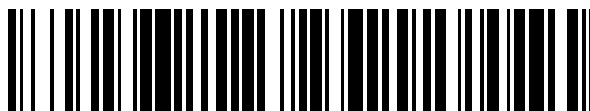


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 375 516**

51 Int. Cl.:
C07D 209/14 (2006.01)
C07D 213/38 (2006.01)
C07D 231/12 (2006.01)
C07D 277/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **08830536 .2**
96 Fecha de presentación: **05.09.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2197841**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **23.06.2010**

54 Título: **COMPUESTOS QUE CONTIENEN GUANIDINA, ÚTILES COMO ANTAGONISTAS DEL RECEPTOR MUSCARÍNICO.**

30 Prioridad:
07.09.2007 US 967914 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.03.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.03.2012

73 Titular/es:
THERAVANCE, INC.
901 GATEWAY BOULEVARD
SOUTH SAN FRANCISCO, CA 94080, US

72 Inventor/es:
JI, Yu-Hua;
HUSFELD, Craig;
MU, YongQi;
LEE, Rick y
LI, Li

74 Agente: **Isern Jara, Jorge**

ES 2 375 516 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

Compuestos que contienen guanidina, útiles como antagonistas del receptor muscarínico

5 Antecedentes de la invención

Ámbito de la invención

10 La presente invención se refiere a compuestos que contienen guanidina y que tienen actividad antagonista del receptor muscarínico o actividad anticolinérgica. La invención se refiere además a composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos y a procesos para obtenerlos.

La invención encuentra su utilidad en métodos para tratar trastornos pulmonares.

15 Estado de la técnica

Los trastornos pulmonares o respiratorios, por ejemplo la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) y el asma, afectan a muchos millones de personas en todo el mundo y estos trastornos son una de las causas principales de morbilidad y de mortalidad.

20 En EP 1 302 458, EP 0 309 424 y Ogino y col., Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, p. 2167-2172, 2003, se describen ligandos del receptor M₃ de la muscarina.

25 Se sabe que los antagonistas de receptor muscarínico proporcionan efectos broncoprotectores y, por consiguiente, estos compuestos son útiles para tratar trastornos respiratorios, por ejemplo la COPD y el asma. Si se emplean para tratar estos trastornos, los antagonistas de receptor muscarínico se administran normalmente por inhalación. Sin embargo, incluso cuando se administran por inhalación, una cantidad significativa del antagonista de receptor muscarínico se suele absorber en la circulación sistémica, lo cual se traduce en efectos secundarios sistémicos, por ejemplo la boca seca, la midriasis y efectos secundarios cardiovasculares.

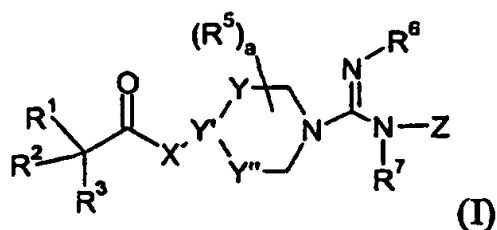
30 Además, muchos antagonistas inhalados de receptor muscarínico tienen una duración de acción relativamente corta, por lo cual se requiere que su administración se repita varias veces al día. Este régimen de dosificación múltiple al día no solo es inconveniente, sino que genera un riesgo significativo de tratamiento inadecuado, debido a que un régimen de dosificación frecuente es mal aceptado por los pacientes.

35 Por lo tanto existe demanda de nuevos antagonistas de receptor muscarínico. Existe demanda en particular de antagonistas de receptor muscarínico que tengan mayor potencia, efectos secundarios sistémicos menores, cuando se administran por inhalación y una larga duración de acción, con lo cual se podría conseguir una sola administración al día o incluso una vez por semana. Existe demanda además de antagonistas de receptor muscarínico que tengan una gran afinidad para el receptor y una vida media prolongada en el receptor. Se espera que estos compuestos sean particularmente eficaces para tratar trastornos pulmonares, por ejemplo la COPD y el asma, al tiempo que reduzcan o eliminen los efectos secundarios, por ejemplo la boca seca o el estreñimiento.

Resumen de la invención

45 La presente invención proporciona nuevos compuestos que contienen guanidina y que tiene efecto antagonista del receptor muscarínico o actividad anticolinérgica. Entre otras propiedades se ha constatado que los compuestos de esta invención mejoran la afinidad de fijación sobre los subtipos de receptores muscarínicos hM₂ y hM₃, tienen una vida media más prolongada en el receptor, tienen un marco terapéutico más amplio o tienen mayor potencia cuando se comparan los compuestos afines. Por consiguiente, se espera que los compuestos de la invención sean útiles y ventajosos como agentes terapéuticos para tratar trastornos pulmonares.

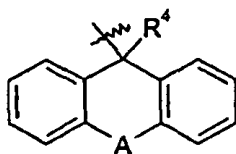
50 Un aspecto de la invención se refiere a compuestos que tienen la fórmula I:



55

en la que:

R¹ se elige entre alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₉ y heteroarilo; R² se elige entre arilo y heteroarilo; R³ se elige entre H y (alqueno C₀₋₁)-OH, o R³ junto con R¹ forman un doble enlace; o -CR¹R²R³ juntos forman un grupo de la fórmula:



- 5 en la que A se elige entre un enlace, -O-, -S-, -CH₂-, -CH=CH-, -CH₂CH₂-, -NH- y -N(CH₃)₂-; y R⁴ se elige entre H, halógeno, -OH, alquilo C₁₋₈ y alcoxi C₁₋₈;
X es un enlace, Y es -CH₂-, Y' es -N- e Y'' es -CH₂-;
R⁵ se elige entre flúor y alquilo C₁₋₄; y "a" es el número 0 o un número entero de 1 a 3;
10 R⁶ y R⁷ se eligen con independencia entre H y alquilo C₁₋₄ y aparte de que uno de R⁶ y R⁷ puede ser -NH₂;
Z se elige entre -(alqueno C₁₋₃)-Q y -NH-(alqueno C₀₋₁)-Q; Q se elige entre cicloalquilo C₃₋₇, arilo y heteroarilo;
y Q está opcionalmente sustituido por 1-5 grupos R⁸ elegidos con independencia entre halógeno, alquilo C₁₋₄,
-(alqueno C₀₋₄)-OH, ciano, -(alqueno C₀₋₂)-COOH, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -O-alquilo C₁₋₄, -S-alquilo C₁₋₄, -CONR^{8a}R^{8b},
-NH-C(O)-alquilo C₁₋₄, -N-di-alquilo C₁₋₄ y -N⁺(O)O; R^{8a} y R^{8b} se eligen con independencia entre H y alquilo C₁₋₄;
15 dichos R¹ y R² están opcionalmente sustituidos por 1 - 5 grupos R^a elegidos con independencia entre alquilo C₁₋₄,
alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, ciano, halógeno, -OR^b, -C(O)OR^b, -SR^b, -S(O)R^b, -S(O)₂R^b,
-C(O)NR^cR^d y -NR^cR^d; cada R^b se elige con independencia entre H, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄ y
cicloalquilo C₃₋₆;
cada R^c y R^d se elige con independencia entre H, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄ y cicloalquilo C₃₋₆; cada
20 grupo alquilo, alqueno, alquino, alqueno y cicloalquilo de R^{a-d}, R⁴⁻⁸ y Z, está opcionalmente sustituido por 1 - 5
átomos de flúor; cada cicloalquilo de R^{a-d} está opcionalmente sustituido por 1 - 3 sustituyentes elegidos con
independencia entre alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄, ciano, halógeno, -O(alquilo C₁₋₄), -S(alquilo C₁₋₄),
-S(O)(alquilo C₁₋₄), -S(O)₂(alquilo C₁₋₄), -NH₂, -NH(alquilo C₁₋₄) y -N(alquilo C₁₋₄)₂; cada grupo alquilo, alqueno y
alquino está opcionalmente sustituido por 1 - 5 sustituyentes flúor; y el grupo alqueno de Z está opcionalmente
25 sustituido por 1 ó 2 sustituyentes elegidos con independencia entre alquilo C₁₋₂ y -OH; o una sal farmacéuticamente
aceptable de los mismos.

Entre los compuestos de la fórmula I son compuestos de un interés especial los que tienen una constante de
30 disociación de inhibición (K_i) para fijarse sobre el subtipo de receptor M₃ menor que o igual a 100 nM; en particular
los que tienen una K_i menor que o igual a 50 nM; más en especial los que tienen una K_i menor que o igual a 10 nM;
e incluso más en especial los que tienen una K_i menor que o igual a 1,0 nM.

Otro aspecto de la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen un vehículo
farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la invención. Dichas composiciones pueden contener
35 opcionalmente otros agentes terapéuticos, por ejemplo agentes antiinflamatorios esteroideos (p.ej. corticosteroides),
agonistas de receptores adrenérgicos β₂, inhibidores de la fosfodiesterasa-4 y combinaciones de los mismos. Por
consiguiente, en otro aspecto adicional de la invención, una composición farmacéutica contiene un compuesto de la
invención, un segundo agente activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Otro aspecto de la invención se
refiere a una combinación de agentes activos, que contiene un compuesto de la invención y un segundo agente
40 activo. El compuesto de la invención puede formularse junto con o por separado del o de los agente(s) adicional(es).
Si se formula por separado, un vehículo farmacéuticamente aceptable puede llevar incluidos el o los agente(s)
adicional(es). Por tanto, la invención puede utilizarse en forma de combinación de composiciones farmacéuticas, la
combinación consta de: una primera composición farmacéutica que contiene un compuesto de la invención y un
primer vehículo farmacéuticamente aceptable; y una segunda composición farmacéutica que contiene un segundo
45 agente activo y un segundo vehículo farmacéuticamente aceptable. Esta invención puede utilizarse también para
fabricar un kit, que contenga dichas composiciones farmacéuticas, por ejemplo en el que dichas primera y segunda
composiciones farmacéuticas son composiciones farmacéuticas separadas.

Los compuestos de la invención poseen actividad antagonista del receptor muscarínico y por ello se espera que
50 sean útiles como agentes terapéuticos para tratar pacientes que padecen una enfermedad o trastorno que pueda
tratarse bloqueando el receptor muscarínico. Por lo tanto, la invención encuentra su utilidad en un método para
producir la broncodilatación en un paciente, que consiste en administrar al paciente una cantidad de un compuesto
de la invención que produzca la broncodilatación. La invención encuentra también su utilidad en un método para
tratar un trastorno pulmonar, por ejemplo la enfermedad pulmonar obstructiva crónica o el asma, que consiste en
55 administrar a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención. La invención
encuentra también su utilidad en un método para antagonizar un receptor muscarínico en un mamífero, que consiste
en administrar al mamífero una cantidad de un compuesto de la invención que antagonice al receptor muscarínico.

Dado que los compuestos de la invención poseen actividad antagonista del receptor muscarínico, tales compuestos
60 son también útiles como herramientas de investigación. Por consiguiente, la invención encuentra su utilidad en un

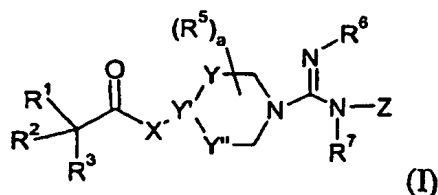
método para utilizar un compuesto de la invención como herramienta de investigación, el método consiste en realizar un ensayo biológico empleando un compuesto de la invención. Los compuestos de la invención pueden utilizarse para evaluar nuevos compuestos químicos. Por ello, la invención encuentra su utilidad en un método para evaluar un compuesto en un ensayo biológico, que consiste en: (a) realizar un ensayo biológico con el compuesto a investigar, para proporcionar un primer valor de ensayo; (b) realizar un ensayo biológico con el compuesto de la invención, para proporcionar un segundo valor de ensayo; dicho paso (a) se realiza antes, después o al mismo tiempo que el paso (b); y (c) se compara el primer valor del ensayo del paso (a) con el segundo valor del ensayo del paso (b). Los ejemplos de ensayos biológicos incluyen el ensayo de fijación sobre un receptor muscarínico y un ensayo de broncoprotección de un mamífero. La invención encuentra también su utilidad en los métodos de estudio de un sistema o de una muestra biológica que contenga un receptor muscarínico, el método consiste en: (a) poner en contacto el sistema o muestra biológicos con un compuesto de la invención; y (b) determinar los efectos causados por el compuesto en el sistema o en la muestra biológicos.

Otro aspecto de la invención se refiere a un proceso de obtención de compuestos de la invención, que consiste en: (a) condensar el compuesto (1) y el compuesto (2) en condiciones para formar un enlace amídico y desproteger el producto para formar el compuesto (3); (b) hacer reaccionar el compuesto (3) con un compuesto (6) para formar el compuesto (7); y (c) hacer reaccionar el compuesto (7) y el compuesto (8) para obtener un compuesto de la fórmula I; dichos compuestos de (1) a (3) y de (7) a (9) son los aquí descritos.

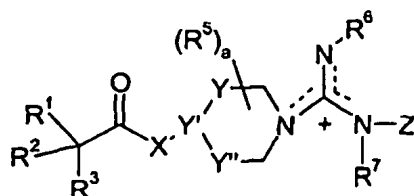
En otro aspecto más, la invención se refiere a un compuesto de la invención para el uso en la terapia, en especial para tratar un trastorno pulmonar o para antagonizar un receptor muscarínico en un mamífero.

Descripción detallada de la invención

En un aspecto, esta invención se refiere a compuestos que tienen la fórmula I:



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos. Esta fórmula puede representarse también del modo siguiente:

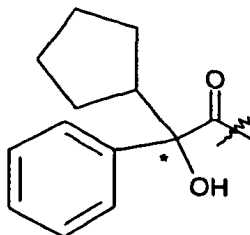


Tal como se emplea aquí, el término "compuesto de la invención" incluye todos los compuestos abarcados por la fórmula I, por ejemplo los compuestos descritos mediante las fórmulas II-VIII. Además, cuando el compuesto de la invención contiene un grupo básico o ácido (p.ej. grupos amino o carboxilo), el compuesto podrá existir en forma de base libre, ácido libre o en varias formas salinas. Todas estas formas salinas están incluidas dentro del alcance de la invención. Por consiguiente, los expertos podrán reconocer que la referencia a un compuesto presente, por ejemplo, la referencia a "compuesto de la invención" o un "compuesto de la fórmula I" incluye no solo un compuesto de la fórmula I sino también las sales farmacéuticamente aceptables de dicho compuesto, a menos que se indique otra cosa. Además se incluyen también en el alcance de la invención los solvatos de los compuestos de la fórmula I.

Los compuestos de la invención pueden contener uno o más centros quirales y por ello pueden existir en un gran número de formas estereoisoméricas. Cuando están presentes dichos centros quirales, esta invención se refiere a mezclas racémicas, estereoisómeros puros (es decir, enantiómeros o diastereómeros), las mezclas enriquecidas en un estereoisómero y similares, a menos que se indique otra cosa. Cuando se representa una estructura química sin indicar ninguna estereoquímica, se da por supuesto que todos los estereoisómeros posibles están incluidos dentro de dicha estructura. Por ejemplo, el término "compuesto de la fórmula I" se emplea para incluir a todos los estereoisómeros posibles del compuesto. De modo similar, cuando se representa o se menciona un estereoisómero concreto, los expertos entenderán que en las composiciones de esta invención pueden estar presentes cantidades poco importantes de otros estereoisómeros, a menos que se indique otra cosa, con la condición de que la utilidad de la composición en su conjunto no resulte eliminada por la presencia de dichos isómeros no principales. Los

5 enantiómeros individuales pueden obtenerse por numerosos métodos, que los expertos conocen bien, incluida la cromatografía quiral empleando una fase estacionaria o un relleno quiral apropiados, o convirtiéndolos químicamente en diastereómeros, separando los diastereómeros por métodos convencionales, por ejemplo cromatografía o recristalización, con lo cual se regeneran los enantiómeros originales. Además, si procede, todos los isómeros cis-trans o E/Z (isómeros geométricos), formas tautómeras y formas topoisómeras de los compuestos de esta invención están incluidas dentro del alcance esta invención, a menos que se indique otra cosa.

10 En especial, los compuestos de la fórmula I contienen un centro quiral en el átomo de carbono indicado con el símbolo * en la siguiente fórmula parcial (presentada sin sustituyentes opcionales por razones de claridad), ilustrada haciendo que el resto cicloalquilo C₅₋₉ R¹ sea un ciclopentilo, el resto arilo R² sea fenilo y R³ sea -OH:



15 En una forma de ejecución de esta invención, el átomo de carbono identificado con el símbolo * tiene una configuración (R). En esta forma de ejecución, los compuestos de la fórmula I tienen la configuración (R) en el átomo de carbono identificado con el símbolo * o están enriquecidos con una forma estereoisomérica que tiene la configuración (R) en este átomo de carbono. En otra forma de ejecución, el átomo de carbono identificado con el símbolo * tiene la configuración (S). En esta forma de ejecución, los compuestos de la fórmula I tienen la configuración (S) en el átomo de carbono identificado con el símbolo * o están enriquecidos con una forma estereoisomérica que tiene configuración (S) en este átomo de carbono.

20 Los compuestos de la invención, así como los compuestos empleados para su síntesis, pueden incluir también compuestos marcados con isótopos, es decir, en el que uno o más átomos se han enriquecido con átomos que tienen un peso atómico diferente del peso atómico que predomina en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse a los compuestos de la fórmula I incluyen, por ejemplo, pero no se limitan a: H², H³, C¹³, C¹⁴, N¹⁵, O¹⁸ y O¹⁷.

30 Se ha constatado que los compuestos de la invención poseen actividad antagonista del receptor muscarínico. Entre otras propiedades, se ha observado que los compuestos de la invención tienen una mayor capacidad de fijación sobre los subtipos de receptores muscarínicos hM₂ y hM₃, tienen vidas medias más prolongadas en el receptor y tienen una potencia mayor que los compuestos afines y se espera que sean útiles como agentes terapéuticos para el tratamiento de trastornos pulmonares.

35 La nomenclatura aquí empleada para nombrar los compuestos de esta invención se ilustra en los ejemplos presentes. Esta nomenclatura se deriva del programa informático AutoNom que es un producto comercial (MDL, San Leandro, California).

Formas de ejecución representativas

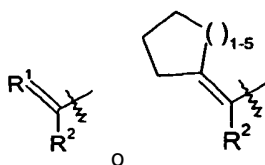
40 Se proponen los siguientes sustituyentes y valores para proporcionar ejemplos representativos de varios aspectos y formas de ejecución de la invención. Se proponen estos valores representativos para seguir definiendo e ilustrando aquellos aspectos y formas de ejecución y no se proponen para excluir otras formas de ejecución ni para limitar el alcance de la invención. En este sentido, la representación de que un valor o sustituyente concreto es preferido no se propone en absoluto para excluir otros valores o sustituyentes de la invención, a menos que se indique de modo explícito.

50 R¹ puede ser un grupo alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₉ o heteroarilo, que está sin sustituir o sustituido por 1 - 5 grupos R^a. R^a se elige con independencia entre alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, ciano, halógeno, -OR^b, -C(O)OR^b, -SR^b, -S(O)R^b, -S(O)₂R^b, -C(O)NR^cR^d y -NR^cR^d. Cada R^b se elige con independencia entre H, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄ y cicloalquilo C₃₋₆. Cada grupo R^c y R^d se elige con independencia entre H, alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄, alquinilo C₂₋₄ y cicloalquilo C₃₋₆. En una forma de ejecución, R¹ es cicloalquilo C₃₋₉; en otra forma de ejecución cicloalquilo C₃₋₆, es decir, ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo o ciclohexilo; y en otra forma de ejecución adicional R¹ es cicloalquilo C₅, es decir, ciclopentilo. En una forma de ejecución, R¹ es un grupo alquilo C₁₋₆, por ejemplo -CH₂CH(CH₃)₂. En otra forma de ejecución, R¹ es un grupo alquenilo C₂₋₆, por ejemplo -CH₂CHCH₂. En una forma de ejecución, R¹ está sin sustituir. En otra forma de ejecución, R¹ es un heteroarilo, por ejemplo tienfenilo (incluidos el tienfen-2-ilo y tienfen-3-ilo).

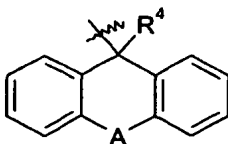
5 Cada grupo alquilo, alqueniilo, alquinilo, alquileo y cicloalquilo de R^a , R^b , R^c y R^d puede estar sustituido por 1-5 átomos de flúor. Además, cada cicloalquilo de R^{a-d} puede estar sustituido por 1-3 sustituyentes elegidos con independencia entre alquilo C_{1-4} , alqueniilo C_{2-4} , alquinilo C_{2-4} , ciano, halógeno, -O(alquilo C_{1-4}), -S(alquilo C_{1-4}), -S(O)(alquilo C_{1-4}), -S(O)₂(alquilo C_{1-4}), -NH₂, -NH(alquilo C_{1-4}) y -N(alquilo C_{1-4})₂, y cada grupo alquilo, alqueniilo y alquinilo está opcionalmente sustituido por 1 - 5 sustituyentes flúor.

10 R^2 puede ser un grupo arilo, que está sin sustituir o sustituido por 1 - 5 grupos R^a , que tienen el significado definido previamente. En una forma de ejecución, R^2 es fenilo. En otra forma de ejecución, R^2 es fenilo sin sustituir. En otra forma de ejecución, R^2 es un heteroarilo, por ejemplo tiofenilo (incluidos el tiofen-2-ilo y el tiofen-3-ilo).

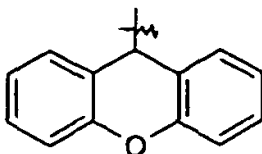
10 R^3 puede ser H o (alquileo C_{0-1})-OH, o puede formar un doble enlace con R^1 , que puede representarse de este modo:



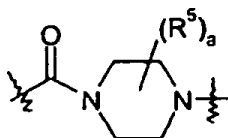
15 En una forma especial de ejecución, R^3 es -OH. Además -CR¹R²R³ juntos pueden formar un grupo de la fórmula:



20 en la que A es un enlace, -O-, -S-, -CH₂-, -CH=CH-, -CH₂CH₂-, -NH-, o -N(CH₃)- y R^4 se elige entre H, halógeno, -OH, alquilo C_{1-8} y alcoxi C_{1-8} . El grupo alquilo de R^4 puede estar sustituido por 1-5 átomos de flúor. En una forma especial de ejecución, -CR¹R²R³ juntos forman:



25 En esta forma de ejecución, A es -O- y R^4 es H, tal como se representa. En una forma de ejecución, X es un enlace, Y es -CH₂-, Y' es -N- e Y'' es -CH₂-, que se representa del modo siguiente:



30 R^5 se elige entre flúor y alquilo C_{1-4} . El valor de "a" es 0 o un número entero de 1 a 3. En una forma especial de ejecución, "a" es 0. El grupo alquilo de R^5 puede estar sustituido por 1-5 átomos de flúor.

