

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 384 414**

51 Int. Cl.:
C07D 309/12 (2006.01)
A61K 31/497 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **08803634 .8**
96 Fecha de presentación: **04.09.2008**
97 Número de publicación de la solicitud: **2195307**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.06.2010**

54 Título: **Derivado de piperazina que tiene afinidad por el receptor H3 de histamina**

30 Prioridad:
06.09.2007 GB 0717336
15.08.2008 GB 0814987

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
04.07.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
04.07.2012

73 Titular/es:
GLAXO GROUP LIMITED
GLAXO WELLCOME HOUSE BERKELEY
AVENUE
GREENFORD, MIDDLESEX UB6 0NN, GB

72 Inventor/es:
BEST, Desmond John;
MAK, Sing Yeung;
ORLEK, Barry Sidney;
RASSIAS, Geracimos y
THEOBALD, Pamela Joan

74 Agente/Representante:
de Elizaburu Márquez, Alberto

ES 2 384 414 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

Derivado de piperazina que tiene afinidad por el receptor H3 de histamina.

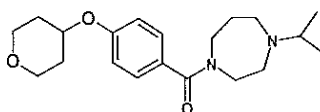
Antecedentes de la invención

5 La presente invención se refiere a un nuevo derivado de piperazina que tiene actividad farmacológica, a procesos para su preparación, a composiciones que lo contienen y a su uso en el tratamiento de trastornos neurológicos o psiquiátricos tales como el deterioro cognitivo, por ejemplo, en la enfermedad de Alzheimer.

10 El receptor H3 de histamina se expresa predominantemente en el sistema nervioso central (SNC) de los mamíferos, con mínima expresión en tejidos periféricos, excepto sobre algunos nervios simpáticos (Leurs *et al.*, (1998), Trends Pharmacol. Sci., **19**, 177-183). La activación de receptores H3 por agonistas selectivos o por histamina da como resultado la inhibición de la liberación de neurotransmisores a partir de una serie de diferentes poblaciones nerviosas, incluidas las neuronas histaminérgicas y colinérgicas (Schlicker *et al.*, (1994), Fundam. Clin. Pharmacol., **8**, 128-137). Además, estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que los antagonistas de H3 pueden facilitar la liberación de neurotransmisores en áreas del cerebro tales como la corteza cerebral y el hipocampo, de importancia para la cognición (Onodera *et al.*, (1998), en: The Histamine H3 receptor, ed. Leurs and Timmerman, págs. 255-267, Elsevier Science B.V.). Además, varios informes en la bibliografía científica han demostrado las propiedades intensificadoras del conocimiento que tienen los antagonistas de H3 (p.ej. tioperamida, clobenpropit, ciproxifan y GT-2331) en modelos de roedores, incluidas la tarea de cinco opciones, el reconocimiento de objetos, el laberinto elevado en cruz, la adquisición de nuevas tareas y la evitación pasiva (Giovanni *et al.*, (1999), Behav. Brain Res. **104**, 147-155). El antagonista del receptor H3 de histamina conocido como GSK189254 inhibía la unión de la [3H]R- α -metilhistamina *ex vivo* en corteza cerebral de rata después de la administración oral a la rata, y a ciertas dosis mejoraba el comportamiento de ratas en los siguientes paradigmas cognitivos: evitación pasiva, laberinto de agua, reconocimiento de objetos y cambio atencional (A.D. Medhurst *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Therap.*, 2007, 321(3), 1032-1045.).

25 Estos datos sugieren que nuevos antagonistas y/o agonistas inversos de H3 podrían ser útiles para el tratamiento de deterioros cognitivos en enfermedades neurológicas tales como la enfermedad de Alzheimer o un trastorno neurodegenerativo relacionado.

30 El documento WO 2005/040144 A1 (Glaxo Group Limited) describe una serie de derivados de diazepamilo 1-benzoil-sustituídos que tienen afinidad por el receptor H3 de histamina y que son antagonistas y/o agonistas inversos de dicho receptor. El ejemplo 10 del documento WO 2005/040144 A1 describe hidrocloreuro de 1-(isopropil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]hexahidro-1H-1,4-diazepina:



El documento WO 2004/037801 A1 (Janssen Pharmaceutics, N.V.) describe una serie de piperazinil y diazepamil benzamidas y benzotiamidas con la capacidad de modular la actividad del receptor de histamina, específicamente el receptor H3.

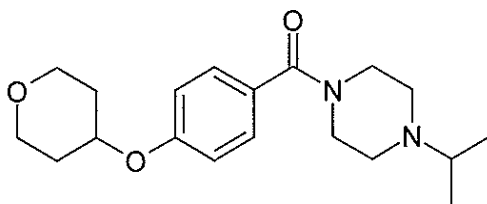
35 El documento WO 2004/101546 A1 (Glaxo Group Limited) describe varios derivados de (piperidina-4-carbonil)-piperazina y derivados de (piperidina-4-carbonil)-[1,4]-diazepano que tienen afinidad y que son antagonistas y/o agonistas inversos del receptor H3 de histamina.

El documento WO 03/004480 A2 (Novo Nordisk A/S y Boehringer Ingelheim International GmbH) describe una serie de piperazinas y diazepanos sustituidos que tienen afinidad de unión por el receptor H3 de histamina.

40 **Breve resumen de la invención**

La presente invención proporciona un compuesto o sal del mismo que tiene afinidad por el receptor H3 de histamina y que es un antagonista y/o agonista inverso de dicho receptor.

La presente invención proporciona, en un primer aspecto, 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina



o una sal de la misma.

