unión no específica midiendo la unión del 3,7-bis[2-(4-nitro[3,5- ^3H]fenil)etil]-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonano en presencia de astemizol 10 μM . Durante esta incubación, las placas de filtro GFB se sumergieron en disolución de revestimiento de polietilenimina al 0,3% (v/v) y BSA al 0,2% (p/v). Después de la incubación las placas de ensayo se recogieron sobre placas de filtro GFB prerrevestidas usando un recolector Tomtec.

Se determinó la pCl_{50} , definida como el logaritmo negativo de la concentración de compuesto requerida para reducir 50% la unión del 3,7-bis[2-(4-nitro[3,5- ^3H]fenil)etil]-3,7-diazabicyclo[3.3.1]nonano. Un símbolo "menor que" indica inhibición <50% en la concentración dada, siendo esta la mayor concentración ensayada.

Resultados del ensayo de P2X₇ y protocolo de unión de hERG

El compuesto de la invención demostró actividad antagonista de P2X₇ muy alta, con un valor de 8,4. Además, el compuesto presentaba actividad en hERG particularmente baja, con menos de 50% de inhibición con la concentración más alta ensayada. La tabla 1 muestra los valores de pCl_{50} de P2X₇ y los valores de pCl_{50} de hERG para el compuesto de la invención y los compuestos comparativos ilustrados en el documento WO 2004/106305

(Ejemplos 29, 36, 44 y 50).

Tabla 1

Ejemplo número	pCl ₅₀ de P2X ₇	pCl ₅₀ de hERG	Relación P2X ₇ :hERG
1	8,4	<4	>20.000
29 WO 2004/106305	7,2	4,5	502
36 WO 2004/106305	8,2	5,1	1258
44 WO 2004/106305	7,9	4,9	1000
50 WO 2004/106305	7,5	4,9	398

El compuesto de acuerdo con la presente invención registró un valor de Cl₅₀ de P2X₇ a concentraciones 5 nM o menores. Además, no presentó suficiente actividad para registrar una Cl₅₀ para hERG a una concentración 100 μM. Por consiguiente, el compuesto de la presente invención tiene una relación de afinidad de P2X₇:hERG de >20.000. Los compuestos comparativos, los ejemplos 29, 36, 44 y 50 del documento WO 2004/106305, respectivamente, registraron una Cl₅₀ para hERG a una concentración 32 μM, 8 μM, 13 μM y 13 μM y requerían una concentración de 63 nM, 6 nM, 13 nM y 32 nM para registrar una Cl₅₀ para P2X₇. Por consiguiente, sus relaciones de afinidad P2X₇:hERG eran 502, 1258, 1000 y 398 respectivamente.

10 Biodisponibilidad - PK de rata

Se usan los parámetros y conceptos farmacocinéticos en DMPK para describir el destino de un compuesto en el cuerpo. La distribución y excreción de un compuesto se reflejan en la concentración plasmática - perfil de tiempo. Mediante la dosificación, toma de muestras y análisis adecuados, se pueden determinar los parámetros clave (eliminación, volumen, semivida, biodisponibilidad, etc.).

15 Los compuestos de ensayo se administraron típicamente por vía intravenosa en la vena lateral derecha de la cola de ratas Sprague Dawley macho con un nivel de dosis de 3 mg/kg (1 ml/kg) en DMA:agua (40:60 v/v). Se administró a las ratas por vía oral un nivel de dosis de 5 mg/kg (2 ml/kg) en hidroxipropilmetilcelulosa al 0,5% (HPMC, p/v)/Tween 80 al 0,1% (v/v) en agua). Después de la administración IV, se tomaron muestras de sangre seriadas (200 μl) de la vena lateral izquierda de la cola a los 2, 4, 8, 15, 30, 60, 120, 180, 300, 420, 720 y 1440 min y a los 0, 20, 40, 60, 120, 180, 300, 420, 720 y 1440 min después de la administración oral. El plasma se preparó por centrifugación.

25 Para determinar los niveles de plasma del compuesto de ensayo, se añadieron 50 μl de metanol a 50 μl de cada una de las muestras de ensayo, mientras que se añadieron 40 μl de metanol a las partes alícuotas de 50 μl del plasma de control que contenía adiciones de 10 μl de la referencia auténtica usada para crear la recta de calibración y CC (control de calidad). Finalmente, se añadieron a cada muestra 100 μl de metanol que contenía una referencia interna químicamente similar, referencia y referencia del CC dando un volumen final de 200 μl. Después, todas las muestras de plasma se mezclaron bien y se pusieron a -20°C durante al menos 1 hora antes de la centrifugación. Los líquidos sobrenadantes resultantes se analizaron por HPLC-MSMS después de crear un método adecuado, selectivo y sensible optimizando tanto el voltaje de cono como la energía de colisión.