35 R^6 y R^7 se eligen con independencia entre H y alquilo C_{1-4} . Además, uno de R^6 o R^7 puede ser -NH₂. En una forma especial de ejecución, R^6 es hidrógeno o alquilo C_{1-4} . En otra forma de ejecución, R^7 es hidrógeno. En otra forma especial de ejecución adicional, R^6 y R^7 son, ambos, hidrógeno. El grupo alquilo de R^6 y R^7 puede estar sustituido por átomos de flúor. Por ejemplo, R^6 y/o R^7 pueden ser -CH₃ y también -CFH₂, -CF₂H o -CF₃.

40 Z se elige entre -(alquileo C_{1-3})-Q y -NH-(alquileo C_{0-1})-Q. En una forma de ejecución, Z es -CH₂-Q. En otra forma de ejecución, Z es -(CH₂)₂-Q. En otra forma de ejecución adicional, Z es -(CH₂)₃-Q. En otra forma de ejecución adicional, Z es -NH-Q. En otra forma de ejecución adicional, Z es -NH-CH₂-Q. Los grupos alquileo de Z pueden estar sustituidos por 1-5 átomos de flúor. Además, el grupo alquileo de Z puede estar sustituido por 1 ó 2 sustituyentes elegidos con independencia entre alquilo C_{1-2} y -OH. Por ejemplo, en una forma de ejecución, Z es -CH(CH₃)-.

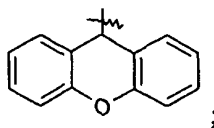
45

Q es un grupo cicloalquilo C₃₋₇, arilo, o heteroarilo. Los ejemplos de grupos cicloalquilo C₃₋₇ incluyen al ciclopropilo, ciclohexilo y cicloheptilo. Los ejemplos de grupos arilo incluyen al fenilo y naftilo. En una forma de ejecución, Q es fenilo. Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen al pirrolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, furanilo, tiofenilo, triazolilo, pirazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, piridinilo, pirazinilo, piridazinilo, pirimidinilo, triazinilo, indolilo, benzofuranilo, benzopirano, benzotiofenilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, benzodioxolilo, quinolilo, isoquinolilo, quinazolinilo y quinoxalinilo. Son de interés especial los grupos tiazolilo (p.ej. tiazol-2-ilo y tiazol-4-ilo), furanilo (p.ej. furan-2-ilo y furan-3-ilo), tiofenilo (p.ej. tiofen-2-ilo y tiofen-3-ilo), pirazolilo (p.ej. 1H-pirazol-3-ilo), piridinilo (p.ej. piridin-2-ilo), indolilo (p.ej. 1H-indol-2-ilo, 1H-indol-4-ilo y 1H-indol-5-ilo), benzofuranilo (p.ej. benzofuran-5-ilo), benzotiofenilo (p.ej. benzo[b]tiofen-2-ilo y benzo[b]tiofen-5-ilo) y benzodioxolilo (p.ej. benzo[1,3]dioxol-5-ilo).

Q puede estar sustituido por 1 - 5 grupos R⁸ elegidos con independencia entre halógeno (p.ej. Cl y F), alquilo C₁₋₄ (p.ej. -CH₃), -(alquileo C₀₋₄)-OH (p.ej. -OH y -CH₂OH), ciano, -(alquileo C₀₋₂)-COOH, -C(O)O-alquilo C₁₋₄ (p.ej. -C(O)O-CH₃), -O-alquilo C₁₋₄ (p.ej. -O-CH₃), -S-alquilo C₁₋₄ (p.ej. -S-CH₃), -CONR^{8a}R^{8b}, -NH-C(O)-alquilo C₁₋₄, -N-di-alquilo C₁₋₄ y -N⁺(O)O, en los que R^{8a} y R^{8b} se eligen con independencia entre H y alquilo C₁₋₄. Cada grupo alquilo y alquileo de R⁸ puede estar sustituido por 1-5 átomos de flúor. Por ejemplo, R⁸ puede ser un grupo alquilo C₁₋₄ sustituido por flúor, por ejemplo -CF₃ o un grupo alquilo -O-C₁₋₄ sustituido por flúor, por ejemplo -OCF₃.

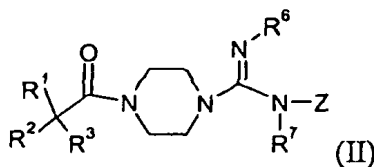
En una forma de ejecución, Q está sustituido por un grupo R⁸ elegido entre halógeno, alquilo C₁₋₄, -(alquileo C₀₋₄)-OH, ciano, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -O-alquilo C₁₋₄, -S-alquilo C₁₋₄ y -CONR^{8a}R^{8b}; cada grupo alquilo grupo está opcionalmente sustituido por 1 - 3 átomos de flúor. En otra forma de ejecución, Q está sustituido por dos grupos R⁸ que son halógenos (que pueden ser iguales o diferentes). En una forma de ejecución, Q es un grupo cicloalquilo C₃₋₇ sin sustituir. En una forma de ejecución, Q es un grupo arilo sin sustituir. En otra forma de ejecución, Q es un grupo arilo que tiene un grupo R⁸ elegido entre halógeno, alquilo C₁₋₄, ciano, -(alquileo C₀₋₂)-COOH, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -O-alquilo C₁₋₄, -S-alquilo C₁₋₄, -CONR^{8a}R^{8b}; cada grupo alquilo está opcionalmente sustituido por 1 - 3 átomos de flúor. En otra forma de ejecución adicional, Q es un grupo arilo que tiene dos grupos R⁸ que son grupos halógeno. En una forma de ejecución, Q es un grupo heteroarilo sin sustituir. En otra forma de ejecución, Q es un grupo heteroarilo que tiene un grupo R⁸ que es un grupo alquilo C₁₋₄.

En una forma de ejecución, la invención se refiere a compuestos que tienen la fórmula I, en la que R¹ es isobutilo, ciclopentilo, o tiofenilo; R² es fenilo o tiofenilo; R³ es -OH; o -CR¹R²R³ forman, juntos, un grupo de la fórmula:



"a" es el número 0; R⁶ es H o alquilo C₁₋₄; R⁷ es H; Q es ciclohexilo, cicloheptilo, fenilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, furanilo, indolilo, pirazolilo, piridinilo, tiazolilo o tiofenilo; Q está opcionalmente sustituido por 1-2 grupos R⁸ elegidos con independencia entre halógeno, alquilo C₁₋₄, -(alquileo C₀₋₄)-OH, ciano, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -O-alquilo C₁₋₄, -S-alquilo C₁₋₄ y -CONH₂; y los grupos alquilo de R⁸ están opcionalmente sustituidos por 1 - 5 átomos de flúor.

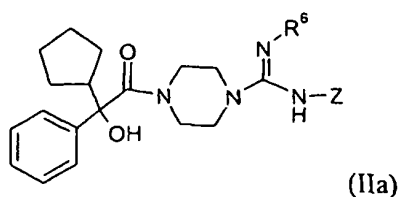
En otra forma de ejecución, la invención se refiere a un compuesto que tiene la fórmula II:



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que R¹⁻³, R⁶⁻⁷ y Z tienen los significados definidos para la fórmula 1. En una forma especial de ejecución, la invención se refiere a compuestos de la fórmula II, en la que: R¹ es ciclopentilo o tiofenilo; R² es fenilo o tiofenilo; R³ es -OH; R⁶ es H o alquilo C₁₋₂; R⁷ es H; Z es alquilo C₁₋₆, -(alquileo C₁₋₃)-Q, o -NH-(alquileo C₀₋₁)-Q; Q es ciclohexilo, cicloheptilo, fenilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, furanilo, indolilo, pirazolilo, piridinilo, tiazolilo o tiofenilo;

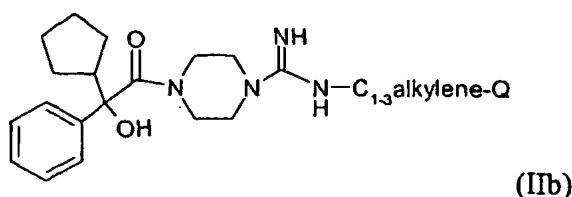
Q está opcionalmente sustituido por 1-2 grupos R⁸ elegidos con independencia entre halógeno, alquilo C₁₋₄, -(alquileo C₀₋₄)-OH, ciano, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -O-alquilo C₁₋₄, -S-alquilo C₁₋₄ y -CONH₂; y los grupos alquilo de R⁸ están opcionalmente sustituidos por 1 - 5 átomos de flúor.

Otro aspecto adicional de la invención se refiere a compuestos que tienen la fórmula IIa:



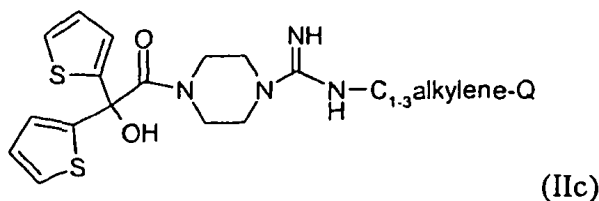
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que R^6 y Z tienen los significados definidos para la fórmula I. En una forma especial de ejecución, la invención se refiere a compuestos de la fórmula IIa, en la que: R^6 es H o alquilo C_{1-2} ; Q es ciclohexilo, cicloheptilo, fenilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, furanilo, indolilo, pirazolilo, piridinilo, tiazolilo o tiofenilo; Q está opcionalmente sustituido por 1-2 grupos R^8 elegidos con independencia entre halógeno, alquilo C_{1-4} , -(alquilenos C_{0-4})-OH, ciano, -C(O)O-alquilo C_{1-4} , -O-alquilo C_{1-4} , -S-alquilo C_{1-4} y -CONH₂; y los grupos alquilo de R^8 están opcionalmente sustituidos por 1 - 5 átomos de flúor.

10 Otro aspecto adicional de la invención se refiere a compuestos que tienen la fórmula IIb:



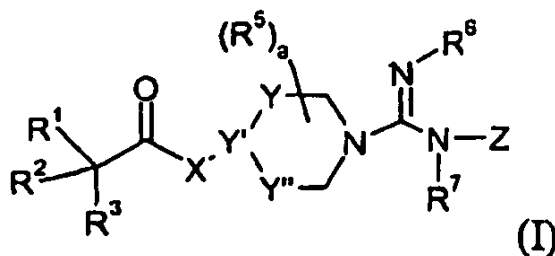
o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que Q tiene el significado definido para la fórmula I. En una forma especial de ejecución, la invención se refiere a compuestos de la fórmula IIb, en la que: Q es ciclohexilo, cicloheptilo, fenilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, furanilo, indolilo, pirazolilo, piridinilo, tiazolilo o tiofenilo; Q está opcionalmente sustituido por 1-2 grupos R^8 elegidos con independencia entre halógeno, alquilo C_{1-4} , -(alquilenos C_{0-4})-OH, ciano, -C(O)O-alquilo C_{1-4} , -O-alquilo C_{1-4} , -S-alquilo C_{1-4} y -CONH₂; y los grupos alquilo de R^8 están opcionalmente sustituidos por 1 - 5 átomos de flúor. En otra forma de ejecución, la invención se refiere a compuestos de la fórmula IIb, en la que Q es furanilo o tiofenilo.

Otro aspecto adicional de la invención se refiere a compuestos que tienen la fórmula IIc:

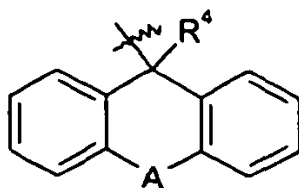


o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, en la que Z tiene el significado definido para la fórmula I. En una forma especial de ejecución, la invención se refiere a compuestos de la fórmula IIc, en la que: Q es fenilo, furanilo o tiofenilo; y el fenilo de Q está opcionalmente sustituido por 1-2 grupos R^8 elegidos con independencia entre halógeno y -(alquilenos C_{0-4})-OH.

Un grupo especial de compuestos se describen en la solicitud provisional U.S. nº 60/967,914, depositada el 7 de setiembre de 2007. Este grupo incluye los compuestos de la fórmula (I):



en la que: R^1 se elige entre alquilo C_{1-6} , alqueno C_{2-6} y cicloalquilo C_{3-9} ; R^2 es arilo; R^3 se elige entre H y (alquilenos C_{0-1})-OH; o forma un doble enlace con R^1 ; o -CR¹R²R³ forman, juntos, un grupo de la fórmula:



- en la que A es un enlace, -O-, -S-, -CH₂-, -CH=CH-, -CH₂CH₂-, -NH-, o -N(CH₃-); y en la que R⁴ se elige entre H, halógeno, -OH, alquilo C₁₋₈ y alcoxi C₁₋₈; X es un enlace, -O- o -O-CH₂-; cuando X es un enlace, Y es -CH₂-, Y' es -N- e Y'' es -CH₂-; cuando X es -O- o -O-CH₂-, Y' es -CH- e Y'' es un enlace e Y''' es -CH₂- o -(CHO₂)₂-, o Y es -CH₂- e Y''' es -CH₂-; R⁵ se elige entre flúor y alquilo C₁₋₄; y "a" es el número 0 o un número entero de 1 a 3; R⁶ y R⁷ se eligen con independencia entre H y alquilo C₁₋₄ y además en la que uno de R⁶ o R⁷ puede ser -NH₂; Z se elige entre H, alquilo C₁₋₆, -(alquileo C₁₋₃)-Q y -NH-(alquileo C₀₋₁)-Q, en el que Q se elige entre cicloalquilo C₃₋₇, arilo o heteroarilo, opcionalmente sustituido por 1-5 grupos R⁸ elegidos con independencia entre halógeno, alquilo C₁₋₄, -(alquileo C₀₋₄)-OH, ciano, -(alquileo C₀₋₂)-COOH, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -O-alquilo C₁₋₄, -S-alquilo C₁₋₄, -CONR^{8a}R^{8b}, -NH-C(O)-alquilo C₁₋₄, -N-di-alquilo C₁₋₄ y -N⁺(O)O, dichos R^{8a} y R^{8b} se eligen con independencia entre H y alquilo C₁₋₄; dichos R¹ y R² están opcionalmente sustituidos por 1 - 5 grupos R^a elegidos entre alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, ciano, halógeno, -OR^b, -C(O)OR^b, -SR^b, -S(O)R^b, -S(O)₂R^b, -C(O)NR^cR^d y -NR^cR^d; dicho R^b se elige con independencia entre H, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄ y cicloalquilo C₃₋₆; y dichos R^c y R^d se eligen con independencia entre H, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄ y cicloalquilo C₃₋₆; cada grupo alquilo, alqueno, alquino, alquileo y cicloalquilo de R^{a-d}, R⁴⁻⁸ y Z está opcionalmente sustituido por 1 - 5 átomos de flúor; cada grupo cicloalquilo de R^{a-d} está opcionalmente sustituido por 1 - 3 sustituyentes elegidos con independencia entre -alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄, ciano, halógeno, -O(alquilo C₁₋₄), -S(alquilo C₁₋₄), -S(O)(alquilo C₁₋₄), -S(O)₂(alquilo C₁₋₄), -NH₂, -NH(alquilo C₁₋₄) y -N(alquilo C₁₋₄)₂, cada grupo alquilo, alqueno y alquino está opcionalmente sustituido por 1 - 5 sustituyentes flúor; y el grupo alquileo de Z está opcionalmente sustituido por 1 ó 2 sustituyentes elegidos con independencia entre alquilo C₁₋₂ y -OH; o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.
- Además, los compuestos especiales de la invención que son de interés incluyen a los descritos en los siguientes ejemplos, así como a las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Definiciones

- Cuando se describen los compuestos, composiciones, métodos y procesos de la invención, los términos siguientes tienen los significados que se definen a continuación, a menos que se indique otra cosa. Además, tal como se emplean en este documento, las formas singulares "un", "una", "el" o "la" incluyen las correspondientes formas plurales, a menos que el contexto dicte claramente otra cosa. Los términos "comprender", "incluir" y "tener" se emplean de modo incluyente y significan que puede haber elementos adicionales diferentes de los elementos enumerados. Todos los números, que expresan cantidades de los ingredientes, propiedades tales como el peso molecular, condiciones de reacción, etcétera, que se emplean aquí deberán entenderse como modificados en todos los casos por el término "aproximadamente", a menos que se indique otra cosa. Por consiguiente, los números aquí indicados son aproximaciones que pueden variar en función de las propiedades deseadas, que se cree podrán obtenerse con la presente invención. Por lo menos y no con el fin de limitar la aplicación de la doctrina de los equivalentes al alcance de las reivindicaciones, cada número debería construirse por lo menos a la luz de los dígitos significativos presentados y aplicando las técnicas habituales de redondeo.

- El término "alquilo" significa un grupo hidrocarburo saturado monovalente, que puede ser lineal o ramificado. A menos que se definan de otro modo, dichos grupos alquilo contienen típicamente de 1 a 10 átomos de carbono e incluyen, por ejemplo, al metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, tert-butilo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo, n-decilo y similares.

- Cuando se propone un número específico de átomos de carbono para un término particular aquí empleado, el número de átomos de carbono se indica como subíndice del término precedente. Por ejemplo, el término "alquilo C₁₋₄" significa un grupo alquilo que tienen de 1 a 4 átomos de carbono y el término "-cicloalquilo C₅₋₉" significa un grupo cicloalquilo que tiene de 5 a 9 átomos de carbono, en el que los átomos de carbono pueden adoptar cualquier configuración aceptable.

- El término "alquileo" indica un grupo hidrocarburo saturado divalente, que puede ser lineal o ramificado. A menos que se indique otra cosa, los grupos "alquileo" contienen normalmente de 0 a 10 átomos de carbono e incluyen por ejemplo alquileo C₀₋₁, alquileo C₀₋₂, alquileo C₀₋₄, alquileo C₀₋₅, alquileo C₁₋₄, alquileo C₁₋₂, alquileo C₂₋₄, alquileo C₂₋₅ y alquileo C₃₋₆. Los grupos alquileo representativos incluyen a título ilustrativo al metileno, etano-1,2-diilo ("etileno"), propano-1,2-diilo, propano-1,3-diilo, butano-1,4-diilo, pentano-1,5-diilo y similares. Se da por supuesto que, cuando el término alquileo incluye cero carbonos, por ejemplo alquileo C₀₋₁ o alquileo C₀₋₅, dichos

términos pretenden incluir la ausencia de átomos de carbono, es decir, el grupo alquileo no está presente, excepto en forma de enlace covalente que une los grupos separados por el término alquileo.

El término "alqueno" significa un grupo hidrocarburo insaturado monovalente, que puede ser lineal o ramificado y que tiene por lo menos uno y normalmente 1, 2 ó 3 dobles enlaces carbono-carbono. A menos que se indique otra cosa, los grupos alqueno contienen normalmente de 2 a 10 átomos de carbono e incluyen por ejemplo alqueno C_{2-4} y alqueno C_{2-6} . Los grupos alqueno representativos incluyen a título ilustrativo al etenilo, n-propenilo, isopropenilo, n-but-2-enilo, n-hex-3-enilo y similares. El término "alqueno" significa un grupo alqueno divalente y los ejemplos de grupos alqueno incluyen al alqueno C_{2-3} .

El término "alcoxi" indica un grupo monovalente de la fórmula -O-alquilo, en el que alquilo tiene el significado recién definido. A menos que se indique otra cosa, los grupos alcoxi contienen normalmente de 1 a 10 átomos de carbono e incluyen por ejemplo alcoxi C_{1-4} y alcoxi C_{1-8} . Los grupos alcoxi representativos incluyen por ejemplo al metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, sec-butoxi, isobutoxi, tert-butoxi y similares.

El término "alquino" significa un grupo hidrocarburo insaturado monovalente, que puede ser lineal o ramificado y que tiene por lo menos uno y normalmente 1, 2 ó 3 triples enlaces carbono-carbono. A menos que se indique otra cosa, los grupos alquino contienen normalmente de 2 a 10 átomos de carbono e incluyen por ejemplo alquino C_{2-4} y alquino C_{2-6} . Los grupos alquino representativos incluyen a título ilustrativo al etinilo, n-propinilo, n-but-2-inilo, n-hex-3-inilo y similares.

El término "arilo" significa un hidrocarburo aromático monovalente que tiene un solo anillo (es decir, fenilo) o anillos fusionados (es decir, naftaleno). A menos que se defina de otro modo, estos grupos arilo contienen normalmente de 6 a 10 átomos de carbono en el anillo e incluyen, por ejemplo, al arilo C_{6-10} . Los grupos arilo representativos incluyen a título ilustrativo al fenilo y naftalen-1-ilo, naftalen-2-ilo y similares.

El término "cicloalquilo" indica un grupo hidrocarburo carbocíclico saturado monovalente. A menos que se definan de otro modo, tales grupos cicloalquilo contienen típicamente de 3 a 10 átomos de carbono e incluyen por ejemplo al cicloalquilo C_{3-6} , cicloalquilo C_{3-7} y cicloalquilo C_{5-9} . Los grupos cicloalquilo representativos incluyen, por ejemplo, al ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo y similares.

El término "grupo hidrocarburo divalente" significa un grupo hidrocarburo divalente que está formado fundamentalmente por átomos de carbono e hidrógeno y que opcionalmente contiene uno o más heteroátomos. Estos grupos hidrocarburo divalentes pueden estar ramificados o sin ramificar, pueden ser saturados o insaturados, acíclicos o cíclicos, alifáticos o aromáticos, o combinaciones de los mismos. El grupo hidrocarburo divalente puede contener opcionalmente heteroátomos incorporados a la cadena hidrocarbonada o en forma de sustituyentes unidos a dicha cadena hidrocarbonada.

El término "halógeno" significa flúor, cloro, bromo o yodo.