Breve descripción de los dibujos

- 5 La figura 1 es un espectro de difracción de rayos X en polvo (XRPD) de la forma 1 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, expresado en términos de ángulos dos-theta (en grados), y obtenido con un difractómetro usando radiación X de cobre $K\alpha$ (cobre K-alfa), con un tamaño de paso de $0,0167^\circ$ dos-theta, un tiempo por paso de 31,75 seg, y usando una muestra montada en una placa de oblea de silicio.
- 10 La figura 2 es un espectro de difracción de rayos X en polvo (XRPD) de la forma 2 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, expresado en términos de ángulos dos-theta (en grados), y obtenido con un difractómetro usando radiación X de cobre $K\alpha$ (cobre K-alfa), con un tamaño de paso de $0,0167^\circ$ dos-theta, un tiempo por paso de 31,75 seg, y usando una muestra montada en una placa de oblea de silicio.
- 15 La figura 3 es una superposición de una parte del espectro de XRPD para la forma 1 cristalina (superior) y la forma 2 cristalina (inferior) de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina.
- La figura 4 es un espectro de infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR) para la forma 1 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, que muestra la región espectral de 4000 a 675 cm^{-1} .
- 20 La figura 5 es un espectro de infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR) para la forma 1 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, que muestra la región espectral de 2000 a 675 cm^{-1} .
- La figura 6 es un espectro de infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR) para la forma 2 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, que muestra la región espectral de 4000 a 675 cm^{-1} .
- 25 La figura 7 es un espectro de infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR) para la forma 2 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, que muestra la región espectral de 2000 a 675 cm^{-1} .
- La figura 8 es una superposición del espectro de FT-IR para la forma 1 cristalina (superior) y la forma 2 cristalina (inferior) de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, que muestra la región espectral de 2000 a 675 cm^{-1} .
- 30 La figura 9 es una superposición de los espectros de resonancia magnética nuclear en estado sólido de ^{13}C (RMN en estado sólido), en ppm, de la forma 1 cristalina (superior) y la forma 2 cristalina (inferior) de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina.
- La figura 10 es un esquema que muestra cómo puede medirse la ocupación de un receptor por un compuesto de ensayo ("candidato de fármaco") *in vivo* por medio de la reducción de la unión con especificidad de radioligando a receptores. B_A es la concentración de sitios receptores disponibles. Se indica cómo cambia B_A entre el momento inicial y 10 min, 2,5 horas y 6 horas después de la administración del compuesto de ensayo, como consecuencia de la presencia de diferentes concentraciones del candidato de fármaco en el tejido.
- 40 La figura 11 es un esquema que muestra el protocolo de PET en cerdo para medir la ocupación del receptor H3 por hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina ("sal A", dentro de la presente invención), e hidrocloreto de 1-(isopropil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]hexahidro-1H-1,4-diazepina ("sal B", un compuesto comparador).

La figura 12, gráfico A, es un gráfico que muestra la concentración plasmática promediada (media) a lo largo del tiempo de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina ("sal A", dentro de la presente invención, círculos rellenos) e hidrocloreto de 1-(isopropil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]hexahidro-1H-1,4-diazepina ("sal B", un compuesto comparador, rombos rellenos), después de la administración intravenosa de 50 microgramos/kg a cerdos.

La figura 12, gráfico B, es un gráfico que muestra la evolución en el tiempo de la ocupación del receptor H3 medida promediada (media) en tres puntos de tiempo durante un estudio de PET en cerdo *in vivo*, y el modelo limitado de K_{on} - K_{off} ajustado al mismo, para la "sal A" dentro de la presente invención (mediciones como círculos rellenos, y ajuste del modelo como una línea continua), y para la "sal B", un compuesto comparador (mediciones como rombos rellenos y ajuste de modelo como una línea de trazos), después de la administración intravenosa de 50 microgramos/kg de sal A o sal B a cerdos.

La figura 13, partes A y B, son gráficos que muestran la concentración plasmática promediada (media) a lo largo del tiempo y la evolución en el tiempo de la ocupación del receptor H3 promediada (media), respectivamente, para la "sal A" (sólo), como se muestra en parte de los gráficos A y B de la figura 12.

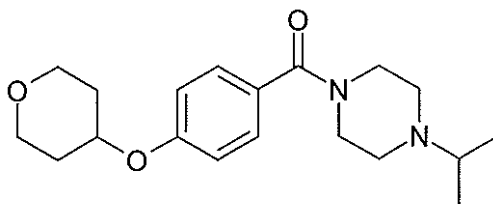
La figura 13, partes C y D, son gráficos que muestran la concentración plasmática promediada (media) a lo largo del tiempo y la evolución en el tiempo de la ocupación del receptor H3 promediada (media), respectivamente, para la "sal B" (sólo), como se muestra en parte de los gráficos A y B de la figura 12.

La figura 14 es una serie de gráficos que muestran las evoluciones en el tiempo de la concentración plasmática individual y de la ocupación del receptor H3, para cada cerdo individual estudiado, que son los datos que generaron las mediciones medias mostradas en las figuras 12 y 13, para el hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina ("sal A", dentro de la presente invención, gráficos de la izquierda, n=3), y para hidrocloreto de 1-(isopropil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]hexahidro-1H-1,4-diazepina ("sal B", un compuesto comparador, gráficos de la derecha, n=3).

Descripción detallada de la invención

La presente invención proporciona un compuesto o sal del mismo que tiene afinidad por el receptor H3 de histamina y que es un antagonista y/o agonista inverso de dicho receptor.

La presente invención proporciona, en un primer aspecto, 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina



o una sal de la misma.

En ensayos preliminares que comprenden la administración oral a ratas o cerdos, la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, en forma de su sal hidrocloreto, ha presentado en ratas y en cerdos ciertas evoluciones a lo largo del tiempo (reducciones a lo largo del tiempo) de la ocupación del receptor H3 de histamina (véanse los estudios de unión *ex vivo* en rata y los estudios de PET en cerdo presentados más adelante), lo cual sugiere que la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma podría tener ciertas propiedades adecuadas para uso farmacéutico en seres humanos, en particular en el tratamiento del deterioro cognitivo en seres humanos, tal como el deterioro cognitivo en la enfermedad de Alzheimer.

En el contexto de esta invención, la referencia a la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (la "base libre") o una sal de la misma incluye solvatos e hidratos de la base libre o de su sal.

En una realización, la invención proporciona 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina

(la "base libre").

Debido a su posible uso en medicina, la sal de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina preferiblemente es una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, en particular una sal de adición de ácidos farmacéuticamente aceptable de la misma.