30 Los parámetros farmacocinéticos se obtuvieron de la concentración-tiempo usando análisis no compartimental en WinNonLin®. La biodisponibilidad se calculó usando la siguiente ecuación $F = AUC_{PO} \cdot Dosis_{IV} / AUC_{IV} \cdot Dosis_{PO}$.

El compuesto de acuerdo con la presente invención registró los siguientes datos farmacocinéticos: Biodisponibilidad po en rata = 14%.

Protocolo de fosfolipidosis in vitro

35 La evaluación del potencial de los compuestos para inducir la fosfolipidosis se determinó por un ensayo de fluorescencia in vitro que describe la acumulación de fosfolípidos en hepatocitos primarios de rata. Se aislaron hepatocitos de ratas Han Wistar mediante un método de digestión de colagenasa de 2 etapas. Después, los hepatocitos se cultivaron en placas de 96 pocillos revestidas de colágeno en medio William's E. Se dejó que las células se adhirieran durante 1 hora y después el medio se sustituyó por una disolución de colágeno 250 μg.ml⁻¹ en medio de cultivo celular Hepatozyme.

40 Después las células se cultivaron durante 48 horas, cambiándose el medio a las 24 horas. 48 horas después del aislamiento, el medio se cambió a Hepatozyme complementado con el fosfolípido fluorescente *N*-(6-tetrametilrodaminatiocarbamoil)-1,2-dihexadecanoil-*sn*-glicero-3-fosfoetanolamina (DHPE-TRITC) (5 μg.ml⁻¹). En este momento se añadieron los compuestos de ensayo a los hepatocitos en un intervalo de concentraciones en una dilución seriada con una concentración final de dimetilsulfóxido al 0,4% (usado como disolvente para los compuestos de ensayo).

Las células se incubaron durante 24 horas más y después se fijaron por adición de una disolución salina tamponada con fosfato (PBS) que contenía el colorante nuclear Hoechst 33342 (concentración final 2 µM) y disolución de paraformaldehído (concentración final al 4%). Las placas se mantuvieron a temperatura ambiente durante 30 minutos y después se lavaron 3 veces en disolución de PBS.

5 Después se adquirieron imágenes de los hepatocitos usando una plataforma de microscopio automática (GE IN Cell Analyser 3000). Después se usaron los algoritmos de análisis de imágenes para evaluar la viabilidad celular y la acumulación del marcador DHPE-TRITC dentro de los hepatocitos viables. La acumulación cuantificada observada con los compuestos de ensayo después se normalizó a un intervalo de 0, que representaba la acumulación observada en células expuestas solo a vehículo, y 1, que representa las células expuestas a amiodarona 10 µM.
10 También se describe la acumulación máxima a lo largo de la respuesta a la dosis del compuesto de ensayo, cuando la viabilidad celular es >50%, que es la dosis a la cual se observa este máximo. También se describe la dosis más baja que producía una toxicidad celular >50%. La toxicidad en células individuales se identifica como un cambio en el marcaje nuclear, a una morfología punteada, condensada.

15 Se sabe que la dosis con la que se observa la fosfolipidosis se correlaciona inversamente con la incidencia in vivo de la fosfolipidosis (David K Monteith, Ryan E Morgan & Bartley Halstead (2006) "In vitro assays and biomarkers for drug-induced phospholipidosis". *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, vol.2 (5), pp687-696).

20 El compuesto de acuerdo con la presente invención registró una acumulación máxima de 0,9 (con respecto al control de amiodarona 10 µM) con una concentración de acumulación máxima de 71 µM. Además, registró una concentración tóxica mínima de 198 µM. Por comparación, el ejemplo 44 del documento WO2004/106305 registró una acumulación máxima de 0,6 a una concentración de acumulación máxima de 8 µM y una concentración tóxica mínima de 23 µM.

Medición de la unión de proteínas plasmáticas

25 La extensión de la unión de proteínas plasmáticas se determinó mediante diálisis de equilibrio de un compuesto entre plasma humano y tampón acuoso a 37°C, y la determinación de las concentraciones de compuesto en el plasma y el tampón por HPLC-MS/MS.