Tal como se emplea aquí, la frase "que tienen la fórmula" o "que tienen la estructura" no pretende limitar y se emplea de igual manera que el término "comprender".

El término "heteroarilo" significa un grupo aromático monovalente que tiene un solo anillo o dos anillos fusionados y contiene por lo menos un heteroátomo en el anillo (normalmente de 1 a 3 heteroátomos), elegido entre nitrógeno, oxígeno y azufre. A menos que se definan de otro modo, tales grupos heteroarilo contienen típicamente de 5 a 10 átomos de carbono e incluyen por ejemplo al heteroarilo C_{2-9} . Los grupos heteroarilo representativos incluyen a título ilustrativo al pirrolilo, imidazolilo, tiazolilo, oxazolilo, furanilo, tiofenilo, triazolilo, pirazolilo, isoxazolilo, isotiazolilo, piridinilo, pirazinilo, piridazinilo, pirimidinilo, triazinilo, indolilo, benzofuranilo, benzopiranilo, benzotiofenilo, benzoimidazolilo, benzotiazolilo, benzodioxolilo, quinolilo, isoquinolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo y similares, cuyo punto de unión está situado en cualquier átomo de carbono o de nitrógeno del anillo que esté disponible.

El término "opcionalmente sustituido" significa que el grupo en cuestión puede estar sin sustituir o puede estar sustituido una o varias veces, por ejemplo de 1 a 3 veces o de 1 a 5 veces. Por ejemplo, un grupo alquilo que está "opcionalmente sustituido" por 1 - 5 átomos de flúor, puede estar sin sustituir o puede contener 1, 2, 3, 4 ó 5 átomos de flúor.

El término "farmacéuticamente aceptable" indica un material que no es inaceptable en sentido biológico ni en ningún otro sentido cuando se emplea en la invención. Por ejemplo, el término "vehículo farmacéuticamente aceptable" indica un material que puede incorporarse a una composición y administrarse a un paciente sin causar efectos biológicos inaceptables ni interactuar de modo inaceptable con otros componentes de la composición. Estos materiales farmacéuticamente aceptables cumplen típicamente las normas exigidas en los ensayos toxicológicos y de fabricación e incluyen los materiales identificados como ingredientes inactivos apropiados por la agencia U.S. Food and Drug Administration.

El término “sal farmacéuticamente aceptable” indica una sal preparada a partir de un ácido o una base, que es aceptable para la administración al paciente, por ejemplo a un mamífero (p.ej. sales que tienen una seguridad aceptable para un mamífero en un régimen de dosificación determinado). Sin embargo, se da por supuesto que las sales abarcadas por la invención no necesitan ser sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo sales de compuestos intermedios, que no están destinadas a la administración a un paciente. Dichas sales pueden derivarse de bases inorgánicas u orgánicas farmacéuticamente aceptables y de ácidos inorgánicos u orgánicos farmacéuticamente aceptables. Además, cuando un compuesto de la fórmula I contiene un resto básico y un resto ácido, entonces pueden formarse iones bipolares (zwitteriónicos) e incluirse dentro del término “sal” tal como se emplea aquí. Las sales derivadas de base inorgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen a las sales de amonio, calcio, cobre, férricas, ferrosas, litio, magnesio, mangánicas, manganosas, potasio, sodio y cinc y similares. Las sales derivadas de bases orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, incluidas las aminas sustituidas, las aminas de origen natural y similares, por ejemplo arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilenodiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilenodiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina, trometamina y similares. Las sales derivadas de ácidos inorgánicos farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de los ácidos bórico, carbónico, halohídricos (bromhídrico, clorhídrico, fluorhídrico o yodhídrico), nítrico, fosfórico, sulfámico y sulfúrico. Las sales derivadas de ácidos orgánicos farmacéuticamente aceptables incluyen las sales de hidroxiacidos alifáticos (p.ej. los ácidos cítrico, glucónico, glicólico, láctico, lactobiónico, málico y tartárico), ácidos monocarboxílicos alifáticos (p.ej. los ácidos acéticos, butírico, fórmico, propiónico y trifluoracético), los aminoácidos (p.ej. ácidos aspártico y glutámico), los ácidos carboxílicos aromáticos (p.ej. los ácidos benzoico, p-clorobenzoico, difenilacético, gentísico, hipúrico y trifenilacético), los hidroxiacidos aromáticos (p.ej. los ácidos o-hidroxibenzoico, p-hidroxibenzoico, 1-hidroxinaftaleno-2-carboxílico y 3-hidroxinaftaleno-2-carboxílico), ascórbico, los ácidos dicarboxílicos (p.ej. los ácidos fumárico, maleico, oxálico y succínico), glucurónico, mandélico, mícico, nicotínico, orótico, pamoico, pantoténico, los ácidos sulfónicos (p.ej. bencenosulfónico, alcanforsulfónico, edisílico, etanosulfónico, isetiónico, metanosulfónico, naftalenosulfónico, naftaleno-1,5-disulfónico, naftaleno-2,6-disulfónico y p-toluenosulfónico), el ácido xinafoico y similares.

El término “cantidad terapéuticamente eficaz” indica una cantidad suficiente para realizar el tratamiento cuando se administra a un paciente que necesite dicho tratamiento, es decir, la cantidad de fármaco requerida para lograr el efecto terapéutico deseado. Por ejemplo, una cantidad terapéuticamente eficaz para tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) es la cantidad de un compuesto requerida, por ejemplo, para reducir, suprimir, eliminar o prevenir los síntomas de la (COPD), o para tratar la causa subyacente de la (COPD). Por otro lado, una cantidad “eficaz” es la cantidad requerida para obtener el resultado deseado, que no necesariamente tiene que coincidir con la cantidad terapéuticamente eficaz. Por ejemplo, cuando se estudia un sistema pensado para antagonizar un receptor muscarínico, una “cantidad eficaz” puede ser la cantidad requerida para antagonizar dicho receptor.

El término “tratar” o “tratamiento” se emplea aquí para indicar el tratamiento de una enfermedad o estado patológico de un paciente (por ejemplo la COPD), por ejemplo de un mamífero (en especial de una persona humana), e incluye: (a) prevenir la aparición de la enfermedad o estado patológico, es decir, un tratamiento profiláctico del paciente; (b) mejorar la enfermedad o estado patológico, es decir, eliminar o provocar la regresión de la enfermedad o estado patológico del paciente; (c) suprimir la enfermedad o estado patológico, es decir, frenar o detener el desarrollo de la enfermedad, trastorno o estado patológico del paciente; o (d) aliviar los síntomas de la enfermedad, trastorno o estado patológico del paciente. Por ejemplo, el término “tratar la COPD” incluye impedir la aparición de la COPD, mejorar la COPD, suprimir la COPD y aliviar los síntomas de la COPD. El término “paciente” se emplea para indicar animales, por ejemplo humanos, que necesitan el tratamiento o la prevención de la enfermedad, que están siendo tratados actualmente para prevenir o tratar una enfermedad o estado patológico específicos, así como los sujetos experimentales, en los que se comprueban los compuestos de la invención y se evalúan, por ejemplo en un modelo animal.

Todos los términos restantes se emplean aquí para indicar el significado que normalmente se entiende entre los expertos de este ámbito técnico.

55 Procedimientos generales de síntesis

Los compuestos de la invención pueden obtenerse a partir de materiales de partida fácilmente disponibles aplicando los siguientes métodos y procedimientos generales, los procedimientos descritos en los ejemplos, o bien empleando otros métodos, reactivos y materiales de partida, que los expertos ya conocen. Aunque los procedimientos siguientes pueden ilustrar una forma de ejecución concreta de la invención, se da por supuesto que pueden obtenerse de modo similar otras formas de ejecución de la invención aplicando el mismo método u otro similar o aplicando otros métodos, reactivos y materiales de partida, que los expertos ya conocen. Se apreciará además que a pesar de que se indican condiciones de proceso típicas o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, proporciones molares entre los reactivos, disolventes, presiones, etc.), podrán aplicarse también otras condiciones de proceso, a menos que se indique lo contrario. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar en función de

los reactivos y disolventes concretos que se empleen, pero los expertos podrán determinar tales condiciones mediante procedimientos rutinarios de optimización.

Además resultará evidente para los expertos en química orgánica que los grupos protectores convencionales pueden ser necesarios para impedir que ciertos grupos funciones sufran reacciones no deseadas. Ya es conocida en la técnica la elección del grupo protector apropiado para un grupo funcional concreto así como de las condiciones adecuadas para la protección y desprotección. Los grupos funcionales que pueden protegerse para impedir reacciones no deseadas incluyen a título ilustrativo los grupos carboxi, grupos amino, grupos hidroxilo, grupos tiol, grupos carbonilo y similares. Los grupos protectores de carboxi representativos incluyen, pero no se limitan a: éteres, por ejemplo ésteres de metilo, etilo, t-butilo, bencilo (Bn), p-metoxibencilo (PMB), 9-fluorenilmetilo (Fm), trimetilsililo (TMS), t-butildimetilsililo (TBS), difenilmetilo (benzhidrilo, DPM) y similares; las amidas y las hidrazidas. Los grupos protectores de hidroxilo representativos incluyen, pero no se limitan a: grupos sililo que incluyen a los grupos tri(alquil C₁₋₆)-sililo, por ejemplo trimetilsililo (TMS), trietilsililo (TES), tert-butildimetilsililo (TBS) y similares; los ésteres (grupos acilo) que incluyen los grupos alcanóilo C₁₋₆, por ejemplo formilo, acetilo y similares; los grupos arilmetilo, por ejemplo bencilo (Bn), p-metoxibencilo (PMB), 9-fluorenilmetilo (Fm), difenilmetilo (benzhidrilo, DPM) y similares; y los éteres. Los grupos protectores de tiol representativos incluyen a los tioéteres y tioésteres. Los grupos protectores de carbonilo representativos incluyen a los acetales y cetales. Si se desea pueden utilizarse grupos protectores distintos de los aquí descritos. Por ejemplo, T.W. Greene y G.M. Wuts han descrito numerosos grupos protectores, su introducción y su eliminación en: *Protecting Groups in Organic Synthesis*, tercera edición, Wiley, Nueva York, 1999, y las referencias que allí se citan. De modo más específico, en los esquemas que se facilitan a continuación se emplean las siguientes abreviaturas y reactivos.

P significa un "grupo protector de amino", un término que indica un grupo protector idóneo para impedir reacciones no deseables del grupo amino. Los grupos protectores de amino representativos incluyen, pero no se limitan a: tert-butoxicarbonilo (BOC); tritilo (Tr), benciloxicarbonilo (Cbz), 9-fluorenilmetoxicarbonilo (Fmoc), formilo, trimetilsililo (TMS), tert-butildimetilsililo (TBDMS) y similares. Se emplean técnicas estándar de desprotección para eliminar el grupo P. Por ejemplo, la desprotección del grupo N-BOC puede realizarse con un reactivo por ejemplo del tipo HCl o HCl 4M en 1,4-dioxano.

Las base idóneas para emplear en estos esquemas incluyen a título ilustrativo, pero no limitante: el carbonato potásico, el carbonato cálcico, el carbonato sódico, la trietilamina, piridina, 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (DBU), N,N-diisopropiletilamina (DIPEA), hidróxido sódico, hidróxido potásico, t-butóxido potásico e hidruros metálicos.

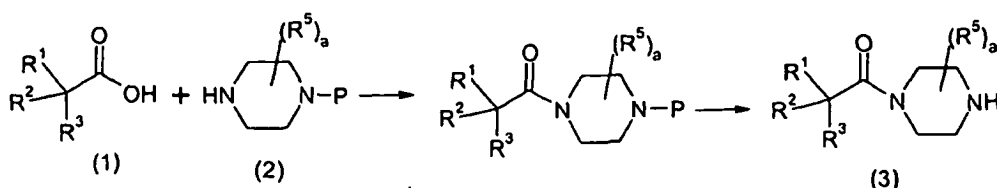
Los diluyentes o disolventes inertes apropiados para el uso en estos esquemas incluyen a título ilustrativo, pero no limitante: el tetrahidrofurano (THF), acetonitrilo (MeCN), tolueno, N,N-dimetilformamida (DMF), sulfóxido de dimetilo (DMSO), diclorometano (DCM), cloroformo = triclorometano (CHCl₃), 1,4-dioxano, metanol, etanol, agua y similares.

Los reactivos apropiados para la condensación de un ácido carboxílico con una amina incluyen el 1-hidroxibenzotriazol hidratado (HOBt), hexafluorofosfato de benzotriazol-1-iloxitris(dimetilamino)fosfonio (PyBOP), hexafluorofosfato de O-(7-azabenzotriazol-1-il-N,N,N',N'-tetrametiluronio (HATU), dicitlohexilcarbodiimida (DCC), N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (EDCI), carbonildiimidazol (CDI) y similares. Las reacciones de condensación se realizan en un diluyente inerte, en presencia de una base y se llevan a cabo en las condiciones convencionales de formación del enlace amídico.

Todas las reacciones se llevan a cabo normalmente a una temperatura comprendida entre -78°C y 100°C, por ejemplo a temperatura ambiente. Por lo general se hace el seguimiento de las reacciones por cromatografía de capa fina (CCF), cromatografía de líquidos de alta eficacia (HPLC) y/o CL-EM hasta que finalizan. Las reacciones pueden finalizar en pocos minutos o completarse al cabo de varias horas, normalmente de 1-2 horas a 48 horas. Una vez finalizada la reacción, la mezcla puede seguir tratándose con el fin de obtener el producto deseado. Por ejemplo, la mezcla puede someterse a uno o varios de los procedimientos siguientes: separación o reparto (p.ej. entre acetato de etilo y agua o entre en acetato de etilo con un 5% de THF y ácido fosfórico 1M); extracción (p.ej. con acetato de etilo, CHCl₃, DCM, KOH/cloroformo); lavado (p.ej. con una solución acuosa saturada de NaCl, una solución saturada de NaHCO₃, Na₂CO₃ (5%), CHCl₃, HCl o NaOH); secado (p.ej. con MgSO₄ o Na₂SO₄); eliminación del disolvente (p.ej. con vacío); filtración; concentración (p.ej. con vacío); y/o purificación (p.ej. cromatografía a través de gel de sílice, cromatografía flash o HPLC en fase inversa).

A título ilustrativo, los compuestos de la fórmula I pueden obtenerse por uno o varios de los siguientes procedimientos. Los reactivos son productos comerciales y/o compuestos que pueden obtenerse fácilmente por técnicas que los expertos conocen bien.

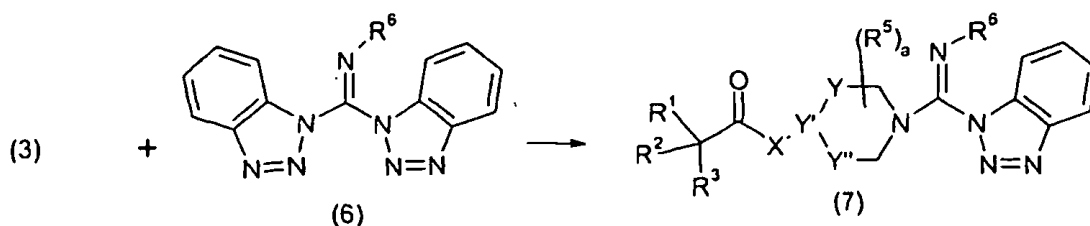
Formación del grupo de cabeza, en el que X es un enlace



Se forma el compuesto (3) por condensación de los compuestos (1) y (2) en las condiciones convencionales de formación del enlace amídico, y posterior paso de desprotección.

Los ejemplos de compuestos (1) incluyen el ácido (R)-ciclopentilhidroxifenil-acético (R^1 es ciclopentilo, R^2 es fenilo y R^3 es hidroxilo). Los ejemplos de compuestos (2) incluyen al 1-piperazinacarboxilato de t-butilo ("a" es 0, P es BOC).

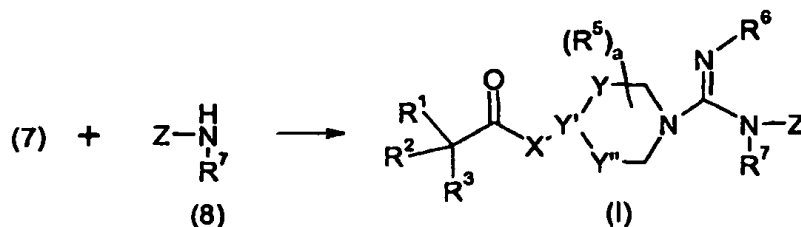
Adición del resto guanidina al grupo de cabeza - desplazamiento del 1er resto benzotriazol



Se añade la DIPEA al compuesto (3) en un disolvente apropiado. Después se añade el compuesto (6), el agente guanidinante, y se agita la mezcla reaccionante a temperatura ambiente hasta que finaliza, normalmente de 30 minutos a varias horas, obteniéndose el compuesto (7), que se emplea directamente para el paso siguiente. El compuesto (6) se obtiene fácilmente por el método descrito por Katritzky y col., J. Org. Chem. 65(23), 8080-8082, 2000. Un ejemplo de compuesto (6) es la C-(bis-benzotriazol-1-il)metilenoamina (R^6 es H).

Obtención de la guanidina sustituida

(Formación de guanidina tri- o tetrasustituida)



Se añade el compuesto (7) al compuesto (8) y se mantiene la mezcla a temperatura ambiente o se calienta ($\sim 60^\circ\text{C}$) hasta que finaliza la reacción, normalmente durante 14-24 horas. Se enfría la mezcla reaccionante a temperatura ambiente, si fuera necesario, y se elimina el disolvente. Se purifica el material en bruto, obteniéndose el compuesto de la fórmula I. Los ejemplos de compuesto (8) incluyen la 2-tiofenometil-amina, 4-hidroxibencil-amina y bencilamina.

Más detalles sobre las condiciones específicas de reacción u otros procedimientos de obtención de compuestos representativos de la invención o de compuestos intermedios de los mismos se describen en los ejemplos facilitados a continuación.

Utilidad

Los compuestos de la invención poseen actividad antagonista del receptor muscarínico y en una forma de ejecución en concentraciones nanomolares. En una forma de ejecución, los compuestos de la invención son selectivos para inhibir la actividad del receptor muscarínico del subtipo M_3 por encima de la actividad del receptor muscarínico del subtipo M_2 . En otra forma de ejecución, los compuestos de la invención son selectivos para inhibir la actividad de los receptores muscarínicos de los subtipos M_3 y M_2 por encima de la actividad de los receptores muscarínicos de los subtipos M_1 , M_4 y M_5 . Además, se espera que los compuestos de la invención posean un período deseable de acción. Por consiguiente, en otra forma específica de ejecución, la invención se refiere a compuestos que tienen un período de acción superior a 24 horas. Además, se espera también que los compuestos de la invención presenten efectos secundarios reducidos, por ejemplo la boca seca, en las dosis eficaces cuando se administran por

inhalación, si se comparan con otros antagonistas ya conocidos de receptor muscarínico administrados por inhalación (por ejemplo el tiotropio).

5 Una medida de la afinidad de un compuesto para el subtipo de receptor M_3 consiste en la constante de disociación de inhibición (K_i) de la fijación sobre el receptor. Se espera que los compuestos de la invención tengan una K_i para el subtipo de receptor M_3 menor que o igual a 100 nM, cuando se determina, por ejemplo, por un ensayo "in vitro" de desplazamiento de radioligando. Los compuestos de interés especial incluyen los que tienen una K_i menor que o igual a 50 nM y en otra forma de ejecución, los compuestos tienen una K_i menor que o igual a 10 nM y en otra forma de ejecución adicional, los compuestos tienen una K_i menor que o igual a 1,0 nM. Los compuestos de un interés muy especial incluyen a los que tienen una K_i menor que o igual a 500 pM y en otra forma de ejecución, los compuestos tienen una K_i menor que o igual a 200 pM. Hay que advertir que, en algunos casos, los compuestos de la invención pueden tener una actividad antagonista débil del receptor muscarínico. En tales casos, los expertos podrán reconocer que estos compuestos pueden seguir siendo útiles como herramientas de investigación.

15 Son también de interés especial los compuestos que tienen una ID_{50} menor que o igual a 100 $\mu\text{g/ml}$ a las 24 horas de la dosificación, más en especial los compuestos que tienen una ID_{50} menor que o igual a 30 $\mu\text{g/ml}$ a las 24 horas de la dosificación.

20 Los ejemplos de ensayos para determinar las propiedades de los compuestos de la invención, por ejemplo la actividad antagonista del receptor muscarínico, se describe en los ejemplos e incluyen a título ilustrativo, pero no limitante: los ensayos para medir la fijación de los receptores muscarínicos hM_1 , hM_2 , hM_3 , hM_4 y hM_5 (por ejemplo, del modo descrito en el ejemplo 1). Los ensayos funcionales útiles para determinar la actividad de los compuestos de la invención para antagonizar a los receptores muscarínicos incluyen a título ilustrativo pero no limitante los ensayos para medir los cambios mediados por el ligando en el monofosfato de adenosina cíclico intracelular (cAMP), los cambios mediados por el ligando en la actividad de la enzima adenilil-ciclase (que sintetiza el cAMP), los cambios mediados por el ligando en la incorporación del 5'-O-(γ -tio)trifosfato de guanosina ($[S^{35}]GTP\gamma S$) a las membranas aisladas mediante el reemplazo del ($[S^{35}]GTP\gamma S$ por el GDP catalizado por el receptor, los cambios mediados por el ligando en los iones calcio intracelulares libres (medidos, por ejemplo en un lector de imágenes de fluorescencia en placas (fluorescence-linked imaging plate reader o FLIPR[®] de Molecular Devices, Inc.) y similares. Los ejemplos de ensayos se describen en el ensayo 2. Se espera que los compuestos de esta invención antagonicen o disminuyan la activación de los receptores muscarínicos en alguno de los ensayos enumerados previamente o en ensayos de índole similar y que puedan utilizarse normalmente para estos estudios en una concentración comprendida entre 0,1 y 100 nanomolar. Por lo tanto, los ensayos mencionados previamente son útiles para determinar la utilidad terapéutica, por ejemplo la actividad broncodilatante, de los compuestos de la invención.