- 5 Las sales de adición de ácidos farmacéuticamente aceptables de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina incluyen las sales hidrobromuro (por ejemplo, monohidrobromuro), hidrocioruro (por ejemplo, monohidrocioruro), sulfato, nitrato, fosfato, succinato, maleato, formiato, acetato, propionato, fumarato, citrato, tartrato, lactato, benzoato, salicilato, glutamato, aspartato, p-toluenosulfonato, bencenosulfonato, metanosulfonato, etanosulfonato, naftalenosulfonato (por ejemplo, 2-naftalenosulfonato) o hexanoato. Estas sales
10 generalmente pueden formarse por mezcla con el ácido apropiado, opcionalmente en un disolvente adecuado tal como un disolvente orgánico, para dar la sal, que puede aislarse, por ejemplo por cristalización y filtración, normalmente seguido de secado.

La invención incluye dentro de su alcance todas los posibles formas estequiométricas y no estequiométricas de las sales del compuesto de la invención, incluidos los hidratos y solvatos.

- 15 En una realización preferida, el compuesto o sal está en forma de una sal hidrocioruro, hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, típicamente la sal monohidrocioruro.

El hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, por ejemplo, el monohidrocioruro, puede ser una forma sólida, particularmente una forma cristalina, más particularmente la forma 1 cristalina o la forma 2 cristalina.

- 20 Por lo tanto, la invención también proporciona la forma 1 cristalina de hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, por ejemplo, el monohidrocioruro, (en lo sucesivo la "forma 1 cristalina").

- La forma 1 cristalina del hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, por ejemplo el monohidrocioruro, puede caracterizarse por un espectro de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene cinco o más, por ejemplo ocho o más, por ejemplo, todos los siguientes picos definidos como grados de
25 ángulos dos-theta obtenidos con un difractorómetro usando radiación X de cobre $K\alpha$ (cobre K-alfa):

$6,4 \pm 0,1$, $12,7 \pm 0,1$, $15,4 \pm 0,1$, $15,7 \pm 0,1$, $17,1 \pm 0,1$, $19,1 \pm 0,1$, $19,7 \pm 0,1$, $21,9 \pm 0,1$, $25,5 \pm 0,1$, $27,0 \pm 0,1$ y $28,2 \pm 0,1$ grados dos-theta;

siempre que el espectro de difracción de rayos X en polvo tenga los dos siguientes picos: $15,7 \pm 0,1$ y $25,5 \pm 0,1$ grados dos-theta.

- 30 Como alternativa o adicionalmente, la forma 1 cristalina de hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, por ejemplo, el monohidrocioruro, puede caracterizarse por un espectro de difracción de rayos X en polvo (XRPD) sustancialmente igual que el mostrado en la figura 1, expresado en términos de ángulos dos-theta (en grados) y obtenido con un difractorómetro usando radiación X de cobre $K\alpha$ (cobre K-alfa).

- En una realización, la forma 1 cristalina, caracterizada por los picos del espectro de XRPD definidos en la presente memoria y/o caracterizada por un espectro de XRPD sustancialmente igual al mostrado en la figura 1, puede
35 caracterizarse adicionalmente como habiéndose obtenido con un difractorómetro usando un tamaño de paso de $0,0167^\circ$ dos-theta o menor, y/o un tiempo por paso de 31,75 seg o mayor, y/o usando una muestra montada sobre una placa de oblea de silicio.

- Como alternativa o adicionalmente, la forma 1 cristalina de hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, por ejemplo, el monohidrocioruro, puede caracterizarse por un espectro de infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR) en forma sólida sustancialmente igual al mostrado en la figura 5. La figura 5 muestra el espectro de FT-IR de la forma 1 cristalina en la región espectral de 2000 a 675 cm^{-1} . El espectro de FT-IR puede medirse, por ejemplo, usando un espectrómetro de FT-IR Nicolet Avatar 360, y/o puede medirse, por ejemplo, a una resolución de 4 cm^{-1} o 2 cm^{-1} . Puede permitirse una variación para cada pico de aproximadamente $\pm 2 \text{ cm}^{-1}$.

- 45 Como alternativa o adicionalmente, la forma 1 cristalina de hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, por ejemplo, el monohidrocioruro, puede caracterizarse por un espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido de ^{13}C (RMN en estado sólido) que tiene los siguientes desplazamientos químicos para las resonancias: $18,5 \pm 0,3$, $30,4 \pm 0,3$, $318 \pm 0,3$, $37,6 \pm 0,3$, $45,8 \pm 0,3$, $49,4 \pm 0,3$, $52,3 \pm 0,3$, $59,2 \pm 0,3$,

ES 2 384 414 T3

63,6±0,3, 68,4±0,3, 110,3±0,3, 118,8±0,3, 128,4±0,3, 131,2±0,3, 133,9±0,3, 159,1±0,3 y 167,6±0,3 ppm. El espectro de RMN en estado sólido puede obtenerse, por ejemplo, a una frecuencia de 90,55 MHz para la observación de ¹³C, por ejemplo usando una sonda Bruker HFX MAS de 4-mm (rotación con ángulo mágico) a una temperatura de 296K, y/o usando, por ejemplo, una velocidad de rotación de 8 kHz. Los datos pueden adquirirse, por ejemplo, usando una secuencia de polarización cruzada con supresión de banda lateral. Durante la exploración puede usarse un retraso de relajación de 10 segundos.

En una realización, la sal hidrocioruro de la invención está sustancialmente (por ejemplo, 60% o más o 70% o más u 80% o más en peso o molaridad) en forma de la forma 1 cristalina en términos de la pureza de la forma de cristal.

La invención también proporciona la forma 2 cristalina de hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, por ejemplo, el monohidrocioruro, (en lo sucesivo la "forma 2 cristalina").

Sin limitarse por la teoría, la forma 2 cristalina parece ser termodinámicamente más estable que la forma 1 cristalina, lo cual puede proporcionar ciertas ventajas en relación con el almacenamiento, formulación y/o uso.

La forma 2 cristalina del hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, por ejemplo el monohidrocioruro, puede caracterizarse por un espectro de difracción de rayos X en polvo (XRPD) que tiene cinco o más, por ejemplo ocho o más, por ejemplo, todos los siguientes picos definidos como grados de ángulos dos-theta obtenidos con un difractorómetro usando radiación X de cobre K α (cobre K-alfa):

6,4±0,1, 12,8±0,1, 15,4±0,1, 19,2±0,1, 19,7±0,1, 20,0±0,1, 21,8±0,1, 21,9±0,1, 23,5±0,1, 24,65±0,1 (o 24,7±0,1), 25,8±0,1 y 27,0±0,1 grados dos-theta;

siempre que el espectro de difracción de rayos X en polvo tenga los dos siguientes picos:

20,0 ± 0,1 grados dos-theta, y

o bien 24,65 ± 0,1 o 24,7 ± 0,1 grados dos-theta.