Las celdas de diálisis (corte de exclusión de peso molecular 5000) se prepararon por lavado con agua seguido de inmersión en el tampón de diálisis durante un mínimo de 1 hora. El tampón de diálisis era disolución salina tamponada isotónica pH 7,4. Se prepararon disoluciones madre del compuesto en dimetilsulfóxido de concentración 0,5 mM.

30 La disolución madre en DMSO del compuesto se añadió al plasma en una relación de 10 µl de DMSO a cada ml de plasma. Esto dio una disolución de DMSO al 1% en disolución de plasma con cada compuesto con una concentración 5 µM.

35 Después se prepararon las celdas de diálisis y una mitad de la celda se cargó con 750 µl de tampón de diálisis y la otra mitad de la celda con 750 µl de disolución plasmática de compuesto. Una vez preparadas, las celdas se cerraron y se pusieron en una caja incubadora a 37°C. Después estas celdas se rotaron durante un mínimo de 4 horas para equilibrarlas.

Después del equilibrado, se sacaron 500 µl de las muestras de tampón y se añadieron a viales de HPLC junto con 100 µl de plasma (muestra en plasma diluido 6 veces), y se secaron 100 µl de muestras de plasma y se añadieron a viales de HPLC junto con 500 µl de tampón de diálisis (muestra en plasma diluido 6 veces).

40 Después las muestras se analizaron usando HPLC-MS/MS. Se obtuvo una curva de calibración de 4 puntos por diluciones de las disoluciones madre con plasma diluido 6 veces, en concentraciones 0,013 µM, 0,05 µM, 0,25 µM y 1,25 µM, que se inyectaron en este orden, seguido de la muestra en tampón y después la muestra en plasma.

Cálculos

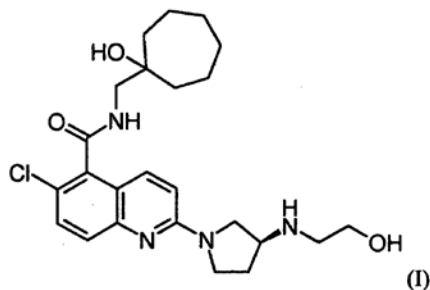
45 La concentración del compuesto en las muestras se determinó usando el software MassLyx versión 4.1 (producido por Waters/Micromass) que calculaba automáticamente una curva de calibración e interpolaba la concentración del compuesto en los analitos. La unión de proteínas plasmáticas se determinó a partir de la concentración medida, como porcentaje de compuesto unido en el plasma (% unido) usando la siguiente ecuación;

$$\% \text{ unido} = 100 - 100 \left(\frac{1,05(6 * \text{conc. plasma} - 1,2 * \text{conc. tampón})}{1,05(6 * \text{conc. plasma} - 1,2 * \text{conc. tampón}) + 1,2 * \text{conc. tampón}} \right)$$

50 El compuesto de acuerdo con la presente invención registró una unión de proteínas plasmáticas humanas (% unido) de 70%.

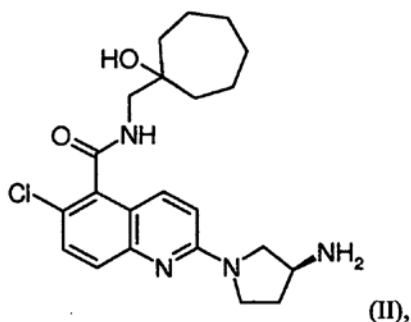
REIVINDICACIONES

1.- Un compuesto de fórmula (I)



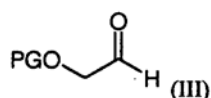
o una de sus sales farmacéuticamente aceptable

- 5 2.- Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, según la reivindicación 1, asociado con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 3.- Un procedimiento para preparar una composición farmacéutica según la reivindicación 2, que comprende mezclar un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, como se define en la
10 reivindicación 1, con un adyuvante, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
- 4.- Un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, según la reivindicación 1, para usar en terapia.
- 5.- Uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, según la reivindicación 1, en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de la artritis reumatoide.
- 15 6.- Uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, según la reivindicación 1, en la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de la enfermedad inflamatoria del intestino o enfermedad de Crohn.
- 7.- Un procedimiento para preparar compuesto de fórmula (I), como se define en la reivindicación 1, que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II)



20

con un compuesto de fórmula (III), en la que PG representa un grupo protector,



en condiciones de aminación reductora, y formando opcionalmente una sal del compuesto farmacéuticamente aceptable.

- 25 8.- Un compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto de fórmula (I) está en forma de un hidrato.