35 Otras propiedades y utilidades de los compuestos de la invención pueden demostrarse realizando varios ensayos "in vitro" e "in vivo" bien conocidos de los expertos en biología. Por ejemplo, la potencia "in vivo" de los compuestos de la invención puede medirse en un modelo animal, por ejemplo el modelo de Einthoven. Resumiendo, se evalúa la actividad broncodilatadora de un compuesto en un animal anestesiado (el modelo de Einthoven), que emplea presión de ventilación como medida sustitutiva de la resistencia respiratoria. Véase, por ejemplo, Einthoven, Pflugers Arch. 51, 367-445, 1892; y Mohammed y col., Pulm. Pharmacol. Ther. 13(6), 287-92, (2000), así como el ensayo 3, en el que se describe un modelo de Einthoven en ratas. En una forma de ejecución, un compuesto de la invención administrado en una dosis de 100 $\mu\text{g/ml}$ en el modelo de Einthoven en ratas produce la inhibición de la respuesta broncoconstrictora en un valor mayor que o igual al 35% al cabo de 24 horas y en otra forma de ejecución produce la inhibición en un valor mayor que o igual al 70 % al cabo de 24 horas. Otro ensayo "in vivo" útil es el ensayo del antisialagogo en la rata (por ejemplo, tal como se describe en el ensayo 4).

50 Se espera que los compuestos de la invención sean útiles como agentes terapéuticos para tratar estados patológicos mediados por los receptores muscarínicos. Se espera, pues, que los pacientes que padecen una enfermedad o trastorno, cuyo tratamiento consiste en el bloqueo del receptor muscarínico, puedan tratarse administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de un antagonista de receptor muscarínico de la invención. Tales estados patológicos incluyen, por ejemplo, los trastornos pulmonares o enfermedades que incluyen las asociadas con la obstrucción reversible de las vías respiratorias, por ejemplo la enfermedad pulmonar obstructiva crónica la bronquitis crónica y jadeante y el enfisema), el asma, la fibrosis pulmonar, la rinitis alérgica, la rinorrea y similares. Otros estados patológicos que pueden tratarse con los antagonistas de receptor muscarínico son los trastornos del tracto genitourinario, por ejemplo la vejiga hiperactiva o la hiperactividad del detrusor y sus síntomas; los trastornos del tracto gastrointestinal, por ejemplo el síndrome del intestino irritable, la enfermedad diverticular, la acalasia, los trastornos de hipermotilidad gastrointestinal y la diarrea; las arritmias cardíacas, por ejemplo la bradicardia sinusal; la enfermedad de Parkinson; los trastornos cognitivos, por ejemplo la enfermedad de Alzheimer; la dismenorrea; y similares.

60 La cantidad de agente activo administrada por dosis o la cantidad total administrada por día puede estar predeterminada o puede determinarse en función del paciente individual, tomando en consideración numerosos

factores, incluida la naturaleza y la severidad del estado patológico del paciente, el estado patológico a tratar, la edad, el peso y el estado general de salud del paciente, la tolerancia del paciente al agente activo, la vía de administración, las consideraciones farmacológicas, por ejemplo la actividad, la eficacia, los perfiles de farmacocinética y toxicología del agente activo y también los agentes secundarios que puedan administrarse simultáneamente y similares. El tratamiento de un paciente que sufre una enfermedad o estado patológico (por ejemplo la COPD) puede iniciarse con una dosificación predeterminada o una dosificación determinada por el facultativo que atiende al paciente y se continuará durante el período de tiempo que sea necesario para prevenir, mejorar, suprimir o aliviar los síntomas de la enfermedad o del estado patológico. Los pacientes que se someten a dicho tratamiento se someterán también a un control rutinario (seguimiento) para determinar la eficacia de la terapia. Por ejemplo, cuando se trata la COPD, puede tomarse la mejora significativa del volumen expirado formado (medido en un segundo) para determinar la eficacia del de tratamiento. Los expertos ya conocen otros indicadores similares de otras enfermedades y estados patológicos aquí descritos, que son también fácilmente accesibles a los facultativos que atienden a los enfermos. El seguimiento continuo realizado por el facultativo asegurará que en cada momento se administre la cantidad óptima de agente activo, además facilitará la determinación del período de tratamiento. Esto es especialmente importante cuando los agentes secundarios se administran simultáneamente, ya que su elección, dosificación y período de terapia también requieren un ajuste. En este sentido, el régimen de tratamiento y de dosificación pueden ajustarse a lo largo del período de la terapia de modo que se administre la cantidad mínima de agente activo, que despliegue la eficacia deseada, y además que la administración se continúe solamente durante el tiempo necesario para tratar con éxito la enfermedad o estado patológico.

Por consiguiente, en una forma de ejecución, los compuestos de la invención son útiles para tratar trastornos de músculos lisos de mamíferos, incluidos los humanos, y sus animales de compañía (p.ej. perros, gatos, etc.). Estos trastornos de la musculatura lisa incluyen a título ilustrativo la vejiga hiperactiva, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica y el síndrome del intestino irritable. Normalmente, las dosis apropiadas para tratar los trastornos de la musculatura lisa u otros trastornos mediados por los receptores muscarínicos se situarán entre 0,14 µg/kg/día y 7 mg/kg/día de agente activo; incluyendo desde 0,15 µg/kg/día a 5 mg/kg/día. Pero una persona humana media, que pese 70 kg, esto se traduce en una cantidad de 10 µg al día a 500 mg al día de agente activo.

En una forma específica de ejecución, los compuestos de la invención son útiles para tratar trastornos pulmonares o respiratorios, por ejemplo la COPD o el asma, en mamíferos, incluidos los humanos, administrando a un paciente una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto. En general, la dosis para tratar un trastorno pulmonar se situará entre 10 y 1500 µg/día. Los expertos entienden el término "COPD" como incluyente de una gran variedad de estados patológicos respiratorios, incluida la bronquitis obstructiva crónica y el enfisema, tal como se ilustra en el artículo de Barnes, N. Engl. J. Med. 343, 269-78, 2000 y las referencias que allí se citan. Cuando se emplean para tratar un trastorno pulmonar, los compuestos de la invención se administran opcionalmente en combinación con otros agentes terapéuticos, por ejemplo un agonista de adrenorreceptor β_2 ; un corticosteroide, un agente antiinflamatorio no esteroideo, o combinaciones de los mismos.

Cuando se administran por inhalación, los compuestos de la invención tienen normalmente el efecto de producir broncodilatación. Por consiguiente, la invención encuentra su utilidad en un método para producir la broncodilatación en un paciente, que consiste en administrar al paciente una cantidad de un compuesto de la invención, que produzca la broncodilatación. En general, la dosis terapéuticamente eficaz para producir la broncodilatación se situará entre 10 y 1500 µg/día.

En otra forma de ejecución, los compuestos de la invención se emplean para tratar la vejiga hiperactiva. Cuando se emplean para tratar la vejiga hiperactiva, la dosis típica se situará entre 1,0 y 500 mg/día. En otra forma de ejecución adicional, los compuestos de la invención se emplean para tratar el síndrome del intestino irritable. Cuando se emplean para tratar el síndrome del intestino irritable, los compuestos de la invención se administran normalmente por vía oral o rectal y la dosis típica se situará entre 1,0 y 500 mg/día.

Dado que los compuestos de esta invención poseen actividad antagonista de los receptores muscarínicos, dichos compuestos son también útiles como herramientas de investigación para analizar o estudiar sistemas biológicos o muestras que contengan los receptores muscarínicos. En dichos estudios puede utilizarse cualquier sistema o muestra biológicos que contengan los receptores muscarínicos M_1 , M_2 , M_3 , M_4 y/o M_5 , que pueden realizarse "in vitro" o "in vivo". Los sistemas o muestras biológicos representativos para dichos estudios incluyen, pero no se limitan a: células, extractos celulares, membranas plasmáticas, muestras de tejidos, órganos aislados, mamíferos (por ejemplo ratones, ratas, cobayas, conejos, perros, cerdos, humanos, etcétera) y similares, siendo de un interés especial los mamíferos. En una forma especial de ejecución de la invención se antagoniza un receptor muscarínico de un mamífero con la administración de una cantidad de un compuesto de la invención, que antagonice al receptor muscarínico. Los compuestos de la invención pueden utilizarse también como herramientas de investigación para efectuar ensayos biológicos con dichos compuestos.

Cuando se emplean como herramientas de investigación se ponen en contacto normalmente una muestra o sistema biológico que contiene un receptor muscarínico con una cantidad de un compuesto de la invención que antagonice al receptor muscarínico. Después de exponer la muestra o sistema biológico al compuesto, se determinan los efectos

- del antagonismo contra el receptor muscarínico aplicando procedimientos y equipos convencionales, por ejemplo midiendo la fijación en un ensayo de unión de radioligando o determinando los cambios mediados por el ligando en un ensayo funcional o determinando la cantidad de broncoprotección que aporta el compuesto en un ensayo de broncoprotección realizado en un mamífero. La exposición abarca el contacto de las células o del tejido con el compuesto, la administración del compuesto a un mamífero, por ejemplo por vía i.p. o i.v., etcétera. Este paso de determinación puede consistir en medir la respuesta, es decir, un análisis cuantitativo o puede consistir en la observación, es decir, un análisis cualitativo. Medir una respuesta supone, por ejemplo, determinar los efectos del compuesto en una muestra o sistema biológico aplicando procedimientos y equipo convencionales, por ejemplo un procedimiento de fijación de radioligando y medir los cambios operados por el ligando en ensayos funcionales. Los resultados de los análisis pueden utilizarse para determinar el nivel de actividad así como la cantidad de compuesto necesaria para lograr el efecto deseado, es decir, una cantidad de antagonice al receptor muscarínico. Normalmente, el paso de la determinación implica determinar los efectos mediados por el ligando del receptor muscarínico.
- Además, los compuestos de la invención pueden utilizarse como herramientas de investigación para evaluar otros compuestos químicos y por ello son también útiles para ensayos de exploración, para descubrir por ejemplo nuevos compuestos que tengan actividad de fijación sobre el receptor muscarínico. Para ello se emplea un compuesto de la invención como patrón en un ensayo que permita comparar los resultados obtenidos con un compuesto de ensayo y con los compuestos de la invención para identificar aquellos compuestos de ensayo que tienen una unión aproximadamente igual o superior, si es que tienen alguna. Por ejemplo, los datos de fijación sobre el receptor muscarínico (determinados, por ejemplo, por ensayos "in vitro" de desplazamiento de radioligando) en el caso de un compuesto de ensayo o un grupo de compuestos de ensayo se compara con los datos de fijación sobre el receptor muscarínico en el caso de un compuesto de la invención para identificar aquellos compuestos de ensayo, que tienen las propiedades deseadas, p.ej. los compuestos de ensayo que tienen una fijación aproximadamente igual o superior a un compuesto de la invención, suponiendo que tengan alguna. Como alternativa pueden determinarse, por ejemplo, los efectos broncoprotectores de los compuestos de ensayo y un compuesto de la invención en un ensayo de broncoprotección realizado en un mamífero y se comparan estos datos para identificar los compuestos de ensayo que proporcionan efectos broncoprotectores iguales o superiores. Este aspecto de la invención incluye, como formas de ejecución separadas, no solo la generación de datos comparativos (realizando los ensayos oportunos), sino también el análisis de los datos de ensayo para identificar los compuestos de interés. Por lo tanto puede evaluarse un compuesto en un ensayo biológico, con un método que consiste en los pasos siguientes: (a) realizar un ensayo biológico con un compuesto a estudiar para proporcionar un primer valor de ensayo; (b) realizar el ensayo biológico con un compuesto de la invención para proporcionar un segundo valor de ensayo; dicho paso (a) se realiza antes, después o al mismo tiempo que el paso (b); y (c) comparar el primer valor de ensayo del paso (a) con el segundo valor de ensayo del paso (b). Los ejemplos de ensayos biológicos incluyen los ensayos de fijación sobre el receptor muscarínico.

Composiciones farmacéuticas y formulaciones

- Los compuestos de la invención se administran normalmente a un paciente en forma de composición o formulación farmacéutica. Tales composiciones farmacéuticas pueden administrarse al paciente por cualquier vía de administración aceptable, incluyendo, pero sin limitarse a ellas: la inhalada, la oral, nasal, tópica (incluida la transdérmica) y la parenteral. Además, los compuestos de la invención pueden administrarse, por ejemplo por vía oral, en múltiples dosis al día, en una sola dosis al día o en una sola dosis a la semana. Se da por supuesto que puede utilizarse cualquier forma de los compuestos de la invención (es decir, base libre, sal farmacéuticamente aceptable, solvato, etc.) que sea apropiada para el modo particular de administración de las composiciones farmacéuticas en cuestión.

- Por consiguiente, en una forma de ejecución, la invención se refiere a una composición farmacéutica que contiene un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto de la invención. Si se desea, las composiciones pueden contener otros agentes terapéuticos y/o de formulación. Un "compuesto de la invención" puede denominarse también en este documento como "agente activo".

- Las composiciones farmacéuticas de esta invención suelen contener una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la invención. Sin embargo, los expertos reconocerán que una composición farmacéutica puede contener más de la cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, composiciones a granel, o menos de la cantidad terapéuticamente eficaz, es decir, dosis unitarias individuales diseñadas para la administración múltiple con el fin de lograr una cantidad terapéuticamente eficaz. En una forma de ejecución, la composición contendrá del 0,01 al 95 % en peso de agente activo, incluyendo del 0,01 al 30 % en peso, por ejemplo del 0,01 al 10 % en peso, la cantidad real dependerá de la formulación propiamente dicha, la vía de administración, la frecuencia de dosificación, etcétera. En otra forma de ejecución, una composición idónea para la inhalación contiene, por ejemplo, del 0,01 al 30 % en peso del agente activo, mientras que en otra forma de ejecución adicional contiene del 0,01 al 10 % en peso de agente activo.

En las composiciones farmacéuticas de la invención puede utilizarse cualquier vehículo o excipiente convencional. La elección de un vehículo o excipiente concreto o de combinaciones de vehículos o excipientes dependerá del modo de administración que se vaya a emplear para tratar un paciente particular o del tipo de enfermedad o estado patológico. En este sentido, la preparación de una composición adecuada para un modo concreto de administración es perfectamente conocida de los expertos en ciencia farmacéutica. Además, los vehículos o excipientes utilizados en estas composiciones son productos comerciales. Para mayor ilustración se remite a las técnicas convencionales de formulación, descritas por ejemplo en Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20ª edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); y H.C. Ansel y col., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7ª edición, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

Los ejemplos representativos de materiales que pueden utilizarse como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a los siguientes: azúcares, por ejemplo lactosa, glucosa y sucrosa; almidones, por ejemplo almidón de maíz y almidón de patata; celulosa, por ejemplo celulosa microcristalina y sus derivados, por ejemplo carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes, por ejemplo manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, por ejemplo propilenglicol; polioles, por ejemplo glicerina, sorbita, manita y polietilenglicol; ésteres, por ejemplo oleato de etilo y laurato de etilo; agar; tampones, por ejemplo hidróxido magnésico e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; soluciones tampón fosfato; gases propelentes comprimidos, por ejemplo hidrocarburos clorofluorados e hidrocarburos fluorados; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en composiciones farmacéuticas.

Las composiciones farmacéuticas se fabrican normalmente por mezclado a fondo, íntimo, del agente activo con un vehículo farmacéuticamente aceptable y uno o más ingredientes opcionales. Después puede moldearse la mezcla uniforme resultante o cargarse en tabletas, cápsulas, píldoras, botes, cartuchos, dispensadores y similares empleando procedimientos y equipos convencionales.

En una forma de ejecución, las composiciones farmacéuticas son apropiadas para la administración inhalada. Las composiciones apropiadas para la administración inhalada se presentarán normalmente en forma de aerosol o de polvo. Tales composiciones se administran normalmente empleando dispositivos dosificadores bien conocidos, por ejemplo inhaladores de tipo nebulizador, inhaladores de polvo seco o inhaladores de dosis calibrada, cuyos ejemplos se describen a continuación.

En una forma específica de ejecución de la invención se administra la composición que contiene el agente activo por inhalación empleando un inhalador nebulizador. Estos dispositivos nebulizadores producen normalmente una corriente de aire de alta velocidad, que produce la pulverización de la composición en forma de neblina que se introduce en el tracto respiratorio del paciente. Por consiguiente, cuando se formula para el uso en un inhalador nebulizador se disuelve normalmente el agente activo en un vehículo apropiado para formar una solución. Como alternativa, el agente activo puede micronizarse y combinarse en un vehículo apropiado para formar una suspensión de partículas micronizadas de tamaño respirable, "micronizado" se define normalmente como partículas que, por lo menos en un 90 por ciento, tienen en promedio un diámetro inferior a 10 μm . El término "diámetro másico medio" indica un diámetro tal, que la mitad de las partículas tienen un diámetro superior y la otra mitad de las partículas tienen un diámetro inferior.

Los dispositivos nebulizadores apropiados incluyen el Resimat[®] Soft Mist[™] Inhaler (Boehringer Ingelheim), el AERx[®] Pulmonary Delivery System (Aradigm Corp.) y el PARI LC Plus Reusable Nebulizer (Pari GmbH). Un ejemplo de composición para utilizar en un inhalador nebulizador consta de una solución acuosa isotónica que contiene de 0,05 $\mu\text{g}/\text{ml}$ a 10 mg/ml de un compuesto de la invención. En una forma de ejecución, dicha solución tiene un pH de aprox. 4-6.

En otra forma específica de ejecución de la invención se administra una composición que contiene el agente activo por inhalación empleando un inhalador de polvo seco (DPI). Estos DPI administran normalmente el agente activo en forma de polvo de buena fluidez, que se dispersa en una corriente de aire del paciente durante la inspiración. Con el fin de lograr un polvo de buena fluidez, el agente activo se formula normalmente con un excipiente apropiado, por ejemplo lactosa, almidón, manita, dextrosa, ácido poliláctico, glicólidos de ácido poliláctico y combinaciones de los mismos. Normalmente el agente activo se microniza y se combina con un excipiente para formar una mezcla apropiada para la inhalación. Por consiguiente, en una forma de ejecución de la invención, el agente activo está en forma micronizada. Por ejemplo, una composición representativa para utilizar en un DPI contiene lactosa seca, que tiene un tamaño de partícula entre 1 μm y 100 μm (p.ej. lactosa molida seca) y partículas micronizadas del agente activo. Se puede fabricar la formulación de polvo seco de este tipo, por ejemplo, combinando la lactosa con el agente activo y después produciendo la mezcla seca de los componentes. Como alternativa, si se desea, el agente activo puede formularse sin excipiente. Entonces se carga normalmente la composición en un DPI, o en cartuchos o cápsulas de inhalación que se emplean en los DPI. Los DPI ya son conocidos por los expertos y muchos dispositivos de este tipo son productos comerciales, los dispositivos representativos incluyen al Aerolizer[®] (Novartis), airmax[™]

(IVAX), ClickHaler[®] (Innovata Biomed), Diskhaler[®] (GlaxoSmithKline), Diskus[®] o Accuhaler (GlaxoSmithKline), Easyhaler[®] (Orion Pharma), Eclipse[™] (Aventis), FlowCaps[®] (Hovione), Handihaler[®] (Boehringer Ingelheim), Pulvinal[®] (Chiesi), Rotahaler[®] (GlaxoSmithKline), SkyeHaler[™] o Certihaler[™] (SkyePharma), Twisthaler (Schering-Plough), Turbuhaler[®] (AstraZeneca), Ultrahaler[®] (Aventis) y similares.

5 En otra forma específica adicional de ejecución de la invención, se administra la composición que contiene el agente activo por inhalación empleando un inhalador de dosis calibrada (MDI). Estos NMI descargan normalmente una cantidad medida del agente activo empleando un gas propelente comprimido. Por tanto, las formulaciones de dosis calibrada contiene normalmente una solución o una suspensión del agente activo en un propelente licuado, por ejemplo un hidrocarburo clorofluorado, por ejemplo el CCl₃F o un alcano hidrofluorado (HFA), por ejemplo el 1,1,1,2-tetrafluoretano (HFA 134a) o el 1,1,1,2,3,3,3-heptafluor-n-propano (HFA 227), aunque en general se prefieren los HFA, debido a los problemas que tienen los hidrocarburos clorofluorados, ya que afectan la capa de ozono. Los componentes opcionales adicionales de las formulaciones HFA incluyen a los co-disolventes, por ejemplo etanol o pentano y tensioactivos, por ejemplo trioleato de sorbita, ácido oleico, lecitina y glicerina. Véase por ejemplo la patente U.S. 5,225,183 de Purewal y col., EP 0717987 A2 (Minnesota Mining and Manufacturing Company) y WO 92/22286 (Minnesota Mining and Manufacturing Company). Una composición representativa para utilizar en los MDI contiene aprox. del 0,01 al 5 % en peso de agente activo; del 0 al 20 % en peso de etanol; y del 0 al 5 % en peso de tensioactivo; el resto es el propelente HFA. Estas composiciones se fabrican normalmente cargando un hidrofluoralcano enfriado o comprimido en un recipiente apropiado que contiene el agente activo, etanol (si está presente) y el tensioactivo (si está presente). Para fabricar la suspensión se microniza el agente activo y después se combina con el propelente. A continuación se carga la formulación en el bote del aerosol, que constituye una porción del MDI. Los expertos ya conocen los MDI y muchos dispositivos de este tipo son productos comerciales, cuyos ejemplos representativos incluyen al AeroBid Inhaler System (Forest Pharmaceuticals), Atrovent Inhalación Aerosol (Boehringer Ingelheim), Flovent[®] (GlaxoSmithKline), Maxair Inhaler (3M), Proventil[®] Inhaler (Schering), Serevent[®] Inhalación Aerosol (Glaxo-SmithKline) y similares. Como alternativa se puede fabricar una formulación en suspensión por secado de atomización de un recubrimiento de tensioactivo sobre las partículas micronizadas del agente activo. Véase por ejemplo WO 99/53901 (Glaxo Grupo Ltd.) y WO 00/61108 (Glaxo Grupo Ltd.).

30 Los ejemplos adicionales de procesos de fabricación de partículas y formulaciones respirables y dispositivos apropiados para la dosificación por inhalación se han descrito en las patentes U.S. 5,874,063 de Briggner y col.; 5,983,956 de Trofast; 6,221,398 de Jakupovic y col.; 6,268,533 de Gao y col.; 6,475,524 de Bisrat y col.; y 6,613,307 de Cooper.