Como alternativa o adicionalmente, la forma 2 cristalina de hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, por ejemplo, el monohidrocioruro, puede caracterizarse por un espectro de difracción de rayos X en polvo (XRPD) sustancialmente igual que el mostrado en la figura 2, expresado en términos de ángulos dos-theta (en grados) y obtenido con un difractorómetro usando radiación X de cobre K α (cobre K-alfa).

En una realización, la forma 2 cristalina, caracterizada por los picos del espectro de XRPD definidos en la presente memoria y/o caracterizada por un espectro de XRPD sustancialmente igual al mostrado en la figura 2, puede caracterizarse adicionalmente como habiéndose obtenido con un difractorómetro usando un tamaño de paso de 0,0167° dos-theta o menor, y/o un tiempo por paso de 31,75 seg o mayor, y/o usando una muestra montada sobre una placa de oblea de silicio.

Como alternativa o adicionalmente, la forma 2 cristalina de hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, por ejemplo, el monohidrocioruro, puede caracterizarse por un espectro de infrarrojos por transformada de Fourier (FT-IR) en forma sólida sustancialmente igual al mostrado en la figura 7. La figura 7 muestra el espectro de FT-IR de la forma 2 cristalina en la región espectral de 2000 a 675 cm⁻¹. El espectro de FT-IR puede medirse, por ejemplo, usando un espectrómetro de FT-IR Nicolet Avatar 360, y/o puede medirse, por ejemplo, a una resolución de 4 cm⁻¹ o 2 cm⁻¹. Puede permitirse una variación para cada pico de ±2 cm⁻¹ tal como ±1 cm⁻¹.

Como alternativa o adicionalmente, la forma 2 cristalina de hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, por ejemplo, el monohidrocioruro, puede caracterizarse por un espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido de ¹³C (RMN en estado sólido) que tiene los siguientes desplazamientos químicos para las resonancias: 18,8±0,3, 19,5±0,3, 32,4±0,3, 37,5±0,3, 45,7±0,3, 49,3±0,3, 52,7±0,3, 59,1±0,3, 66,3±0,3, 71,1±0,3, 109,4±0,3, 119,6±0,3, 128,4±0,3, 131,3±0,3, 134,3±0,3, 158,7±0,3 y 167,8±0,3 ppm. El espectro de RMN en estado sólido puede obtenerse, por ejemplo, a una frecuencia de 90,55 MHz para la observación de ¹³C, por ejemplo usando una sonda Bruker HFX MAS de 4-mm (rotación con ángulo mágico) a una temperatura de 296K, y/o usando, por ejemplo, una velocidad de rotación de 8 kHz. Los datos pueden adquirirse, por ejemplo, usando una secuencia de polarización cruzada con supresión de banda lateral. Durante la exploración puede usarse un retraso de relajación de 10 segundos.

La sal hidrocioruro de la invención convenientemente puede estar sustancialmente (por ejemplo, 70% o más u 80% o más o 90% o más o 95% o más en peso o molaridad) en forma de la forma 2 cristalina en términos de la pureza de

la forma de cristal.

Proceso sintético

5 La presente solicitud también proporciona un proceso para la preparación de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable) de la misma, comprendiendo el proceso:

- a) hacer reaccionar cloruro de 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoílo con 1-isopropilpiperazina; o
- b) hacer reaccionar ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico, o un derivado que no es cloruro de ácido del mismo en el que el grupo ácido carboxílico se ha activado, con 1-isopropilpiperazina;

10 y opcionalmente preparar una sal (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable) de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina.

El proceso (a) comprende típicamente el uso de condiciones de formación de amida en presencia de una base adecuada, tal como trietilamina o una base con soporte sólido (por ejemplo, dietilaminometilpoliestireno), en un disolvente apropiado, por ejemplo, un disolvente orgánico no acuoso, tal como diclorometano, a una temperatura apropiada, por ejemplo de aproximadamente -10°C a aproximadamente 40°C, tal como a la temperatura ambiente.
15 En una realización particular del proceso (a), se añade una cantidad catalítica de *N,N*-dimetilformamida (DMF) para catalizar la reacción.

En los procesos sintéticos, la temperatura ambiente (temperatura ambiente) es habitualmente 12-35°C, por ejemplo 18-30°C o 18-25°C, tal como aproximadamente 22°C.

20 El proceso (b) comprende típicamente la activación de ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico con un reactivo de acoplamiento, por ejemplo, en un disolvente adecuado, por ejemplo, un disolvente orgánico aprótico polar, tal como *N,N*-dimetilformamida, dimetilsulfóxido, acetonitrilo o propionitrilo, seguido de reacción con 1-isopropilpiperazina.

En una realización, el reactivo de acoplamiento es una carbodiimida disustituida orgánica, tal como hidrocioruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC) o dicitlohexilcarbodiimida (DCC), en cuyo caso: la reacción puede realizarse opcionalmente en presencia de 1-hidroxibenzotriazol (HOBT), y/o el disolvente de reacción puede ser, por ejemplo, *N,N*-dimetilformamida, y/o la temperatura de reacción puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 0°C a aproximadamente 40°C, tal como la temperatura ambiente.
25

En el proceso (b), en una realización, el reactivo de acoplamiento es carbonildiimidazol, cloruro de pivaloílo (cloruro de trimetilacetilo) o anhídrido del ácido 2-propanofosfónico. Sin embargo, para la activación del ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico con un reactivo de acoplamiento, es preferible, especialmente para procesos realizados a media o gran escala, que el reactivo de acoplamiento sea carbonildiimidazol (CDI). A media o gran escala, se cree que el uso de carbonildiimidazol como reactivo de acoplamiento da mejores rendimientos y/o una reacción más limpia, en comparación con el uso de cloruro de pivaloílo (cloruro de trimetilacetilo) o anhídrido del ácido 2-propanofosfónico como reactivo de acoplamiento.
30

En el proceso (b), más particularmente, tanto la activación del ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico con el reactivo de acoplamiento carbonildiimidazol, como la reacción posterior con 1-isopropilpiperazina, se realizan en un disolvente de reacción que comprende (o, en una realización particular, que consiste esencialmente en) acetonitrilo y/o propionitrilo, más preferiblemente acetonitrilo.
35