35 En otra forma de ejecución, las composiciones farmacéuticas son apropiadas para la administración oral. Las composiciones apropiadas para la administración oral pueden presentarse en forma de cápsulas, tabletas, píldoras, rombos, sellos, grageas, polvos, gránulos; soluciones o suspensiones en un líquido acuoso o no acuoso; emulsiones líquidas de aceite en agua o agua en aceite; elixires o jarabes; y similares; cada uno de ellos contiene una cantidad predeterminada del agente activo.

40 Cuando se destinan a la administración oral en una forma de dosificación sólida (es decir, en forma de cápsulas, tabletas, píldoras y similares), la composición contendrá normalmente el agente activo y uno o varios vehículos farmacéuticamente aceptables, por ejemplo citrato sódico o fosfato dicálcico. Las formas de dosificación sólida pueden contener además: cargas de relleno o extensores, por ejemplo almidones, celulosa microcristalina, lactosa, sucrosa, glucosa, manita, y/o ácido silícico; aglutinantes, por ejemplo carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sucrosa y/o acacia; humectantes, por ejemplo glicerina; agentes desintegrantes, por ejemplo agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y/o carbonato sódico; agentes retardantes de solución, por ejemplo parafinas; acelerantes de absorción, por ejemplo compuestos de amonio cuaternario; agentes humectantes, por ejemplo alcohol cetílico y/o monoestearato de glicerina; absorbentes, por ejemplo caolín y/o arcilla de tipo bentonita; lubricantes, por ejemplo talco, estearato cálcico, estearato magnésico, polietilenglicoles sólidos, lauril-sulfato sódico, y/o mezclas de los mismos; agentes colorantes; y agentes tampón.

55 En las composiciones farmacéuticas pueden estar presentes además los agentes de liberación, agentes humectantes, agentes de recubrimiento, edulcorantes, saborizantes y aromas, conservantes y antioxidantes. Los ejemplos de agentes de recubrimiento de tabletas, cápsulas, píldoras y similares incluyen los empleados para los recubrimientos entéricos, por ejemplo acetato-ftalato de celulosa, poli(acetato-ftalato de vinilo), ftalato de hidroxipropil-metilcelulosa, copolímeros de ácido metacrílico y metacrilato, acetato-trimelitato de celulosa, carboximetil-etilcelulosa, acetato-succinato de hidroxipropil-metilcelulosa y similares. Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen: antioxidantes solubles en agua, por ejemplo ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato sódico, metabisulfato sódico, sulfato sódico y similares; antioxidantes solubles en aceite, por ejemplo palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado, hidroxitolueno butilado, lecitina, galato de propilo, alfa-tocoferol y similares; y agentes quelantes de metales, por ejemplo ácido cítrico, ácido etilendiaminatetraacético, sorbita, ácido tartárico, ácido fosfórico y similares.

Las composiciones pueden formularse para que proporcionen una liberación lenta o controlada del agente activo empleando, a título ilustrativo, hidroxipropilmetilcelulosa en varias proporciones u otras estructuras poliméricas, liposomas y/o microesferas.

5 Además, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden contener agentes opacificantes y pueden formularse de modo que liberen el agente activo solamente o de modo preferido en una cierta porción del tracto gastrointestinal, opcionalmente de modo retardado. Los ejemplos de composiciones englobantes que pueden utilizarse incluyen las sustancias poliméricas y las ceras. El agente activo puede presentarse también en forma
10 microencapsulada, si procede, en uno o varios de los excipientes descritos previamente.

Estas formas líquidas de dosificación para la administración oral incluyen, a título ilustrativo, emulsiones farmacéuticamente aceptables, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires. Las formas líquidas de dosificación contienen normalmente el agente activo y un diluyente inerte, por ejemplo, agua u otros disolventes,
15 agentes solubilizantes y emulsionantes, por ejemplo alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (p.ej. aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerina, alcohol tetrahidrofurílico, polietilenglicoles y ésteres de sorbita de ácidos grasos y mezclas de los mismos. Las suspensiones pueden contener agentes de suspensión, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietileno sorbita y ésteres de sorbita,
20 celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y tragacanto y mezclas de los mismos.

Cuando se destinan a la administración oral, las composiciones farmacéuticas de la invención pueden envasarse en formas de dosificación unitarias. El término "forma de dosificación unitaria" indica una unidad físicamente discreta, idónea para la dosificación a un paciente, es decir, cada unidad contiene una cantidad predeterminada del agente
25 activo, calculada para producir el efecto terapéutico deseado, ya sea sola, ya sea en combinación con una o más unidades adicionales. Por ejemplo, dichas formas de dosificación unitarias pueden ser cápsulas, tabletas, píldoras y similares.

Los compuestos de la invención pueden administrarse también por vía parenteral (p.ej. por inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular o intraperitoneal). Para tal administración, el agente activo se presenta en forma de solución, suspensión o emulsión estériles. Los ejemplos de disolventes para la fabricación de estas formulaciones incluyen: agua, solución salina, alcoholes de bajo peso molecular, por ejemplo propilenglicol, polietilenglicol, aceites, gelatina, ésteres de ácidos grasos, por ejemplo oleato de etilo y similares. Una formulación parenteral típica es una solución acuosa estéril del agente activo de pH 4-7. Las formulaciones parenterales pueden contener también uno o
35 más solubilizantes, estabilizantes, conservantes, agentes humectantes, emulsionantes y agentes dispersantes. Estas formulaciones pueden esterilizarse por ejemplo empleando un medio inyectable estéril, un agente esterilizante, filtración, irradiación o calor.

Los compuestos de la invención pueden administrarse también por vía transdérmica, empleando los sistemas y excipientes ya conocidos para dicha administración transdérmica. Por ejemplo, el compuesto puede mezclarse con intensificadores de penetración, por ejemplo propilenglicol, monolaurato de polietilenglicol, azacicloalcan-2-onas y similares e incorporarse a un emplastro o a un sistema similar de administración. Si se desea, en estas composiciones transdérmicas pueden emplearse excipientes adicionales, que incluyen agentes de gelificación, emulsionantes y tampones.
40

Si se desea, los compuestos de esta invención pueden administrarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Por ejemplo, en una forma de ejecución, las composiciones de la invención pueden contener opcionalmente otros fármacos, que se administran simultáneamente con un compuesto de la invención. Por ejemplo, la composición puede contener además uno o varios fármacos adicionales (denominados "agentes secundarios") elegidos entre el grupo de los broncodilatadores (p.ej. inhibidores de PDE₃, moduladores de adenosina 2b y agonistas de receptores adrenérgicos β_2); agentes antiinflamatorios (p.ej. agentes antiinflamatorios esteroideos, por ejemplo corticosteroides y glucocorticoides; agentes antiinflamatorios no esteroideos (NSAID); e inhibidores de PDE₄); otros antagonistas de receptor muscarínico (es decir, agentes anticolinérgicos); agentes antiinfecciosos (p.ej. antibióticos gram positivos y gram negativos y agentes antivirales); antihistaminas; inhibidores de proteasa; bloqueadores aferentes (p.ej. agonistas de D₂ y moduladores de neuroquinina); y combinaciones de los mismos. En la técnica se conocen numerosos ejemplos de tales agentes terapéuticos y a continuación se describirán ejemplos de los mismos. Combinando un compuesto de la invención con un agente secundario puede realizarse una doble terapia, es decir, la actividad antagonista del receptor muscarínico y actividad asociada con el agente secundario (p.ej. agonista de receptor adrenérgico β_1), pueden combinarse en algunos casos administrando
50 dos composiciones y en algunos casos administrando una sola composición que contiene el agente activo y el agente secundario. Por consiguiente, en otro aspecto adicional de la invención, una composición farmacéutica contiene un compuesto de la invención, un segundo agente activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. Pueden incluirse también en la composición un tercero, un cuarto, etc., agentes activos. Por ejemplo, una composición puede contener un compuesto de la invención; un agente secundario elegido entre los corticosteroides,
55 los agonistas de receptores adrenérgicos β_2 ; los inhibidores de la fosfodiesterasa-4 y combinaciones de los mismos;

y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En una forma de ejecución específica, la composición contiene un compuesto de la invención, un agonista de receptores adrenérgicos β_2 y un agente antiinflamatorio esteroideo. En la terapia de combinación, la cantidad de compuesto de la invención que se administra, así como la cantidad de los agentes secundarios, puede ser menor que la cantidad que se administra normalmente en la monoterapia.

5 Un compuesto de la invención puede mezclarse físicamente con el segundo agente activo para formar una composición que contenga ambos agentes; o bien cada agente puede estar presente en composiciones distintas y separadas, que se administran al paciente de forma simultánea o sucesiva. Por ejemplo, un compuesto de la invención puede combinarse con un segundo agente activo empleando procedimientos y equipos convencionales para formar una combinación de agentes activos que contiene un compuesto de la invención y un segundo agente activo. Además, los agentes activos pueden combinarse con un vehículo farmacéuticamente aceptable para formar una composición farmacéutica que contenga un compuesto de la invención, un segundo agente activo y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En esta forma de ejecución, los componentes de la composición se mezclan normalmente para generar una mezcla física. La mezcla física se administra después en una cantidad terapéuticamente eficaz empleando una cualquiera de las vías aquí descritas.

Como alternativa, los agentes activos pueden mantenerse separados y distintos antes de la administración al paciente. En esta forma de ejecución, los agentes no se mezclan físicamente entre sí antes de la administración, pero se administran de modo simultáneo o en momentos separados en forma de composiciones separadas. Estas composiciones pueden envasarse por separado o pueden envasarse en un solo kit. Cuando se administran en tiempos separados, el agente secundario se administrará normalmente en menos de 24 horas de la administración del compuesto de la invención. En otras formas de ejecución, esta relación temporal es de menos de 12 horas, menos de 8 horas, menos de 6 horas, menos de 4 horas, menos de 3 horas, menos de 1 hora, menos de treinta minutos, menos de diez minutos, menos de un minuto, o inmediatamente después de la administración del compuesto de la invención. Esto se denomina también administración sucesiva. Por lo tanto, un compuesto de la invención puede administrarse por inhalación de modo simultáneo o sucesivo con otro agente activo empleando un dispositivo de administración por inhalación que dispone de compartimentos separados (p.ej. envases de tipo blíster) para cada agente activo; "sucesivo" puede significar que se administra inmediatamente después de la administración del compuesto de la invención o en un momento temporal predeterminado posterior (p.ej. una hora después o tres horas después). Como alternativa, la combinación puede administrarse empleando dispositivos de entrega separados, es decir, un dispositivo para cada agente. Además, los agentes pueden administrarse por vías diferentes, es decir, uno por inhalación y el otro por administración oral.

En una forma de ejecución, el kit contiene una primera forma de dosificación, formada por un compuesto de la invención y por lo menos una forma adicional de dosificación, formada por uno o más agentes secundarios aquí definidos, en cantidades suficientes para la puesta en práctica de los métodos de la invención. La primera forma de dosificación y la segunda (o la tercera, etc.) combinadas contienen una cantidad terapéuticamente eficaz de agentes activos para el tratamiento o prevención de una enfermedad o estado patológico del paciente.

Los agentes secundarios, si se incluyen, estarán presentes en una cantidad terapéuticamente eficaz. Es decir, se administran normalmente en una cantidad que produce un efecto terapéuticamente beneficioso cuando se administra simultáneamente con un compuesto de la invención. El agente secundario puede adoptar la forma de una sal farmacéuticamente aceptable, un solvato, un estereoisómero ópticamente puro, etcétera. Por lo tanto, los agentes secundarios que se han enumerado previamente está previsto que incluyan todas estas formas y son productos comerciales o pueden obtenerse aplicando procedimientos y reactivos convencionales. Las dosis apropiadas de un agente secundario se sitúan normalmente entre 0,05 $\mu\text{g}/\text{día}$ y 500 $\text{mg}/\text{día}$.

En una forma especial de ejecución se administra un compuesto de la invención en combinación con un agonista de receptor adrenérgico β_2 . Los agonistas de receptores adrenérgicos β_2 representativos incluyen, pero no se limitan a: albuterol, bitolterol, fenoterol, formoterol, indacaterol, isoetarina, levalbuterol, metaproterenol, pirbuterol, salbutamoles, salmefamoles, salmeterol, terbutalina y similares. Otros agonistas de receptores adrenérgicos β_2 que pueden utilizarse en combinación con los compuestos de la invención incluyen, pero no se limitan a: 3-(4-{{(2R)-2-hidroxi-2-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)-fenil]etil}amino)-hexil}oxi)-butil)bencenosulfonamida y 3-(-3-{{(2R)-2-hidroxi-2-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)fenil]etil}-amino)heptil}oxi)-propil)bencenosulfonamida y compuestos afines descritos en WO 02/066422 (Glaxo Group Ltd.); 3-[3-(4-{{(2R)-2-hidroxi-2-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)fenil]etil}amino)hexil}oxi)butil)-fenil]-imidazolidina-2,4-diona y compuestos afines descritos en WO 02/070490 (Glaxo Group Ltd.); 3-(4-{{(2R)-2-[3-(formilamino)-4-hidroxifenil]-2-hidroxietil}amino)-hexil}oxi)butil)bencenosulfonamida, 3-(4-{{(2S)-2-[3-(formil-amino)-4-hidroxifenil]-2-hidroxietil}amino)hexil}oxi)butil)bencenosulfonamida, 3-(4-{{(2R/S)-2-[3-(formilamino)-4-hidroxifenil]-2-hidroxietil}amino)hexil}oxi)butil)bencenosulfonamida, N-(t-butil)-3-(4-{{(2R)-2-[3-(formilamino)-4-hidroxifenil]-2-hidroxietil}amino)hexil}oxi)butil)bencenosulfonamida, N-(t-butil)-3-(4-{{(2S)-2-[3-(formilamino)-4-hidroxifenil]-2-hidroxietil}amino)hexil}oxi)butil)bencenosulfonamida, N-(t-butil)-3-(4-{{(2R/S)-2-[3-(formilamino)-4-hidroxifenil]-2-hidroxietil}amino)hexil}oxi)butil)bencenosulfonamida y compuestos afines descritos en WO 02/076933 (Glaxo Group Ltd.); 4-{{(1R)-2-[6-(2-{{(2,6-diclorobencil)-oxi}etoxi)hexil}amino)-1-hidroxietil]-2-(hidroximetil)fenol} y compuestos afines descritos en WO 03/024439 (Glaxo Group Ltd.); N-{2-[4-((R)-2-hidroxi-2-feniletilamino)fenil]etil}-(R)-2-hidroxi-2-(3-

formamido-4-hidroxifenil)-etilamina y compuestos afines descritos en la patente U.S. 6,576,793 de Moran y col.; N-{2-[4-(3-fenil-4-metoxifenil)aminofenil]etil}-(R)-2-hidroxi-2-(8-hidroxi-2(1H)-quinolinon-5-il)etilamina y compuestos afines descritos en la patente U.S. 6,653,323 de Moran y col. En una forma especial de ejecución, el agonista de adrenorreceptor β_2 es una sal monoclóhidrato cristalina de la N-{2-[4-((R)-2-hidroxi-2-feniletilamino)-fenil]etil}-(R)-2-hidroxi-2-(3-formamido-4-hidroxifenil)etilamina. Normalmente el agonista de adrenorreceptor β_2 se administrará en una cantidad suficiente para aportar de 0,05 a 500 μg por dosis.

En una forma especial de ejecución se administra un compuesto de la invención en combinación con un agente antiinflamatorio esteroideo. Los agentes antiinflamatorios esteroideos representativos incluyen, pero no se limitan a: beclometasona dipropionato; budesonida; butixocort propionato; 20R-16 α ,17a-[butilidenobis(oxi)]-6 α ,9 α -difluor-11 β -hidroxi-17 α -(metilitio)androsta-4-en-3-ona (RPR-106541); ciclesonida; dexametasona; 6 α ,9 α -difluor-17 α -[(2-furanil-carbonil)oxi]-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxoandrosta-1,4-dieno-17 β -carbotoiato de S-fluormetilo; 6 α ,9 α -difluor-11 β -hidroxi-16 α -metil-17 α -[(4-metil-1,3-tiazol-5-carbonil)oxi]-3-oxoandrosta-1,4-dieno-17 β -carbotoiato de S-fluormetilo; 6 α ,9 α -difluor-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-17 α -propioniloxiandrosta-1,4-dieno-17 β -carbotoiato de (S)-(2-oxotetra-hidrofuran-3S-ilo); flunisolida; fluticasona propionato; metil-prednisolona; mometasona furoato; prednisolona; prednisona; rofleponida; ST-126; triamcinolona acetona; y similares. El agente antiinflamatorio esteroideo se administrará normalmente en una cantidad suficiente para aportar de 0,05 a 500 μg por dosis.

Un ejemplo de combinación consiste en un compuesto de la invención que se administra simultáneamente con el salmeterol como agonista de receptor adrenérgico β_2 y fluticasona propionato como agente antiinflamatorio esteroideo. Otro ejemplo de combinación es un compuesto de la invención co-administrado con una sal monoclóhidrato cristalina de la N-{2-[4-((R)-2-hidroxi-2-feniletilamino)fenil]etil}-(R)-2-hidroxi-2-(3-formamido-4-hidroxifenil)-etilamina como agonista de adrenorreceptor β_2 y 6 α ,9 α -difluor-17 α -[(2-furanil-carbonil)oxi]-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 β -carbotoiato de S-fluormetilo como agente antiinflamatorio esteroideo.

Otras combinaciones apropiadas incluyen, por ejemplo, otros agentes antiinflamatorios, p.ej. los NSAID (por ejemplo cromoglicato sódico; nedocromil sodio; inhibidores de fosfodiesterasa (PDE) (p.ej. teofilina, inhibidores de PDE₄ o inhibidores mixtos de PDE₃/PDE₄); antagonistas de leucotrieno (p.ej. montelukast); inhibidores de la síntesis de leucotrieno; inhibidores de iNOS; inhibidores de proteasas, por ejemplo inhibidores de triptasa y elastasa; antagonistas de integrina beta-2 y agonistas o antagonistas de receptor de adenosina (p.ej. agonistas de adenosina 2a); antagonistas de citoquinas (p.ej. antagonistas de quimioquinas, por ejemplo un anticuerpo anti-interleucina (anticuerpo αIL), en concreto una terapia $\alpha\text{IL-4}$, una terapia $\alpha\text{IL-13}$, o una combinación de las mismas); o inhibidores la síntesis de las citocinas.

En una forma especial de ejecución se administra un compuesto de la invención en combinación con un inhibidor de fosfodiesterasa-4 (PDE₄) o con inhibidores mixtos de PDE₃/PDE₄. Los inhibidores de PDE₄ o inhibidores mixtos PDE₃/PDE₄ representativos incluyen, pero no se limitan a: ácido cis-4-ciano-4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)-ciclohexano-1-carboxílico, 2-carbometoxi-4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluormetoxifenil)ciclohexano-1-ona; cis-[4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluormetoxifenil)ciclohexano-1-ol]; ácido cis-4-ciano-4-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]-ciclohexano-1-carboxílico y similares, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Otros inhibidores de PDE₄ o inhibidores mixtos PDE₃/PDE₄ representativos incluyen al AWD-12-281 (elbion); NCS-613 (INSERM); D-4418 (Chiroscience y Schering-Plough); CI-1018 o PD-168787 (Pfizer); compuestos de benzodioxol descritos en WO 99/16766 (Kyowa Hakko); K-34 (Kyowa Hakko); V-11294A (Napp); roflumilast (Byk-Gulden); compuestos de ftalazinona descritos en WO 99/47505 (Byk-Gulden); pumafentrina (Byk-Gulden, ahora Altana); arofilina (Almirall-Prodesfarma); VM554/UM565 (Vernalis); T-440 (Tanabe Seiyaku); y T2585 (Tanabe Seiyaku).

En una forma especial de ejecución, un compuesto de la invención se administra en combinación con un antagonista muscarínico (es decir, un agente anticolinérgico). Los antagonistas muscarínicos representativos incluyen, pero no se limitan a: atropina, atropina sulfato, atropina óxido, metilatropina nitrato, homatropina bromhidrato, hiosciamina (d,l) bromhidrato, escopolamina bromhidrato, bromuro de ipratropio, bromuro de oxitropio, bromuro de tiotropio, metantelina, propantelina bromuro, anisotropina metil-bromuro, clidinio bromuro, copirrolato (Robinul), isopropamida yoduro, mepenzolato bromuro, cloruro de tridihexetilo (Pathilone), hexociclo metilsulfato, ciclopentolato clorhidrato, tropicamida, trihexifenidilo clorhidrato, pirenzepina, telenzepina, AF-DX 116 y metoctramina y similares.

En una forma especial de ejecución se administra un compuesto de la invención en combinación con una antihistamina (es decir, antagonista de receptor de H₁). Las antihistaminas representativas incluyen, pero no se limitan a: etanolaminas, por ejemplo carbinoxamina maleato, clemastina fumarato, difenilhidramina clorhidrato y dimenhidrinato; etilenodiaminas, por ejemplo pirilamina maleato, tripelenoamina clorhidrato y tripelenoamina citrato; alquilaminas, por ejemplo clorfeniramina y acrivastina; piperazinas, por ejemplo hidroxizina clorhidrato, hidroxizina pamoato, ciclizina clorhidrato, ciclizina lactato, meclizina clorhidrato y cetirizina clorhidrato; piperidinas, por ejemplo astemizol, levocabastina clorhidrato, loratadina o su análogo descarboetoxilado, terfenadina y fexofenadina clorhidrato; azelastina clorhidrato; y similares.

Las siguientes formulaciones ilustran las composiciones farmacéuticas representativas de la invención.

Ejemplos de composiciones administrables con un DPI

Se microniza un compuesto de la invención (0,2 mg) y se mezcla con lactosa (25 mg). Se introduce esta mezcla en un cartucho de gelatina para inhalación. Se administra el contenido del cartucho empleando un DPI, por ejemplo.

5 Se mezcla un compuesto de la invención micronizado (100 mg) con lactosa molida (25 g) (p.ej. lactosa, en la que no más del 85% de las partículas tienen un MMD de 60 µm a 90 µm y más del 15% de las partículas tienen un MMD de inferior a 15 µm). Se introduce esta mezcla en los compartimentos individuales de un blíster pelable en una cantidad suficiente para aportar de 10 µg a 500 µg del compuesto de la invención por dosis. El contenido de los blísters se administra empleando un DPI.