Cuando se usa carbonildiimidazol (CDI) como reactivo de acoplamiento para la activación del ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico, seguido de reacción con la 1-isopropilpiperazina, entonces las condiciones de reacción pueden ser, en particular, las siguientes, independientemente y/o en cualquier combinación:
40

- el carbonildiimidazol está presente típicamente en 0,5 a 1,5 equivalentes molares (con respecto al número de moles del ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico), adecuadamente de 0,9 a 1,1 equivalentes molares, preferiblemente de 1,0 a 1,1 equivalentes molares, por ejemplo 1,1 equivalentes molares; y/o
- 45 - la 1-isopropilpiperazina está presente típicamente en 0,5 a 1,5 equivalentes molares (con respecto al número de moles del ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico), adecuadamente de 1,0 a 1,25 equivalentes molares, preferiblemente de 1,1 a 1,2 equivalentes molares, por ejemplo 1,15 ó 1,2 equivalentes molares; y/o

- 5 - la reacción (la activación del ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico con CDI, o la reacción posterior con 1-isopropilpiperazina, o ambas) se realiza típicamente en un disolvente orgánico adecuado, tal como un disolvente orgánico aprótico polar, por ejemplo, un disolvente que comprende (por ejemplo, que consiste esencialmente en) acetonitrilo, propionitrilo, dimetilsulfóxido, *N,N*-dimetilformamida (DMF), *N*-metil pirrolidinona (NMP), y/o 1,4-dioxano; preferiblemente, el disolvente de reacción comprende (por ejemplo, consiste esencialmente en) acetonitrilo y/o propionitrilo, más preferiblemente acetonitrilo; y/o
- el disolvente de reacción está típicamente seco, aunque en algunas ocasiones puede tolerarse un pequeño porcentaje de agua en el disolvente de reacción; y/o
- 10 - cuando el disolvente de reacción es acetonitrilo o propionitrilo, la temperatura de la reacción (para la activación del ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico con el carbonildiimidazol o para la reacción posterior con la 1-isopropilpiperazina, o para ambas) puede ser, por ejemplo, de aproximadamente 0°C al punto de ebullición o la temperatura de reflujo del disolvente. La temperatura de la reacción de activación puede estar, por ejemplo, en el intervalo de aproximadamente 20 a aproximadamente 40°C (por ejemplo, aproximadamente 30°C), por ejemplo seguido de reacción con la 1-isopropilpiperazina a una temperatura de aproximadamente 20°C al punto de ebullición o la temperatura de reflujo del disolvente de reacción (por ejemplo, de aproximadamente 40 a aproximadamente 15 60°C, por ejemplo aproximadamente 50°C); esta baja temperatura de reacción de activación puede ayudar a maximizar el rendimiento debido a la descomposición reducida de CDI, pero se cree que cualquier exceso de CDI que quede después de la reacción de activación tendrá más probabilidad de reaccionar después con la 1-isopropilpiperazina añadida en último lugar para formar una impureza difícil de retirar que se cree que es 1-isopropilpiperazin-4-il-C(O)-imidazol o una sal de mismo. Por lo tanto, actualmente se cree que es preferible activar el ácido 20 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico con el carbonildiimidazol a una temperatura de aproximadamente 50°C al punto de ebullición/temperatura de reflujo del disolvente de reacción o de aproximadamente 60°C a la temperatura de ebullición/reflujo (por ejemplo, de aproximadamente 60 a aproximadamente 70°C, por ejemplo de 65 a 70°C, por ejemplo en disolvente acetonitrilo), y opcionalmente también tener este intervalo de temperaturas (de 25 aproximadamente 50°C al punto de ebullición/temperatura de reflujo, por ejemplo, de aproximadamente 60 a aproximadamente 70°C) como temperatura para la reacción posterior con la 1-isopropilpiperazina, por ejemplo, con el fin de reducir potencialmente esta impureza; y/o
- el ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico y el carbonildiimidazol se hacen reaccionar típicamente juntos (por ejemplo, con agitación) durante al menos 0,5 horas, adecuadamente durante al menos 2 horas, por ejemplo 30 durante 0,5 a 5 horas, tal como de 0,5 a 3 horas, por ejemplo durante 2 a 5 horas o 2 a 3 horas, antes de que la 1-isopropilpiperazina se mezcle con el ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico activado; y/o
- el producto de activación del ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico con el carbonildiimidazol, y la 1-isopropilpiperazina, se hacen reaccionar típicamente juntos (por ejemplo, con agitación) durante al menos 0,5 horas (por ejemplo, de 0,5 a 24 horas), adecuadamente durante al menos 1 hora (por ejemplo, de 1 a 3 horas), tal como 35 durante al menos 2 horas (por ejemplo, de 2 a 3 horas).

Proceso general para la preparación de una sal (por ejemplo, sal hidrocioruro) de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina:

- Para preparar, cristalizar y aislar una sal (por ejemplo, hidrocioruro) del compuesto de la invención, en una realización, al final de la reacción en la que el ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico se ha activado con un 40 reactivo de acoplamiento (por ejemplo, carbonildiimidazol) seguido de reacción del ácido activado con la 1-isopropilpiperazina, en un disolvente de reacción tal como acetonitrilo o propionitrilo, puede realizarse el siguiente proceso:
- 45 - el volumen del disolvente de reacción (por ejemplo, acetonitrilo o propionitrilo) se reduce a presión reducida, por ejemplo a aproximadamente 2-5 volúmenes, por ejemplo, aproximadamente a 3 volúmenes (por ejemplo, de acetonitrilo o propionitrilo), y
 - después, a la mezcla de reacción se le añade una solución del ácido formador de sal apropiado (por ejemplo, HCl) en un disolvente adecuado (por ejemplo, un disolvente de cristalización como se define a continuación, por ejemplo, isopropanol) (por ejemplo, para preparar la sal hidrocioruro: éste puede ser HCl en isopropanol, por ejemplo HCl de 5 a 6 N en isopropanol, por ejemplo aprox. 0,9 volúmenes del mismo); preferiblemente añadiendo el 50 ácido formador de sal apropiado, por ejemplo HCl en una cantidad de 0,5 a 1,3 equivalentes molares tal como de 0,85 a 1,05 equivalentes molares, por ejemplo 1,0 equivalentes molares con respecto a la cantidad molar del ácido

4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico usado), y

- preferiblemente, antes, después o al mismo tiempo que la adición del ácido formador de sal apropiado, se añade un disolvente de cristalización (donde el disolvente de cristalización puede comprender o ser, por ejemplo: un alcohol que es un alcohol C₁₋₃ o n-butanol (incluyendo mezclas de alcoholes), por ejemplo isopropanol, n-propanol, n-butanol, etanol o metanol; una mezcla de agua y un alcohol que es alcohol C₁₋₃ o n-butanol, por ejemplo isopropanol:agua, etanol:agua o metanol:agua; acetato de isopropilo; acetato de etilo; una cetona C₃₋₆ tal como metil isobutil cetona (MIBK), metil etil cetona o acetona; acetonitrilo; o diclorometano; y donde adecuadamente el disolvente de cristalización comprende o es un alcohol que es un alcohol C₁₋₃ o n-butanol (incluyendo mezclas de alcoholes), o una mezcla de agua y un alcohol que es alcohol C₁₋₃ o n-butanol; tal como, preferiblemente: isopropanol, isopropanol:agua, tal como aprox. 2-10%, por ejemplo aprox. 2-5%, por ejemplo aprox. 5% de agua en isopropanol, o etanol:agua tal como aprox. 1-5% de agua en etanol o alcoholes metilados industriales) (pueden añadirse, por ejemplo, de 6 a 20 volúmenes, por ejemplo aprox. 12 volúmenes del disolvente de cristalización), y
- la mezcla que contiene el disolvente que comprende el producto de sal (por ejemplo, sal HCl) está a, o se calienta a, una temperatura de aproximadamente 50°C al punto de ebullición o la temperatura de reflujo del disolvente (por ejemplo, aproximadamente 50-75°C, por ejemplo aproximadamente 60-70°C, por ejemplo aproximadamente 60-65°C), y
- la sal (por ejemplo, sal hidrocioruro) de la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina se deja cristalizar o se provoca su cristalización o recristalización en la mezcla caliente (por ejemplo, por refrigeración de la mezcla caliente), y
- la sal cristalina (por ejemplo, sal hidrocioruro) de la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina se aísla del disolvente (por ejemplo, por filtración), y normalmente se seca (por ejemplo, por secado a presión reducida a aproximadamente 40-60°C, por ejemplo a aproximadamente 50°C, o por ejemplo por secado a temperatura ambiente, por ejemplo con succión o en una atmósfera de gas, tal como aire o nitrógeno).

Para la sal hidrocioruro (por ejemplo, monohidrocioruro) de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, sin limitarse por ninguna teoría, parece, a partir de los experimentos de los tipos mencionados anteriormente de formaciones y cristalizaciones de sales HCl, que la forma 1 cristalina habitualmente tiende a ser un producto cinético del proceso de formación de sal, y que la forma 2 cristalina es el producto termodinámico (es decir, el producto termodinámicamente más estable). La Forma 1 cristalina (o una predominancia de la forma 1 cristalina) normalmente se forma inicialmente dependiendo de las condiciones, pero, dependiendo de las condiciones (tales como el tipo de disolvente y la solubilidad de la forma 1 cristalina en él, y/o de la temperatura y/o evolución en el tiempo de la temperatura, y/o del tiempo de contacto de la forma 1 cristalina con el disolvente), la forma 1 cristalina puede convertirse después habitualmente en la forma 2 cristalina en un grado mayor o menor cuando está en contacto con un disolvente adecuado, es decir, un disolvente adecuado para convertir la forma 1 cristalina en la forma 2 cristalina.

Por lo tanto, la solicitud, en un aspecto, proporciona un proceso para preparar la forma 2 cristalina de hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (por ejemplo, monohidrocioruro), que comprende: convertir la forma 1 cristalina en la forma 2 cristalina poniendo en contacto la forma 1 cristalina con un disolvente de conversión adecuado, por ejemplo suspendiendo la forma 1 cristalina en el disolvente de conversión adecuado, durante un tiempo suficiente y/o a una temperatura lo suficientemente alta para realizar la conversión de la forma 1 cristalina en la forma 2 cristalina. El disolvente de conversión adecuado comprende típicamente (por ejemplo, consiste esencialmente en) un alcohol C₁₋₃ o n-butanol o una mezcla de agua y un alcohol que es un alcohol C₁₋₃ o n-butanol. El tiempo y/o temperatura requeridos para realizar la conversión pueden depender, por ejemplo, del disolvente y de la solubilidad de la Forma 1 en él. En el proceso de conversión, el producto cristalino del proceso es adecuadamente sustancialmente (por ejemplo, 70% o más u 80% o más o 90% o más o 95% o más en peso o molaridad) en forma de la forma 2 cristalina en términos de pureza de la forma de cristal.

Con el fin de preparar la forma 1 cristalina de hidrocioruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina,

- el proceso de formación de la sal HCl mencionado anteriormente usa adecuadamente un disolvente de cristalización tal como un disolvente que comprende un alcohol C₁₋₃ o n-butanol o una mezcla de agua y un alcohol que es un alcohol C₁₋₃ o n-butanol, en particular isopropanol, n-propanol, n-butanol, etanol o una mezcla de los mismos, y

5 - después de la formación, el hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (por ejemplo, monohidrocloreto) se deja cristalizar o se provoca su cristalización en la mezcla caliente por refrigeración de la mezcla caliente, por ejemplo de aproximadamente 0 a aproximadamente 25°C, durante un periodo de 2-4 horas o menos (por ejemplo, durante 1,5-3 horas o menos, por ejemplo durante

aprox. 1,5 horas) medido a partir del comienzo de la cristalización, y

- la sal hidrocloreto cristalina de la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina que comprende la forma 1 cristalina se aísla del disolvente después de no más de 6 horas (preferiblemente no más de 4 horas, por ejemplo no más de 2-3 horas, por ejemplo aprox. 1,5 horas), de tiempo de contacto con el disolvente medido a partir del comienzo de la cristalización.