15 Como alternativa, se mezcla un compuesto micronizado de la invención (1 g) con lactosa molida (200 g) para formar una composición a granel, que tiene una proporción ponderal entre el compuesto y la lactosa molida de 1:200. Se envasa la composición mezclada en un DPI capaz de entregar entre 10 µg y 500 µg del compuesto de la invención por dosis.

20 Como alternativa, se mezclan un compuesto micronizado de la invención (100 mg) y un agonista de receptor adrenérgico β₂ micronizado (500 mg) con lactosa molida (30 g). Se introduce esta mezcla en los compartimentos individuales de un blíster pelable en una cantidad suficiente para aportar de 10 µg a 500 µg del compuesto de la invención por dosis. El contenido de los blísters se administra empleando un DPI.

Ejemplos de composiciones para utilizar en un MDI

25 Se dispersa un compuesto de la invención micronizado (10 g) en una solución preparada disolviendo lecitina (0,2 g) en agua desmineralizada (200 ml). Se seca por atomización la suspensión resultante y se microniza para formar una composición micronizada, que contienen partículas de diámetro promedio inferior a 1,5 µm. Después se introduce la composición micronizada en cartuchos de MDI que contienen el 1,1,1,2-tetrafluoreetano comprimido, en una cantidad para aportar de 10 µg a 500 µg del compuesto de la invención por dosis, cuando se administra con el MDI.

30 Como alternativa se prepara una suspensión que contiene un 5 % en peso del compuesto de la invención, un 0,5 % en peso de lecitina y un 0,5 % en peso de trehalosa dispersando 5 g de un compuesto de la invención en forma de partículas micronizadas de tamaño medio inferior a 10 µm en una solución coloidal formada con 0,5 g de trehalosa y 0,5 g de lecitina disueltas en 100 ml de agua desmineralizada. Se seca la suspensión por atomización y se microniza el material resultante, formándose partículas que tienen un diámetro medio inferior a 1,5 µm. Se cargan las partículas en botes que contienen 1,1,1,2-tetrafluoreetano presurizado.

Ejemplo de composición para emplear en un inhalador nebulizador

40 Se disuelve un compuesto de la invención (25 mg) en solución salina (125 ml) isotónica, tamponada con citrato (pH 5). Se agita la mezcla y se somete a ultrasonidos hasta disolver el compuesto. Se controla el pH de la solución y se ajusta, si fuera necesario, a pH 5 por adición lenta de una solución acuosa 1N de hidróxido sódico. Se administra la solución empleando un dispositivo nebulizador que entrega de 10 µg a 500 µg del compuesto de la invención por dosis.

45 Ejemplo de cápsulas de gelatina dura para administración oral

50 Se mezclan a fondo un compuesto de la invención (50 g), lactosa secada por atomización (440 g) y estearato magnésico (10 g). Se introduce la composición resultante en cápsulas de gelatina dura (500 mg de composición por cápsula).

Ejemplo de suspensión para administración oral

55 Se mezclan los ingredientes siguientes para formar una suspensión que contiene 100 mg de compuesto por 10 ml de suspensión:

ingredientes	cantidad
compuesto de la invención	1,0 g
ácido fumárico	0,5 g
cloruro sódico	2,0 g
metil-paraben	0,15 g
propil-paraben	0,05 g
azúcar granulado	25,5 g
sorbita (solución al 70 %)	12,85 g
Veegum® K (silicato de aluminio-magnesio)	1,0 g
	0,035 ml

aroma colorantes agua destilada	0,5 mg cant. suf. hasta 100 ml
---------------------------------------	-----------------------------------

Ejemplo de formulación inyectable para administrar por inyección

- 5 Se mezcla un compuesto de la invención (0,2 g) con una solución tampón de acetato sódico 0,4 M (2,0 ml). Se ajusta el pH de la solución resultante a pH 4 empleando una solución acuosa 0,5 N de ácido clorhídrico o una solución acuosa 0,5 N de hidróxido sódico, según el caso, y se le añade agua suficiente para la inyección, para conseguir un volumen total de 20 ml. Se filtra la mezcla a través de un filtro estéril (0,22 micras), obteniéndose una solución estéril, adecuada para la administración por inyección.

10 Ejemplos

Las siguientes obtenciones y ejemplos se facilitan para ilustrar formas de ejecución específicas de la invención. Sin embargo, estas formas de ejecución específicas no están destinadas a limitar el alcance de la invención en absoluto, a menos que se indique explícitamente.

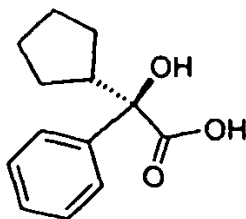
- 15 Las abreviaturas siguientes tienen los significados que se definen a continuación, a menos que se indique otra cosa y cualquier otra abreviatura que se emplee sin definir tendrá su significado estándar.

AC	adenilil-ciclasa
20 BSA	albúmina de suero bovino
cAMP	monofosfato 3'-5' cíclico de adenosina
CHO	ovario de hámster chino
cM ₅	receptor M ₅ de chimpancé clonado
DCM	diclorometano (es decir, cloruro de metileno)
25 DIPEA	N,N-diisopropiletilamina
dPBS	solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco
DMF	N,N-dimetilformamida
EDCI	N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida
EDTA	ácido etilendiaminatetraacético
30 EtOAc	acetato de etilo
FBS	suero fetal bovino
FLIPR	lector de imágenes fluorimétricas en placa
HBSS	solución salina tamponada de Hank
HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico
35 hM ₁	receptor M ₁ humano clonado
hM ₂	receptor M ₂ humano clonado
hM ₃	receptor M ₃ humano clonado
hM ₄	receptor M ₄ humano clonado
hM ₅	receptor M ₅ humano clonado
40 HOBt	1-hidroxibenzotriazol hidratado
MCh	metilcolina
MeOH	metanol
TFA	ácido trifluoracético
45 THF	tetrahidrofurano

- Si se emplean otras abreviaturas sin definir, entonces tendrán su significado estándar, generalmente aceptado. A menos que se indique otra cosa, todos los materiales, por ejemplo reactivos, materiales de partida y disolventes, se obtienen de suministradores comerciales (por ejemplo Sigma-Aldrich, Fluka, Riedel-de Haën y similares) y se emplean sin más purificación. Las reacciones se llevan a cabo en atmósfera de nitrógeno, a menos que se indique otra cosa. Se hace el seguimiento del progreso de las reacciones por cromatografía de capa fina (CCF), cromatografía de líquidos de alta eficacia analítica (HPLC anal.) y espectrometría de masas, cuyos detalles se describen a continuación y por separados en los ejemplos específicos de las reacciones. Las mezclas reaccionantes se separan del modo descrito específicamente en cada reacción; normalmente se purifican por extracción y otros métodos de purificación, por ejemplo por cristalización dependiente de la temperatura y del disolvente y por precipitación. Además, las mezclas reaccionantes se purifican habitualmente por HPLC preparativa.
- 50
- 55

Obtención 1

ácido (R)-ciclopentilhidroxifenilacético



(2R,5R)-2-t-butil-5-fenil-1,3-dioxolan-4-ona (1a): Se disuelve el ácido (R)-mandélico (20 g, 130 mmoles) en pentano anhidro (200 ml, 1,7 moles). Se le añade el pivaldehído (13,6 g, 153 mmoles) y después el ácido trifluorometanosulfónico (488 μ l, 5,4 mmoles). Se mantiene la mezcla reaccionante a reflujo a 36°C en atmósfera de nitrógeno. Después de 5,5 horas se deja enfriar la mezcla a temperatura ambiente y se agita con 200 ml de una solución de NaHCO₃ al 8 % en peso durante 10 minutos. Se elimina el exceso de pentano por evaporación en el rotavapor. Se recogen los sólidos por filtración y se enjuagan (100 ml de agua), filtrándolos simultáneamente con vacío. Se secan los sólidos durante una noche con alto vacío, obteniéndose el compuesto intermedio (1a) en forma de sólido blanco (23,8 g, pureza = 88%).

(2R,5S-2-t-butil-5-(1-hidroxiciclopentil)-5-fenil-1,3-dioxolan-4-ona (1b): a la hexametildisilazida de litio (0,8 g, 4,7 mmoles; 4,7 ml de una solución 1,0 M en hexanos) se le añade a -78°C el THF anhidro (5,3 ml, 65 mmoles). A esta solución se le añade por goteo durante 15 minutos el compuesto intermedio (1a) (800 mg, 3,6 mmoles) en 5,3 ml de THF anhidro. Después de 30 minutos se añade por goteo la ciclopentanona (451 μ l, 5,1 mmoles) en menos de 1 minuto. Pasadas 2 horas se añaden 0,8 ml de una solución acuosa saturada de Na₂HPO₄ y se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 5 minutos. Se vierte la mezcla sobre 8 ml de una solución acuosa saturada de cloruro amónico. Se lava la fase acuosa (2x80 ml de EtOAc) y se reúnen las fases orgánicas, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se concentran. Se purifica el producto en bruto (780 mg) por cromatografía flash (gradiente de EtOAc del 5 al 15% en hexanos durante 30 minutos), obteniéndose el compuesto intermedio (1b).

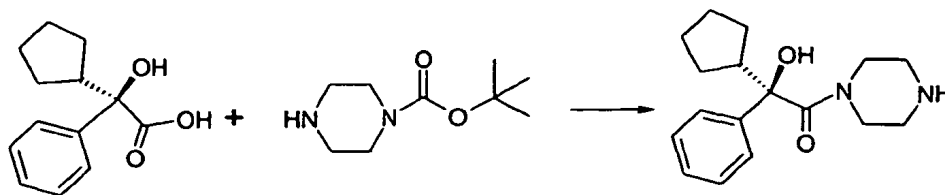
(2R,5S)-2-t-butil-5-ciclopent-1-enil-5-fenil-1,3-dioxolan-4-ona (1c): se disuelve el compuesto intermedio (1b) (650 mg, 2,1 mmoles) en 6,8 ml de THF anhidro y se enfría la solución a 0°C. Se le añade por goteo el cloruro de tionilo (436 μ l, 6 mmoles) y después la piridina (777 μ l, 9,6 mmoles). Se agita la mezcla a 0°C durante 1 hora. Se le añade una solución acuosa saturada de cloruro amónico (14 ml) y se agita la mezcla durante 5 minutos dejando que se caliente a temperatura ambiente. Se separan las fases y se lava la fase acuosa (2x100 ml de EtOAc.). Se reúnen las fases orgánicas, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se concentran, obteniéndose el compuesto intermedio (1c) en forma de aceite ligeramente amarillo (540 mg), que se emplea en el paso siguiente sin más purificación.

ácido (S)-ciclopent-1-enil-hidroxfenilacético (1d): se disuelve el compuesto intermedio (1c) (540 mg, 1,9 mmoles) en MeOH (927 μ l, 22,9 mmoles). Se le añade agua (1,84 ml, 102 mmoles) y después KOH (1,1 g, 18,8 mmoles). Se calienta la mezcla reaccionante a reflujo a 130°C durante 3 horas. Se diluye la mezcla a 250 ml con una solución saturada de cloruro amónico y se lava (2x 100 ml de hexano). Se lava la emulsión acuosa restante (2x250ml de EtOAc). Se reúnen las fases de EtOAc, se lavan con 50 ml de una solución acuosa saturada de NaCl, se secan con Na₂SO₄, se filtran y se concentran, obteniéndose el compuesto intermedio (1d) en forma de sólido amarillo-marrón (290 mg).

Se disuelve el compuesto intermedio (1d) (280 mg, 1,3 mmoles) en MeOH (2,50 ml, 61,7 mmoles), se hace burbujear nitrógeno a través del contenido del matraz, después se añaden a la mezcla 28 mg de Pd al 10% sobre C. Se agita la mezcla a temperatura ambiente con una presión de hidrógeno de 1 atm y se hace el seguimiento de la reacción por HPLC, hasta que se haya consumido el material de partida (~24 horas). Se hace burbujear nitrógeno a través del contenido del matraz, se filtra la mezcla a través de Celite y se enjuaga con MeOH. Se concentra el líquido filtrado con vacío, obteniéndose el compuesto epigrafiado en forma de sólido ligeramente amarillo (284 mg).

45 Obtención 2

(R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenil-1-piperazin-1-iletanona

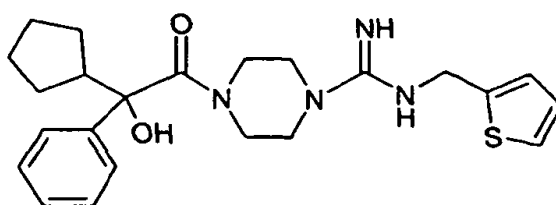


50

A una solución agitada del ácido (R)-ciclopentilhidroxifenil-acético (10,0 g, 45,4 mmoles) en DCM (200 ml) se le añade el 1-piperazinacarboxilato de t-butilo (8,5 g, 45,4 mmoles). Se añade a la mezcla reaccionante la DIPEA (23,7 ml, 13,6 mmoles), el HOBt (10,4 g, 68,1 mmoles) y después el EDCI (10,4 g, 54,5 mmoles). Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 12 horas. Se lava la mezcla con NaOH 1N (300 ml), HCl 1N (300 ml) y después con una solución acuosa saturada de NaCl (300 ml). Se separa la fase orgánica, se seca con MgSO₄ y se filtra. Se elimina el disolvente a presión reducida. Se añade una solución de TFA al 20% en DCM al material en bruto y se agita la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 2 horas. Se elimina el disolvente a presión reducida. Se añade el DCM (300 ml) y se lava la mezcla con una solución saturada de bicarbonato sódico (300 ml). Se separa la fase orgánica, se seca con MgSO₄ y se filtra. Se purifica el material en bruto por cromatografía a través de gel de sílice (MeOH al 10% en DCM + 1% de NH₃ (acuoso)), obteniéndose el compuesto epigrafiado en forma de polvo blanco (9,0 g, 31,2 mmoles).

Ejemplo 1

15 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-tiofen-2-ilmetilpiperazina-1-carboxamida



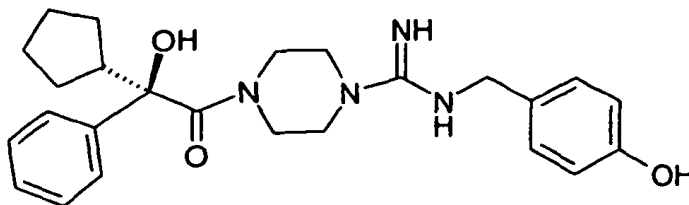
A una solución agitada de la (R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenil-1-piperazin-1-iletanona (3,9 g 13,7 mmoles) en DMF (200 ml) se le añaden la DIPEA (4,8 ml, 27,3 mmoles) y después la C-(bis-benzotriazol-1-il)metileno-amina (3,6 g, 13,7 mmoles). Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos, después se le añade la C-tiofen-2-il-metilamina (2,8 ml, 27,3 mmoles). Se calienta la mezcla a 60°C durante ~ 14 horas. Se enfría la mezcla reaccionante a temperatura ambiente y se elimina el disolvente a presión reducida. Se purifica el material en bruto por HPLC en fase inversa, obteniéndose el compuesto epigrafiado en forma de sal TFA (0,7 g, 1,3 mmoles). EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₃H₃₀N₄O₂S = 427,21; hallado = 427,2.

Síntesis alternativa

Se añade la DIPEA (7,3 ml, 41,6 mmoles) a la (R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenil-1-piperazin-1-iletanona (6,0 g, 20,8 mmoles) disuelta en etanol (90 ml, 2 moles). Se añade la C-(bis-benzotriazol-1-il)-metilenoamina (6,0 g, 22,9 mmoles) y se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se añade la C-tiofen-2-il-metilamina (4,9 g, 41,6 mmoles) y se agita la mezcla durante una noche a 55°C. Se condensa la mezcla y se purifica el producto por HPLC, obteniéndose el compuesto epigrafiado en forma de sal TFA (7,3 g, pureza = 98%). EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₃H₃₀N₄O₂S = 427,21; hallado = 427,4.

Ejemplo 2

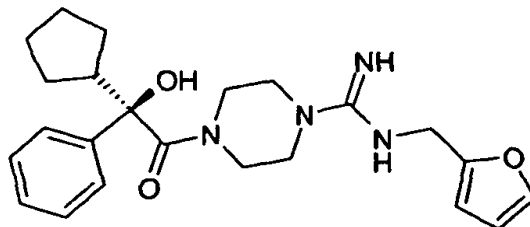
4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(4-hidroxibencil)piperazina-1-carboxamida



A una solución agitada de la (R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenil-1-piperazin-1-iletanona (5,00 g 17,3 mmoles; obtenida del modo descrito en la obtención 1) en DMF (200 ml) se le añaden la DIPEA (10,6 ml, 60,7 mmoles) y después la C-(bisbenzotriazol-1-il)-metileno-amina (5,48 g, 20,8 mmoles). Se agita esta mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos y después se le añade la 4-hidroxibencilamina (12,0 g ml, 97 mmoles). Se calienta la mezcla a 60°C durante ~ 14 horas. Se enfría la mezcla reaccionante a temperatura ambiente y se elimina el disolvente a presión reducida. Se purifica el material en bruto por HPLC en fase inversa, obteniéndose el compuesto epigrafiado en forma de sal TFA (1,7 g, 3,1 mmoles). EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₅H₃₂N₄O₃ = 437,25; hallado = 437,2.

Ejemplo 3

4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-furan-2-ilmetilpiperazina-1-carboxamida



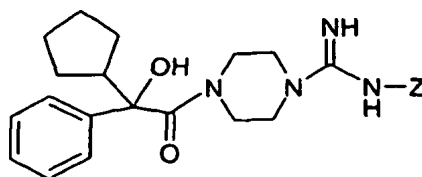
5

Se añaden la (R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenil-1-piperazin-1-iletanona (2,0 g, 6,9 mmoles) y la C-(bis-benzotriazol-1-il)metilenoamina (2,0 g, 7,6 mmoles) al etanol (40,0 ml, 685 mmoles), después se añade la DIPEA (2,4 ml, 13,9 mmoles). Se agita la mezcla resultante a temperatura ambiente durante aprox. 1 hora hasta que se hayan disuelto todos los sólidos, generándose el compuesto intermedio. Se añade la furfurilamina (1,2 ml, 13,9 mmoles) y se agita la mezcla reaccionante a 35°C hasta que la reacción haya finalizado (unas 22 horas). Por purificación mediante HPLC preparativa se obtiene el compuesto epigrafiado en forma de sal TFA (329 mg, 6,9 mmoles, pureza = 97,5 %). EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{23}H_{30}N_4O_3$ = 411,23; hallado = 411,2.

15 Ejemplo 4

Aplicando los procedimientos descritos en los ejemplos anteriores y sustituyendo los materiales de partida y reactivos por los apropiados se obtienen también los siguientes compuestos de 4-1 a 4-52 en forma de sales de TFA:

20



ejemplo	Z	Q
4-1	-CH(CH ₃)-Q	fenilo
4-2	-CH ₂ -Q	3,4-difluorfenilo
4-3	-CH ₂ -Q	4-metoxifenilo
4-4	-CH ₂ -Q	tiofen-3-ilo
4-5	-CH ₂ -Q	fenilo
4-6	-CH ₂ -Q	3-fluorfenilo
4-7	-(CH ₂) ₂ -Q	fenilo
4-8	-CH ₂ -Q	piridin-2-ilo
4-9	-CH ₂ -Q	3-hidroxifenilo
4-10	-CH ₂ -Q	4-fluorfenilo
4-11	-CH ₂ -Q	2-fluorfenilo
4-12	-CH ₂ -Q	ciclohexilo
4-13	-CH ₂ -Q	3-metoxifenilo
4-14	-CH ₂ -Q	3,5-difluorfenilo
4-15	-CH ₂ -Q	tiazol-2-ilo
4-16	-CH ₂ -Q	1H-pirazol-3-ilo
4-17	-NH-Q	fenilo
4-18	-CH ₂ -Q	furan-3-ilo
4-19	-CH ₂ -Q	2-metil-tiazol-4-ilo
4-20	-CH ₂ -Q	propilo
4-21	-CH ₂ -Q	butilo
4-22	-CH ₂ -Q	pentilo
4-23	-NH-Q	2-fluorfenilo
4-24	-NH-Q	2-clorofenilo
4-25	-NH-Q	3-fluorfenilo
4-26	-NH-Q	3-clorofenilo

4-27	-NH-Q	4-metilfenilo
4-28	-NH-Q	4-fluorfenilo
4-29	-NH-Q	4-clorofenilo
4-30	-NH-Q	4-metoxifenilo
4-31	-CH ₂ -Q	benzoato de metilo
4-32	-CH ₂ -Q	1H-indol-2-ilo
4-33	-CH ₂ -Q	cicloheptilo
4-34	-CH ₂ -Q	2-hidroxifenilo
4-35	-CH ₂ -Q	4-trifluorometoxifenilo
4-36	-CH ₂ -Q	4-amidofenilo
4-37	-CH ₂ -Q	4-hidroximetilfenilo
4-38	-CH ₂ -Q	1H-indol-5-ilo
4-39	-CH ₂ -Q	benzofuran-5-ilo
4-40	-CH ₂ -Q	4-metilfenilo
4-41	-CH ₂ -Q	4-metilsulfanilfenilo
4-42	-CH ₂ -Q	3-cianofenilo
4-43	-CH ₂ -Q	3-amidofenilo
4-44	-CH ₂ -Q	2-metilfenilo
4-45	-CH ₂ -Q	3-metilfenilo
4-46	-CH ₂ -Q	1H-indol-4-ilo
4-47	-CH ₂ -Q	3-metilsulfanilfenilo
4-48	-CH ₂ -Q	benzo[b]tiofen-5-ilo
4-49	-CH ₂ -Q	benzo[1,3]dioxol-5-ilo
4-50	-CH ₂ -Q	benzo[b]tiofen-2-ilo
4-51	-CH ₂ -Q	1-metil-1H-pirazol-3-ilo
4-52	-CH ₂ -Q	ciclopentilo

(4-1) 4-(2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-((R)-1-feniletil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₆H₃₄N₄O₂ = 435,27; hallado = 435,2.

5 (4-2) 4-(2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(3,4-difluorencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₅H₃₀F₂N₄O₂ = 457,23; hallado = 457,2.