10 Con el fin de preparar la forma 2 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, por ejemplo por conversión de la Forma 1 en la Forma 2,

- (i) el proceso de formación de la sal HCl mencionado anteriormente usa un disolvente de cristalización (por ejemplo, un alcohol que es un alcohol C₁₋₃ o n-butanol (incluyendo mezcla de alcoholes), o una mezcla de agua y un alcohol que es un alcohol C₁₋₃ o n-butanol; en particular isopropanol, n-propanol, n-butanol, etanol, metanol,

15 isopropanol:agua, etanol:agua o metanol:agua; preferiblemente isopropanol o isopropanol:agua, tal como aprox. 2-10%, por ejemplo aprox. 2-5%, por ejemplo aprox. 5% de agua en isopropanol, o etanol:agua, tal como aprox. 1-5% de agua en etanol o alcoholes metilados industriales);

y

- (ii)(a) en caso de que el disolvente de cristalización sea metanol, isopropanol:agua, n-propanol:agua, n-butanol:agua, etanol:agua o metanol:agua, entonces después de la formación el hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (por ejemplo, monohidrocloreto) se deja cristalizar o se provoca su cristalización o recristalización en la mezcla caliente (por ejemplo, a aproximadamente 50-75°C, por ejemplo a aprox. 60-70°C, por ejemplo a aprox. 60-65°C), por refrigeración de la mezcla caliente, por ejemplo de aproximadamente 0 a aproximadamente 30°C, durante un periodo de 4 horas o más (por ejemplo, 5-6 horas o más)

20 medido a partir del comienzo de la cristalización (preferiblemente usando refrigeración gradual); y opcionalmente, antes de la refrigeración, dejando envejecer la mezcla de la sal y el disolvente (por ejemplo, suspensión) a una temperatura de aproximadamente 50°C al punto de ebullición o temperatura de reflujo del disolvente (por ejemplo, a aproximadamente 50-75°C, por ejemplo a aprox. 60-70°C, por ejemplo a aprox. 60-65°C) durante 0,5 horas o más (por ejemplo, durante 1 hora o más, por ejemplo durante 1-3 horas, o durante 2 horas o más, por ejemplo durante

25 aprox. 2 horas) medido a partir del comienzo de la cristalización;

o

- (ii)(b) en caso de que el disolvente de cristalización sea etanol, isopropanol, n-propanol o n-butanol, entonces después de la formación el hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (por ejemplo, monohidrocloreto) se deja cristalizar o se provoca su cristalización o recristalización a partir de la mezcla caliente, y la mezcla de la sal y el disolvente (por ejemplo, un suspensión) se envejece a una temperatura de aproximadamente 50°C al punto de ebullición o temperatura de reflujo del disolvente (por ejemplo, a aproximadamente 50-75°C, por ejemplo a aprox. 60-75°C, por ejemplo a aprox. 60-70°C) durante 6 horas o más (por ejemplo, durante 10 horas o más, por ejemplo durante 15 horas o más, por ejemplo durante aproximadamente 18-24 horas) medido a partir del comienzo de la cristalización; y después la mezcla caliente se enfría, por ejemplo de

35 aproximadamente 0 a aproximadamente 30°C, por ejemplo usando refrigeración gradual;

y

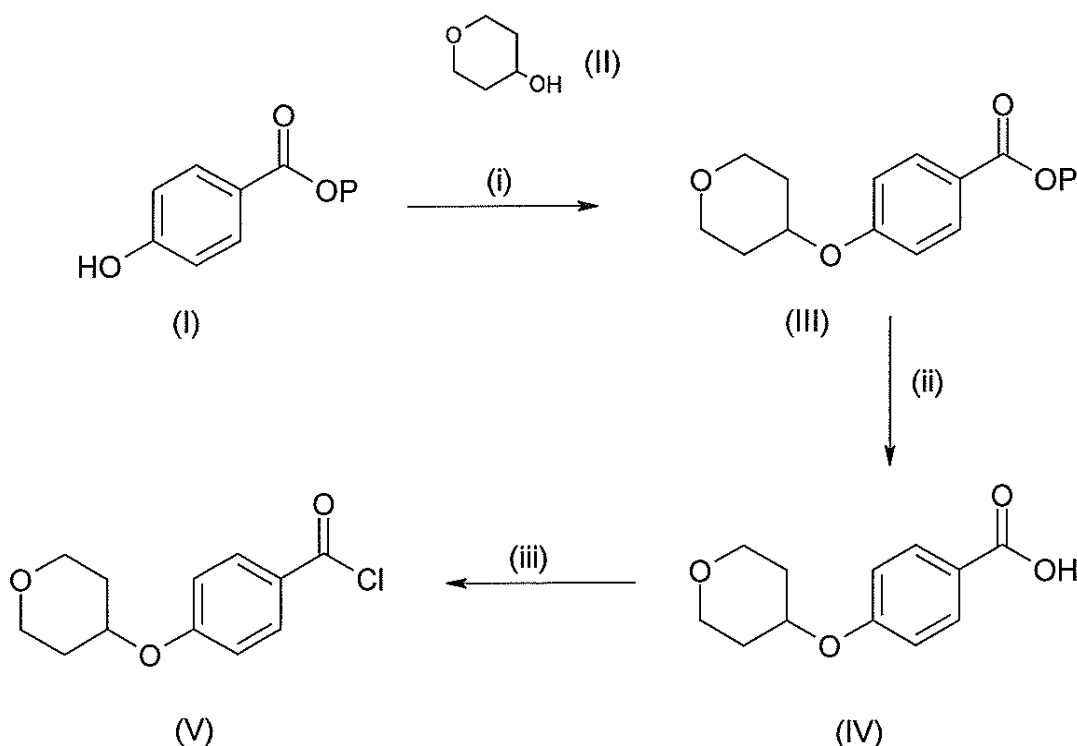
- (iii) la sal hidrocloreto cristalina de la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, sustancialmente (por ejemplo, 80% o más o 90% o más o 95% o más en peso o molaridad) en forma de la forma 2 cristalina, se aísla del disolvente (por ejemplo, por filtración), y normalmente se seca (por ejemplo, por secado a presión reducida a aproximadamente 40-60°C, por ejemplo aproximadamente a 50°C, o por ejemplo por secado a temperatura ambiente, por ejemplo con succión o en una corriente de gas, tal como aire o nitrógeno).