(4-3) 4-(2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(4-metoxibencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₆H₃₄N₄O₃ = 451,26; hallado = 451,2.

(4-4) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-tiofen-3-ilmetil-piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₃H₃₀N₄O₂S = 427,21; hallado = 427,4.

10 (4-5) N-bencil-4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₅H₃₂N₄O₂ = 421,25; hallado = 421,2.

(4-6) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(3-fluorencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₅H₃₁FN₄O₂ = 439,24; hallado = 439,2.

15 (4-7) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-fenetilpiperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₆H₃₄N₄O₂ = 435,27; hallado = 435,2.

(4-8) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-piridin-2-ilmetil-piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₄H₃₁N₅O₂ = 422,25; hallado = 422,2.

20 (4-9) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(3-hidroxibencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₅H₃₂N₄O₃ = 437,25; hallado = 437,2.

(4-10) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(4-fluorencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₅H₃₁FN₄O₂ = 439,24; hallado = 439,2.

(4-11) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(2-fluorencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₅H₃₁FN₄O₂ = 439,24; hallado = 439,2.

25 (4-12) N-ciclohexilmetil-4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₅H₃₈N₄O₂ = 427,30; hallado = 427,2.

(4-13) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(3-metoxibencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₆H₃₄N₄O₃ = 451,26; hallado = 451,2.

(4-14) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(3,5-difluorencil)-piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₅H₃₀F₂N₄O₂ = 457,23; hallado = 457,2.

30 (4-15) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-tiazol-2-ilmetil-piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₂H₂₉N₅O₂S = 428,20; hallado = 428,2.

(4-16) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(1H-pirazol-3-ilmetil) piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₂H₃₀N₆O₂ = 411,24; hallado = 411,2.

35 (4-17) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(fenilamino)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₄H₃₁N₅O₂ = 422,25; hallado = 422,2.

(4-18) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-furan-3-ilmetilpiperazina-1-carboxamidina. EM m/z: [M+H]⁺ calculado para el C₂₃H₃₀N₄O₃ = 411,23; hallado = 411,2.

- (4-19) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(2-metiltiazol-4-ilmetil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{23}H_{31}N_5O_2S = 442,22$; hallado = 442,2.
- (4-20) N-butil-4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{22}H_{34}N_4O_2 = 387,27$; hallado = 387,2.
- 5 (4-21) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-pentilpiperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{23}H_{36}N_4O_2 = 401,28$; hallado = 401,2.
- (4-22) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-hexilpiperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{24}H_{38}N_4O_2 = 415,30$; hallado = 415,2.
- (4-23) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(2-fluorfenil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{24}H_{30}FN_5O_2 = 440,24$; hallado = 440,2.
- 10 (4-24) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(2-clorofenil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{24}H_{30}ClN_5O_2 = 456,21$; hallado = 456,2.
- (4-25) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(3-fluorfenil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{24}H_{30}FN_5O_2 = 440,24$; hallado = 440,2.
- 15 (4-26) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(3-clorofenil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{24}H_{30}ClN_5O_2 = 456,21$; hallado = 456,2.
- (4-27) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(4-metilfenil)piperazina-1-carboxamidina. MS m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{25}H_{33}N_5O_2 = 436,26$; hallado = 436,2.
- (4-28) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(4-fluorfenil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{24}H_{30}FN_5O_2 = 440,24$; hallado = 440,2.
- 20 (4-29) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(4-clorofenil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{24}H_{30}ClN_5O_2 = 456,21$; hallado = 456,2.
- (4-30) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(4-metoxifenil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{25}H_{33}N_5O_3 = 452,26$; hallado = 452,2.
- 25 (4-31) 4-(((4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)piperazina-1-carboximidoil)amino)metil)benzoato de metilo. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{27}H_{34}N_4O_4 = 479,26$; hallado = 479,2.
- (4-32) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(1H-indol-2-ilmetil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{27}H_{33}N_5O_2 = 460,26$; hallado = 460,2.
- (4-33) N-cicloheptilmetil-4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{40}N_4O_2 = 441,32$; hallado = 441,2.
- 30 (4-34) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(2-hidroxibencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{25}H_{32}N_4O_3 = 437,25$; hallado = 437,2.
- (4-35) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(4-trifluorometoxibencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{31}F_3N_4O_3 = 505,24$; hallado = 505,2.
- 35 (4-36) 4-(((4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)piperazina-1-carboximidoil)amino)metil)benzamida. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{33}N_5O_3 = 464,26$; hallado = 464,2.
- (4-37) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(4-hidroximetilbencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{34}N_4O_3 = 451,26$; hallado = 451,2.
- (4-38) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(1H-indol-5-ilmetil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{27}H_{33}N_5O_2 = 460,26$; hallado = 460,2.
- 40 (4-39) N-benzofuran-5-ilmetil-4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{27}H_{32}N_4O_3 = 461,25$; hallado = 461,2.
- (4-40) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(4-metilbencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{34}N_4O_2 = 435,27$; hallado = 435,2.
- 45 (4-41) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(4-metilsulfanilbencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{34}N_4O_2S = 467,24$; hallado = 467,2.
- (4-42) N-(3-cianobencil)-4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{31}N_5O_2 = 446,25$; hallado = 446,2.
- (4-43) 3-(((4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)piperazina-1-carboximidoil)amino)metil)benzamida. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{33}N_5O_3 = 464,26$; hallado = 464,2.
- 50 (4-44) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(2-metilbencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{34}N_4O_2 = 435,27$; hallado = 434,2.
- (4-45) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(3-metilbencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{34}N_4O_2 = 435,27$; hallado = 435,2.
- 55 (4-46) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(1H-indol-4-ilmetil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{27}H_{33}N_5O_2 = 460,26$; hallado = 460,2.
- (4-47) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(3-metilsulfanilbencil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{34}N_4O_2S = 467,24$; hallado = 467,2.
- (4-48) N-benzo[b]tiofen-5-ilmetil-4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{27}H_{32}N_4O_2S = 477,22$; hallado = 477,2.
- 60 (4-49) N-benzo[1,3]dioxol-5-ilmetil-4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{32}N_4O_4 = 465,24$; hallado = 465,2.
- (4-50) N-benzo[b]tiofen-2-ilmetil-4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)piperazina-1-carboxamidina. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{27}H_{32}N_4O_2S = 477,22$; hallado = 477,2.

(4-51) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-(1-metil-1H-pirazol-3-ilmetil)piperazina-1-carboxamida. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{23}H_{32}N_6O_2 = 425,26$; hallado = 425,2.

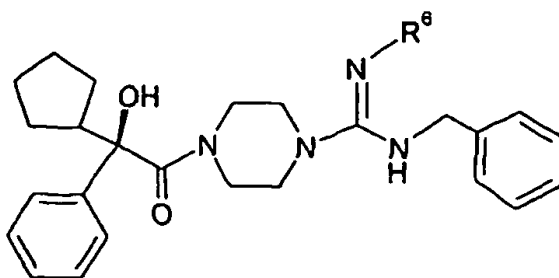
(4-52) 4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-ciclopentilmetil-piperazina-1-carboxamida. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{24}H_{36}N_4O_2 = 413,28$; hallado = 413,2.

5

Ejemplo 5

Aplicando los procedimientos descritos en los ejemplos anteriores y sustituyendo los materiales de partida y reactivos por los apropiados se obtienen también los siguientes compuestos 5-1 y 5-2 en forma de sales de TFA:

10



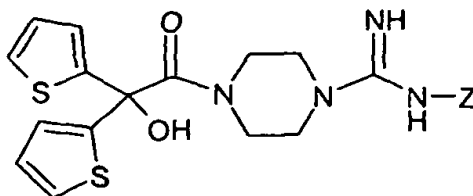
(5-1) N-bencil-4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N'-metilpiperazina-1-carboxamida ($R^6 = -CH_3$). EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{26}H_{34}N_4O_2 = 435,27$; hallado = 435,2.

15

(5-2) N-bencil-4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N'-etilpiperazina-1-carboxamida ($R^6 = -CH_2CH_3$). EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{27}H_{36}N_4O_2 = 449,28$; hallado = 449,2.

Ejemplo 14

20 Aplicando los procedimientos descritos en los ejemplos anteriores y sustituyendo los materiales de partida y reactivos por los apropiados se obtienen también los siguientes compuestos de 14-1 a 14-4 en forma de sales de TFA:



25

ejemplo	Q
14-1	fenilo
14-2	tiofen-2-ilo
14-3	4-hidroxifenilo
14-4	furan-2-ilo

(14-1) N-bencil-4-(2-hidroxi-2,2-di-tiofen-2-ilacetil)-piperazina-1-carboxamida. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{22}H_{24}N_4O_2S_2 = 441,13$; hallado = 441,0.

30

(14-2) 4-(2-hidroxi-2,2-di-tiofen-2-ilacetil)-N-tiofen-2-ilmetil-piperazina-1-carboxamida. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{20}H_{22}N_4O_2S_3 = 447,09$; hallado = 447,0.

(14-3) N-(4-hidroxibencil)-4-(2-hidroxi-2,2-di-tiofen-2-ilacetil)-piperazina-1-carboxamida. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{22}H_{24}N_4O_3S_2 = 457,13$; hallado = 457,0.

35

(14-4) N-furan-2-ilmetil-4-(2-hidroxi-2,2-di-tiofen-2-ilacetil)-piperazina-1-carboxamida. EM m/z: $[M+H]^+$ calculado para el $C_{20}H_{22}N_4O_3S_2 = 431,11$; hallado = 431,0.

Ensayo 1

Ensayo de fijación de radioligando

40

Preparación de membrana a partir de células que expresan los receptores muscarínicos de los subtipos hM_1 , hM_2 , hM_3 y hM_4

Se cultivan las líneas celulares CHO, que expresan de modo estable los receptores muscarínicos de los subtipos hM_1 , hM_2 , hM_3 y hM_4 humanos clonados, respectivamente, hasta casi confluencia en un medio que consiste en

HAM's F-12 suplementado con un 10% de FBS y 250 µg/ml de geneticina. Se cultivan las células en una incubadora a 37°C con un 5% de CO₂ y se tratan (lifted) con EDTA 2 mM en dPBS. Se recogen las células por centrifugación a 650 x g durante 5 minutos y se congelan los culotes celulares para almacenarlos a -80°C o bien se preparan inmediatamente las membranas. Para preparar las membranas se suspenden de nuevo los culotes celulares en el tampón de lisis y se homogeneizan en un aparato disruptor celular de tipo Polytron PT-2100 (Kinematica AG; 20 segundos x 2 ráfagas). Se centrifugan las membranas en bruto a 4°C y 40.000 x g durante 15 minutos. Se suspende de nuevo el culote de membrana en un tampón de resuspensión y se homogeneiza de nuevo en el disruptor de tejidos Polytron. Se determina la concentración de proteínas de la suspensión de membrana por el método descrito en Lowry, O. y col., *Journal of Biochemistry* 193, 265, 1951. Todas las membranas se almacenan congeladas, divididas en partes alícuotas, a -80°C o bien se emplean inmediatamente. Se adquieren las partes alícuotas de membranas de receptor hM₅ directamente de Perkin Elmer y se almacenan a -80°C hasta el momento del uso.

Ensayo de fijación de radioligando sobre los receptores muscarínicos de los subtipos hM₁, hM₂, hM₃, hM₄ y hM₅

Se realizan los ensayos de fijación de radioligando en placas de microvaloración de 96 hoyos, en un volumen total de ensayo de 1000 µl. Se diluyen las membranas de células CHO que expresan uno de los receptores muscarínicos de los subtipos hM₁, hM₂, hM₃, hM₄ o hM₅ en tampón de ensayo hasta una de las concentraciones de proteína específicas deseadas siguientes (µg/hoyo): 10 µg para la hM₁, 10-15 µg para la hM₂, 10-20 µg para la hM₃, 10-20 µg para la hM₄ y 10-12 µg para la hM₅. Se homogeneizan brevemente las membranas empleando un disruptor de tejidos Polytron (10 segundos) antes de depositarlas sobre la placa de ensayo. Se realizan los ensayos de fijación de saturación para determinar los valores K_D del radioligando empleando el cloruro de L-[N-metil-3H]escopolamina-metilo ([H³]-NMS) (TRK666, 84,0 Ci/mmol, Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, Inglaterra) en concentraciones comprendidas entre 0,001 nM y 20 nM. Los ensayos de desplazamiento para la determinación de los valores K_i de los compuestos ensayados se realiza con ([H³]-NMS 1 nM y once concentraciones diferentes del compuesto ensayado. Los compuestos ensayados se disuelven inicialmente a una concentración de 40 µM en tampón de dilución y después se diluyen en series de 5x con tampón de dilución hasta alcanzar concentraciones finales comprendidas entre 400 fM y 4 µM. El orden de adición y los volúmenes depositados en las placas de ensayo son los siguientes: 825 µl de tampón de ensayo con un 0,1% de BSA, 25 µl de radioligando, 100 µl de compuesto ensayado diluido y 50 µl de membranas. Se incuban las placas de ensayo a 37°C durante 6 horas. Se terminan las reacciones de fijación por filtración rápida a través de placas filtrantes de fibra de vidrio GF/B (Perkin Elmer Inc., Wellesley, MA), tratadas previamente en un 0,3% de polietilenoimina (PEI). Se enjuagan las placas filtrantes tres veces con tampón de lavado (HEPES 10 mM) para separar el material radiactivo no fijado. Se secan las placas con aire y se depositan en cada hoyo 50 µl de líquido de centelleo Microscint-20 (PerkinElmer Inc., Wellesley, MA). Se realiza el recuento de las placas en un contador de centelleo líquido Topcount de PerkinElmer Topcount (PerkinElmer Inc., Wellesley, MA). Se analizan los datos de fijación por análisis de regresión no lineal con el paquete de programas informáticos GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA), empleando un modelo de competición por un sitio. Los valores K_i de los compuestos ensayados se calculan a partir de los valores observados de la IC₅₀ y el valor K_D del radioligando empleando la ecuación de Cheng-Prusoff (Cheng, Y.; Prusoff, W.H., *Biochemical Pharmacology* 22(23), 3099-108, 1973). Los valores K_i se convierten en valores pK_i para determinar la media geométrica y los intervalos de confianza del 95 %. Estos valores estadísticos sumarios se convierten de nuevo en valores K_i para el informe de presentación de los datos.

En este ensayo, un valor K_i bajo indica que el compuesto ensayado tiene una afinidad de fijación alta con el receptor ensayado. Se observa que los compuestos representativos de la invención que se someten a este ensayo tienen un valor K_i inferior a 100 nM para el subtipo de receptor muscarínico M₃. Más normalmente se observa que estos compuestos tienen valores K_i inferiores a 50 nM, en algunos compuestos los valores K_i son inferiores a 10 nM o inferiores a 1,0 nM.

Ensayo 2

Ensayos de potencia funcional del receptor muscarínico

Bloqueo de la inhibición mediada por un agonista de la acumulación del cAMP

En este ensayo, se determina la potencia funcional de un compuesto de ensayo midiendo la capacidad de dicho compuesto de ensayo para bloquear la inhibición de la oxotremorina de la acumulación de cAMP mediada por la forskolina en células CHO-K1 que expresan al receptor hM₂.

Los ensayos de cAMP se realizan en un forma de radioinmunoensayo empleando el sistema Flashplate de activación de la adenilil-ciclasa con cAMP-I¹²⁵ (NEN SMP004B, PerkinElmer Life Sciences Inc., Boston, MA) con arreglo a las instrucciones del fabricante.

Se enjuagan las células una vez con dPBS y se recogen en una solución de tripsina-EDTA (0,05% de tripsina/EDTA 0,53 mM) del modo descrito en la anterior sección de cultivo celular y preparación de membranas. Se lavan dos veces las células separadas por centrifugación a 650 x g durante 5 minutos en 50 ml de dPBS. A continuación se

ES 2 375 516 T3

suspende de nuevo el culote celular en 10 ml de dPBS y se cuentan las células con un contador del tipo Coulter Z1 Dual Particle Counter (Beckman Coulter, Fullerton, CA). Se centrifugan de nuevo las células a 650 x g durante cinco minutos y se suspenden de nuevo en tampón de estimulación hasta una concentración de ensayo de $1,6 \times 10^6$ - $2,8 \times 10^6$ células/ml.

5 Inicialmente se disuelve el compuesto a ensayar hasta una concentración de 400 μ M en tampón de dilución (dPBS suplementado con 1 mg/ml de BSA (del 0,1 %)) y después se diluyen en series con tampón de dilución hasta concentraciones molares finales comprendidas 100 μ M y 0,1 nM. La oxotremorina se diluye de manera similar.

10 Para medir la inhibición de la actividad de la adenilil-ciclasa (AC), causada por la oxotremorina, se introducen en los hoyos de ensayo agonista 25 μ l de forskolina (concentración final = 25 μ M, diluida en dPBS), 25 μ l de oxotremorina diluida y 50 μ l de células. Para medir la capacidad de un compuesto ensayado para bloquear la actividad de la AC inhibida por la oxotremorina, se introducen en los restantes hoyos de ensayo 25 μ l de forskolina y oxotremorina (final concentraciones = 25 μ M y 5 μ M, respectivamente, diluidas en dPBS), 25 μ l de compuesto de ensayo diluido y 50 μ l de células.

Se incuban las mezclas reaccionantes a 37°C durante 10 minutos y se interrumpen las reacciones por adición de 100 μ l tampón de detección enfriado con hielo. Se sellan las placas, se incuban a temperatura ambiente durante una noche y a la mañana siguiente se hace el recuento en un contador del tipo PerkinElmer TopCount liquid scintillation counter (PerkinElmer Inc., Wellesley, MA). Se calcula la cantidad de cAMP producida (pmoles/hoyo) en base a las cuentas observadas en las muestras y los patrones de cAMP, del modo descrito en el manual de usuario que facilita el fabricante. Los datos se analizan mediante regresión no lineal con el paquete informático GraphPad Prism Software (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) aplicando una regresión no lineal y una ecuación de competición de un sitio. Se emplea la ecuación de Cheng-Prusoff para calcular la K_i , tomando la EC_{50} de la curva de concentración-respuesta de la oxotremorina y la concentración de la oxotremorina en el ensayo como valores K_D y [L], respectivamente. Los valores K_i se convierten en valores pK_i para determinar la media geométrica y los intervalos de confianza del 95 %. Estos valores estadísticos sumarios se convierten de nuevo en valores K_i para el informe de presentación de los datos.

30 En este ensayo, un valor K_i bajo indica que el compuesto ensayado tiene una actividad funcional elevada con respecto al receptor ensayado. Los compuestos representativos de la invención sometidos a este ensayo normalmente tienen un valor K_i inferior a 100 nM para el bloqueo de la inhibición causada por la oxotremorina de la acumulación de la cAMP mediada por la forskolina en células CHO-K1 células que expresan al receptor hM_2 .

35 B. Bloqueo de la fijación del $GTP\gamma S[S^{35}]$ mediada por el agonista

En un segundo ensayo funcional puede determinarse la potencia funcional de los compuestos de ensayo midiendo la capacidad de los compuestos para bloquear la fijación del $GTP\gamma S[S^{35}]$, mediada por la oxotremorina, sobre células CHO-K1 que expresan al receptor hM_2 .

40 En el momento del empleo, se descongelan las membranas congeladas y se diluyen en tampón de ensayo hasta la concentración final deseada de tejido de 5-10 μ g de proteína por hoyo. Se homogeneizan brevemente las membranas en un disruptor de tejidos Polytron PT-2100 y después se introducen en las placas de ensayo.

45 En cada ensayo se determina el valor EC_{90} (concentración efectiva para la respuesta máxima del 90%) de la estimulación de la fijación del $GTP\gamma S[S^{35}]$ causada por el agonista oxotremorina.

Para determinar la capacidad de un compuesto de ensayo para inhibir la fijación del $GTP\gamma S[S^{35}]$ estimulada por la oxotremorina se introducen los siguientes materiales en cada uno de los hoyos de placas de 96 hoyos: 25 μ l de tampón de ensayo con $GTP\gamma S[S^{35}]$ (0,4 nM), 25 μ l de oxotremorina (EC_{90}) y GDP (3 μ M), 25 μ l de compuesto de ensayo diluido y 25 μ l de membranas de células CHO célula que expresan al receptor hM_2 . A continuación se incuban las placas de ensayo a 37°C durante 60 minutos. Se filtran los materiales de las placas de ensayo a través de filtros GF/B tratados previamente con BSA del 1 % empleando un recolector de 96 hoyos PerkinElmer. Se enjuagan las placas con tampón de lavado enfriado con hielo durante 3 x 3 segundos y se secan con aire o con vacío. Se introduce en cada hoyo el líquido Microscint-20 scintillation liquid (50 μ l), se sella cada placa y se determina la radiactividad en un Topcounter (PerkinElmer). Los datos se analizan mediante regresión no lineal con el paquete informático GraphPad Prism Software (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) aplicando una regresión no lineal y una ecuación de competición de un sitio. Se emplea la ecuación de Cheng-Prusoff para calcular la K_i , tomando la EC_{50} de la curva de concentración-respuesta de la oxotremorina y la concentración de la oxotremorina en el ensayo como valores K_D y la concentración del ligando [L], respectivamente.

En este ensayo, un valor K_i bajo indica que el compuesto ensayado tiene una actividad funcional elevada con respecto al receptor ensayado. Los compuestos representativos de la invención sometidos a este ensayo normalmente tienen un valor K_i inferior a 100 nM para el bloqueo de la fijación del $GTP\gamma S[S^{35}]$ estimulada por la oxotremorina sobre células CHO-K1 que expresan al receptor hM_2 .

65

C. Bloqueo de la liberación de calcio mediada por el agonista mediante ensayos FLIPR

5 Los subtipos de receptores muscarínicos (receptores M₁, M₃ y M₅), que se unen a las proteínas Gq, activan el mecanismo de la fosfolipasa C (PLC) después de que el agonista se haya unido al receptor. De ello resulta que la PLC hidroliza al difosfato de fosfatidil-inositol (PIP₂) convirtiéndolo en diacilglicerina (DAG) y trifosfato de 1,4,5-fosfatidilo (IP₃), que a su vez provoca la liberación de calcio de las reservas intracelulares, es decir, del retículo endoplasmático y sarcoplasmático. El ensayo FLIPR (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) capitaliza en su incremento en calcio intracelular empleando un colorante sensible al calcio (Fluo-4AM, Molecular Probes, Eugene, OR), que emite fluorescencia cuando se une al calcio libre. Este acontecimiento de fluorescencia se mide en tiempo real en el FLIPR, que detecta el cambio de fluorescencia de una monocapa de células clonadas con receptores M₁ y M₃ humanos y receptores M₅ de chimpancé. La potencia antagonista puede determinarse por la capacidad de los antagonistas para inhibir los aumentos de calcio intracelular mediados por los agonistas.

15 Para los ensayos FLIPR de estimulación de calcio se siembran las células CHO que expresan de modo estable los receptores M₁, M₃ y M₅ en placas FLIPR de 96 hoyos, la noche antes de la realización del ensayo. Se lavan dos veces las células sembradas con Cellwash (MTX Labsystems, Inc.) con tampón FLIPR (10 mM HEPES, pH 7,4, 2 mM cloruro cálcico, 2,5 mM probenecida en solución salina tamponada de Hank (HBSS) sin calcio ni magnesio) para eliminar el medio de cultivo y quedando 50 µl/hoyo de tampón FLIPR. Después se incuban las células con 50 µl/hoyo de 4 µM FLUO-4AM (se prepara una solución 2X) a 37°C durante 40 minutos con un 5% de dióxido de carbono. Después del período de incubación del colorante se dos veces lavan las células con tampón FLIPR, quedando un volumen final de 50 µl/hoyo.

25 Para determinar la potencia antagonista, la estimulación dependiente de dosis de la liberación del Ca²⁺ intracelular se determina en primer lugar de modo que la potencia antagonista pueda medirse después frente a la estimulación de la oxotremorina en una concentración EC₉₀. Las células se incuban en primer lugar con compuesto tampón de dilución durante 20 minutos, después se añade el agonista, lo cual se realiza con el FLIPR. Se genera un valor EC₉₀ para la oxotremorina con arreglo al método detallado en la siguiente sección de medición FLIPR y reducción de datos, en combinación con la fórmula $EC_F = ((F/100-F)^{1/H}) * EC_{50}$. Se prepara una concentración de oxotremorina de 3 x ECF en las placas de estimulación de modo que se añada una concentración EC₉₀ de oxotremorina a cada hoyo en las placas de ensayo de inhibición de antagonista.

35 Los parámetros empleados para el FLIPR son: período de exposición de 0,4 segundos, potencia del láser de 0,5 vatios, longitud de onda de excitación de 488 nm y longitud de onda de emisión de 550 nm. La línea de base se determina midiendo el cambio de fluorescencia durante 10 segundos antes de la adición del agonista. Después de la estimulación del agonista, el FLIPR mide en continuo el cambio de fluorescencia cada 0,5 - 1 segundos durante 1,5 minutos para capturar el cambio máximo de fluorescencia.

40 El cambio de fluorescencia se expresa como fluorescencia máxima menos fluorescencia de la línea base para cada hoyo. Los datos en bruto se analizan frente al logaritmo de la concentración del fármaco por regresión no lineal con el programa informático GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) empleando el modelo intrínseco de dosis-respuesta sigmoidal. Los valores K_i del antagonista se determinan con el Prism empleando el valor EC₅₀ de la oxotremorina como valor K_D y el EC₉₀ de la oxotremorina para la concentración de ligando con arreglo a la ecuación de Cheng-Prusoff (Cheng & Prusoff, 1973).

45 En este ensayo, un valor K_i bajo indica que el compuesto ensayado tiene una actividad funcional elevada con respecto al receptor ensayado. Los compuestos representativos de la invención sometidos a este ensayo normalmente tienen un valor K_i inferior a 100 nM para el bloqueo de la inhibición de la liberación de calcio mediada por el agonista en células CHO que expresan de modo estable al receptor hM₃.

50 Ensayo 3

Ensayo Einthoven en ratas

55 Se realiza este ensayo "in vivo" para evaluar los efectos broncoprotectores de los compuestos de ensayo que poseen actividad antagonista del receptor muscarínico.

60 Todos los compuestos ensayados se diluyen en agua estéril y se dosifican por vía inhalativa (IH). Se exponen las ratas (Sprague-Dawley, machos, 250-350 g) al aerosol generado por un nebulizador del tipo LC Star Nebulizer Set e impulsado por una mezcla de gases (5% de CO₂/95% de aire atmosférico). Se nebulizada cada una de las soluciones de compuesto de ensayo durante un período de tiempo de 10 minutos, en una cámara de dosificación de forma de pastel, capaz de albergar seis ratas. En puntos temporales predeterminados después de la inhalación del compuesto se realiza el ensayo de Einthoven.

Treinta minutos antes de iniciar la evaluación pulmonar se anestesian los animales con inactina (tiobutabarbital, 120 mg/kg por vía IP). Se cateteriza la vena yugular con catéteres de polietileno (PE-50) que contienen solución salina y se emplean para infundir la MCh. Se disecciona la tráquea y se encanula con una aguja 14G que se emplea para la ventilación de la rata durante la evaluación pulmonar. Una vez finalizada la cirugía se ventilan las ratas empleando un equipo respiratorio de émbolo, con un volumen por embolada de 1 ml/100 g de peso corporal, pero sin rebasar los 2,5 ml de volumen y con una velocidad de 90 emboladas por minuto.

Se miden los cambios de presión que puedan ocurrir en cada respiración. Los valores de base se recogen por lo menos durante 2,5 minutos, ya que las ratas se someten de modo no acumulado con incrementos de 2 veces del broncoconstrictor MCh (5, 10, 20, 40 y 80 µg/ml). Se administra la infusión de la MCh durante 2,5 minutos con una bomba de jeringuilla a razón de 2 ml/kg/min. Una vez finalizados los estudios, los animales se eutanizan.

Los cambios de presión de ventilación (cm H₂O) en los animales tratados se expresan en forma de inhibición % de la respuesta a la MCh con respecto a los animales de control. En este ensayo, un valor de inhibición % elevado indica que el compuesto ensayo tiene efecto broncoprotector. Se espera que los ejemplos representativos de la invención sometidos a este ensayo en una dosis de 100 µg/ml desplieguen una inhibición superior al 35%, se espera que algunos provoquen una inhibición superior al 70% y se espera que algunos causen una inhibición superior al 90%.

Determinación de la ID₅₀ a las 1,5 h

Se evalúan los patrones de antagonistas muscarínicos en el ensayo Einthoven realizado con ratas a las 1,5 h de la aplicación de la dosis. Se determina el orden de potencia (ID₅₀) de los cinco patrones ensayados y resulta ser: ipratropio (4,4 µg/ml) > tiotropio (6 µg/ml) > desmetil-tiotropio (12 µg/ml) > glicopirrolato (15 µg/ml) > LAS-34237 (24 µg/ml). La potencia del compuesto ensayado se determina de modo similar a las 1,5 h después de la aplicación de la dosis.

Determinación de la ID₅₀ a las 6 y 24 h

Se evalúan también los patrones de tiotropio e ipratropio al cabo de 24 h y/o 6 h de la aplicación de la dosis en un ensayo de Einthoven en ratas. El ipratropio (10 y 30 µg/ml) tiene una potencia 3 veces menor al cabo de 6 h de la aplicación de la dosis con respecto a su potencia al cabo de 1,5 h. La pérdida de actividad observada en este momento (6 h) es consistente con la duración relativamente corta de su acción en el clínico. El tiotropio presenta un inicio lento del efecto con un pico de broncoprotección situado 6 h después de la aplicación de la dosis. Sus valores de potencia a las 6 h y 24 h no son significativamente diferentes entre sí y se sitúan en 2 veces más altos que la potencia al cabo de 1,5 h. De modo similar se determina el inicio de la acción del compuesto ensayado así como sus valores de potencia al cabo de 6 y de 24 h.

Ensayo 4

Ensayo antisialagogo en ratas

Se dosifican, anestesian y se encanulan las ratas (Sprague-Dawley, machos, 250-350 g) del modo descrito en el ensayo 3. En momentos temporales determinados y después de la cirugía, se colocan los animales sobre su cara dorsal en una inclinación de 20°, con la cabeza inclinada hacia abajo. Se inserta en la boca del animal una almohadilla de gasa pesada previamente y se administra al animal el agonista muscarínico pilocarpina (PILo) (3 mg/kg, por vía i.v.). Se determina por gravimetría la saliva producida durante los 10 minutos que siguen a la administración de la PILo, pesando la almohadilla de gasa antes y después de la PILo. Se expresan los efectos antisialagogos (inhibición de la secreción de salivación) en forma de inhibición % de la salivación con respecto a los animales de control.

Determinación de la ID₅₀ al cabo de 1, 6 y 24 h

El ensayo antisialagogo en las ratas se desarrolla para evaluar la exposición sistémica y calcular el índice de selectividad pulmonar (LSI) de los compuestos ensayados. Se evalúa el patrón, el tiotropio, en este modo al cabo de 1, 6 y 24 h después de la aplicación de la dosis. Se encuentra que el tiotropio es el inhibidor más potente para inhibir la salivación inducida por la pilocarpina a las 6 h después de la administración de la dosis. Este resultado es consistente con los picos de efecto observados en el ensayo de Einthoven.

Este modelo es una versión modificada del procedimiento descrito por Rechter, "Estimation of anticholinergic drug effects in mice by antagonism against pilocarpine-induced salivation", *Ata. Pharmacol. Toxicol.* 24, 243-254, 1996. Se calcula el peso medio de saliva en los animales tratados con el vehículo en cada tiempo de tratamiento previo y se emplea para calcular la inhibición en % de la salivación, en el correspondiente tiempo de tratamiento previo, para cada dosis.

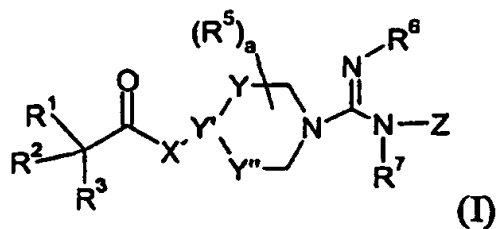
ES 2 375 516 T3

Se espera que los compuestos representativos de la invención sometidos a este ensayo presenten valores ID_{50} inferiores a 100 $\mu\text{g/ml}$ (medidos al cabo de 24 horas), se espera que algunos compuestos tengan un valor ID_{50} inferior a 30 $\mu\text{g/ml}$, algunos inferior a 20 $\mu\text{g/ml}$ y algunos inferior a 15 $\mu\text{g/ml}$.

- 5 La relación entre la ID_{50} anti-sialagogo y la ID_{50} broncoprotectora se emplea para calcular el índice de selectividad pulmonar aparente del compuesto ensayado. En general son preferidos los compuestos que tienen un índice de selectividad pulmonar mayor que 5.

REIVINDICACIONES

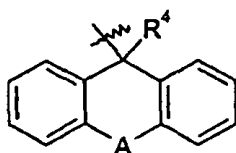
1. Un compuesto de la fórmula I:



5

en la que:

10 R¹ se elige entre alquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, cicloalquilo C₃₋₉ y heteroarilo; R² se elige entre arilo y heteroarilo; R³ se elige entre H y (alqueno C₀₋₁)-OH, o R³ junto con R¹ forman un doble enlace; o -CR¹R²R³ juntos forman un grupo de la fórmula:



en la que A se elige entre un enlace, -O-, -S-, -CH₂-, -CH=CH-, -CH₂CH₂-, -NH- y -N(CH₃)-; y R⁴ se elige entre H, halógeno, -OH, alquilo C₁₋₈ y alcoxi C₁₋₈;

15 X es un enlace, Y es -CH₂-, Y' es -N- e Y'' es -CH₂-;

R⁵ se elige entre flúor y alquilo C₁₋₄; y "a" es el número 0 o un número entero de 1 a 3;

R⁶ y R⁷ se eligen con independencia entre H y alquilo C₁₋₄ y aparte de que uno de R⁶ y R⁷ puede ser -NH₂;

Z se elige entre -(alqueno C₁₋₃)-Q y -NH-(alqueno C₀₋₁)-Q; Q se elige entre cicloalquilo C₃₋₇, arilo y heteroarilo;

20 y Q está opcionalmente sustituido por 1-5 grupos R⁸ elegidos con independencia entre halógeno, alquilo C₁₋₄,

-(alqueno C₀₋₄)-OH, ciano, -(alqueno C₀₋₂)-COOH, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -O-alquilo C₁₋₄, -S-alquilo C₁₋₄, -CONR^{8a}R^{8b},

-NH-C(O)-alquilo C₁₋₄, -N-di-alquilo C₁₋₄ y -N⁺(O)O; R^{8a} y R^{8b} se eligen con independencia entre H y alquilo C₁₋₄;

dichos R¹ y R² están opcionalmente sustituidos por 1 - 5 grupos R^a elegidos con independencia entre alquilo C₁₋₄,

alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, ciano, halógeno, -OR^b, -C(O)OR^b, -SR^b, -S(O)R^b, -S(O)₂R^b,

25 -C(O)NR^cR^d y -NR^bR^d; cada R^b se elige con independencia entre H, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄ y

cicloalquilo C₃₋₆;

cada R^c y R^d se elige con independencia entre H, alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄ y cicloalquilo C₃₋₆; cada

grupo alquilo, alqueno, alquino, alqueno y cicloalquilo de R^{a-d}, R⁴⁻⁸ y Z, está opcionalmente sustituido por 1 - 5

átomos de flúor; cada cicloalquilo de R^{a-d} está opcionalmente sustituido por 1 - 3 sustituyentes elegidos con

independencia entre alquilo C₁₋₄, alqueno C₂₋₄, alquino C₂₋₄, ciano, halógeno, -O(alquilo C₁₋₄), -S(alquilo C₁₋₄),

30 -S(O)(alquilo C₁₋₄), -S(O)₂(alquilo C₁₋₄), -NH₂, -NH(alquilo C₁₋₄) y -N(alquilo C₁₋₄)₂; cada grupo alquilo, alqueno y

alquino está opcionalmente sustituido por 1 - 5 sustituyentes flúor; y el grupo alqueno de Z está opcionalmente

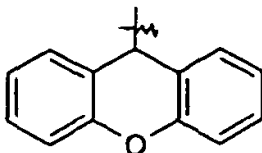
sustituido por 1 ó 2 sustituyentes elegidos con independencia entre alquilo C₁₋₂ y -OH;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

35 2. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹ es isobutilo, ciclopentilo o tiofenilo.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R² es fenilo o tiofenilo.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R³ es -OH o -CR¹R²R³ juntos forman un:



40

5. El compuesto de la reivindicación 1, en el que "a" es el número 0.

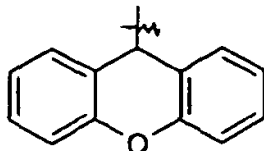
6. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R⁶ es H o alquilo C₁₋₄; y R⁷ es H.

45

7. El compuesto de la reivindicación 1, en el que Q es ciclohexilo, cicloheptilo, fenilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, furanilo, indolilo, pirazolilo, piridinilo, tiazolilo o tiofenilo.

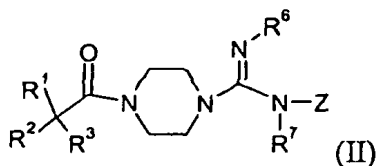
8. El compuesto de la reivindicación 1, en el que Q está opcionalmente sustituido por 1-2 grupos R⁸ elegidos con independencia entre halógeno, alquilo C₁₋₄, -(alquileo C₀₋₄)-OH, ciano, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -O-alquilo C₁₋₄, -S-alquilo C₁₋₄ y -CONH₂.

5 9. El compuesto de la reivindicación 1, en el que R¹ es isobutilo, ciclopentilo, o tiofenilo; R² es fenilo o tiofenilo; R³ es -OH; o -CR¹R²R³ juntos forman un grupo de la fórmula:



10 "a" es el número 0; R⁶ es H o alquilo C₁₋₄; R⁷ es H; Q es ciclohexilo, cicloheptilo, fenilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, furanilo, indolilo, pirazolilo, piridinilo, tiazolilo o tiofenilo; Q está opcionalmente sustituido por 1-2 grupos R⁸ elegidos con independencia entre halógeno, alquilo C₁₋₄, -(alquileo C₀₋₄)-OH, ciano, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -O-alquilo C₁₋₄, -S-alquilo C₁₋₄ y -CONH₂; y los grupos alquilo de R⁸ están opcionalmente sustituidos por 1 - 5 átomos de flúor.

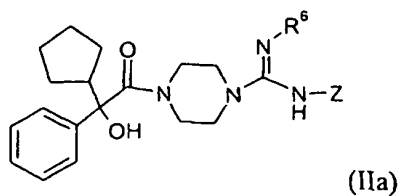
15 10. El compuesto de la reivindicación 1, que tiene la fórmula:



20 11. El compuesto de la reivindicación 10, en el que: R¹ es ciclopentilo o tiofenilo; R² es fenilo o tiofenilo; R³ es -OH; R⁶ es H o alquilo C₁₋₂; R⁷ es H; Z es alquilo C₁₋₆, -(alquileo C₁₋₃)-Q, o -NH-(alquileo C₀₋₁)-Q; Q es ciclohexilo, cicloheptilo, fenilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, furanilo, indolilo, pirazolilo, piridinilo, tiazolilo o tiofenilo;

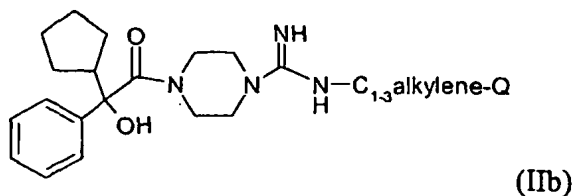
25 Q está opcionalmente sustituido por 1-2 grupos R⁸ elegidos con independencia entre halógeno, alquilo C₁₋₄, -(alquileo C₀₋₄)-OH, ciano, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -O-alquilo C₁₋₄, -S-alquilo C₁₋₄ y -CONH₂; y los grupos alquilo de R⁸ están opcionalmente sustituidos por 1 - 5 átomos de flúor.

12. El compuesto de la reivindicación 10, que tiene la fórmula:



30 13. El compuesto de la reivindicación 12, en el que: R⁶ es H o alquilo C₁₋₂; Q es ciclohexilo, cicloheptilo, fenilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, furanilo, indolilo, pirazolilo, piridinilo, tiazolilo o tiofenilo; Q está opcionalmente sustituido por 1-2 grupos R⁸ elegidos con independencia entre halógeno, alquilo C₁₋₄, -(alquileo C₀₋₄)-OH, ciano, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -O-alquilo C₁₋₄, -S-alquilo C₁₋₄ y -CONH₂; y los grupos alquilo de R⁸ están opcionalmente sustituidos por 1 - 5 átomos de flúor.

14. El compuesto de la reivindicación 10, que tiene la fórmula:



40

15. El compuesto de la reivindicación 14, en el que: Q es ciclohexilo, cicloheptilo, fenilo, benzodioxolilo, benzofuranilo, benzotiofenilo, furanilo, indolilo, pirazolilo, piridinilo, tiazolilo o tiofenilo; Q está opcionalmente sustituido por 1-2 grupos R⁸ elegidos con independencia entre halógeno, alquilo C₁₋₄, -(alquilenos C₀₋₄)-OH, ciano, -C(O)O-alquilo C₁₋₄, -O-alquilo C₁₋₄, -S-alquilo C₁₋₄ y -CONH₂; y los grupos alquilo de R⁸ están opcionalmente sustituidos por 1 - 5 átomos de flúor.

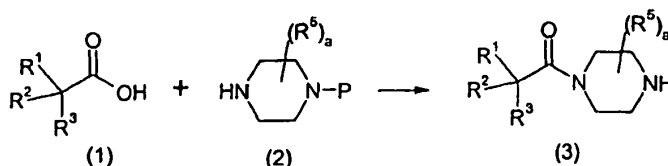
16. El compuesto de la reivindicación 15, en el que Q es furanilo o tiofenilo.

17. El compuesto de la reivindicación 16, elegido entre:

4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-furan-2-ilmetilpiperazina-1-carboxamida; y
4-((R)-2-ciclopentil-2-hidroxi-2-fenilacetil)-N-tiofen-2-ilmetil-piperazina-1-carboxamida.

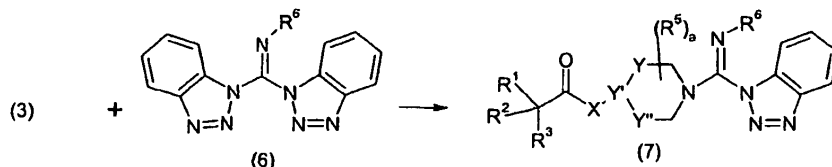
18. Un proceso de obtención de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 17, que consiste en:

(a) condensar el compuesto (1) y con el compuesto (2) en las condiciones de formación de un enlace amídico y desproteger el producto para obtener el compuesto (3):

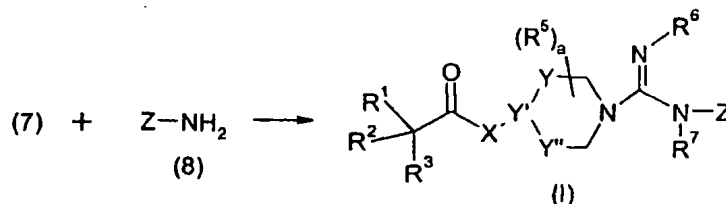


en el que P es un grupo protector de amino;

(b) hacer reaccionar el compuesto (3) con el compuesto (6) para formar el compuesto (7):



y
(c) hace reaccionar el compuesto (7) con el compuesto (8), para obtener el compuesto de la fórmula I:



19. Una composición farmacéutica que contiene un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 17 y un vehículo farmacéuticamente aceptable y además opcionalmente puede contener un segundo agente terapéutico, dicho segundo agente terapéutico se elige con preferencia entre los agonistas de receptores adrenérgicos β₂, los agentes antiinflamatorios esteroideos, los inhibidores de la fosfodiesterasa-4 y combinaciones de los mismos.

20. La composición farmacéutica de la reivindicación 19, dicha composición contiene un agonista de receptor adrenérgico β₂ y un agente antiinflamatorio esteroideo.

21. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones de 1 a 17 para el uso en la terapia.

22. Un compuesto para el uso en la terapia según la reivindicación 21, para tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica o el asma o para producir broncodilatación