45

Procesos sintéticos, continuación

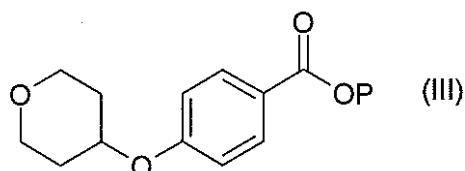
Puede prepararse cloruro de 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoílo (V) o ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico (IV) de acuerdo con el siguiente esquema en el que P representa un grupo protector adecuado, tal como alquilo C₁₋₆

de cadena lineal (por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo o n-butilo) o isopropilo o isobutilo, o bencilo; tal como metilo o etilo; en particular metilo.



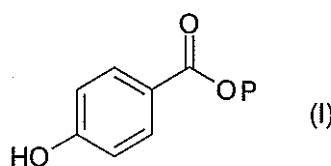
- La **etapa (i)** comprende típicamente el uso de una fosfina tal como trifetilfosfina en un disolvente adecuado, tal como tetrahidrofurano, tolueno y/o xileno (donde "xileno" puede ser *o*-xileno, *m*-xileno, *p*-xileno, o una mezcla de xilenos), seguido de la adición (por ejemplo, adición lenta y/o gota a gota) de un azodicarboxilato, tal como azodicarboxilato de dietilo o azodicarboxilato de diisopropilo, a una temperatura adecuada, por ejemplo, de la temperatura ambiente a aproximadamente 80°C, por ejemplo a temperatura ambiente. Los tiempos de reacción (incluyendo cualquier tiempo de adición de azodicarboxilato) puede ser, por ejemplo, de 0,5 a 72 horas. Cuando se usa tetrahidrofurano como disolvente de reacción, puede usarse temperatura ambiente, y el tiempo de reacción es, por ejemplo, de 3 a 72 horas. Cuando el disolvente de reacción comprende o consiste esencialmente en tolueno y/o xileno, en particular tolueno, puede usarse una temperatura de reacción de aproximadamente 40 a aproximadamente 80°C, por ejemplo de aproximadamente 40 a aproximadamente 70°C, por ejemplo aproximadamente 55°C; y/o puede usarse un tiempo de reacción (incluyendo cualquier tiempo de adición de azodicarboxilato) de aproximadamente 0,5 a 6 horas, por ejemplo de 0,5 a 3 horas, por ejemplo 1-2 horas. En una realización particular, el disolvente de reacción comprende o consiste esencialmente en tolueno y/o xileno, preferiblemente tolueno, y la etapa de reacción (i) usa trifetilfosfina y azodicarboxilato de diisopropilo; en cuyo caso adecuadamente la mezcla de reacción calentada (por ejemplo, a aprox. 40-70°C) puede enfriarse (por ejemplo, de -10 a 25°C, por ejemplo a aprox. 0-5°C, con la condición de que no se enfríe hasta el punto de fusión del disolvente o a una temperatura inferior), por ejemplo durante 0,5 a 2 horas, y después el subproducto sólido formado se retira, por ejemplo, por filtración. El uso de tolueno como disolvente de reacción ayuda a cristalizar el aducto de subproducto de óxido de trifetilfosfina e hidrazinadicarboxilato de diisopropilo a partir de la solución (especialmente cuando la mezcla de reacción se siembra con este aducto, por ejemplo, después de la refrigeración), lo cual ayuda a reducir los niveles de óxido de trifetilfosfina en el producto en bruto (III).
- Cuando se usa tolueno y/o xileno como disolvente en la etapa de reacción (i), en una realización, el compuesto producto de reacción de fórmula (III) no se aísla. Opcionalmente, en esta realización, la solución de tolueno y/o xileno del compuesto de fórmula (III) se usa directamente en la etapa (ii) de la reacción posterior (desprotección, por ejemplo hidrólisis), en particular cuando el alquilo C₁₋₆ de cadena lineal (por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo o n-butilo) o isopropilo o isobutilo y la etapa posterior (ii) comprende hidrólisis alcalina (por ejemplo, NaOH o KOH) del éster.

De acuerdo con un aspecto adicional de la solicitud, se proporciona un proceso para preparar un compuesto de fórmula (III)



5 en la que P representa un grupo protector, tal como alquilo C₁₋₆ de cadena lineal (por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo o n-butilo) o isopropilo o isobutilo, o bencilo (en particular, alquilo C₁₋₆ de cadena lineal o isopropilo, por ejemplo metilo o etilo), donde el proceso comprende:

(i) hacer reaccionar el compuesto de fórmula (I)



10 en la que P representa el grupo protector que se ha definido para el compuesto de fórmula (III), con 4-hidroxitetrahidropirano de fórmula (II) o un derivado del mismo en el que su grupo OH está activado;

donde la etapa de reacción (i) se realiza en un disolvente de reacción que comprende o consiste esencialmente en tolueno y/o xileno (en particular, tolueno).

El término "xileno" puede ser *o*-xileno, *m*-xileno, *p*-xileno o una mezcla de xilenos.

15 En este aspecto del proceso de la solicitud que usa un disolvente de reacción de la etapa (i) que comprende tolueno y/o xileno, las condiciones de reacción para la etapa (i) pueden ser, en particular, como se han descrito en este documento para la etapa (i) para los procesos sintéticos generales. En particular, la etapa de reacción (i) puede usar

20 trifenilfosfina y azodicarboxilato de diisopropilo. Para un disolvente de reacción de la etapa (i) que comprende tolueno y/o xileno, en particular tolueno, puede usarse una temperatura de reacción de aproximadamente 40 a aproximadamente 80°C, por ejemplo de aproximadamente 40 a aproximadamente 70°C, por ejemplo

25 aproximadamente 55°C; y/o puede usarse un tiempo de reacción (incluyendo cualquier tiempo de reacción de azodicarboxilato) de aproximadamente 0,5 a 6 horas, por ejemplo de 0,5 a 3 horas, por ejemplo 1-2 horas. En una realización particular, cuando el disolvente de reacción de la etapa (i) comprende tolueno y/o xileno, preferiblemente tolueno, y la etapa de reacción (i) usa trifenilfosfina y azodicarboxilato de diisopropilo, la mezcla de reacción

30 calentada (por ejemplo, a aprox. 40-70°C) puede enfriarse (por ejemplo, de -10 a 25°C, por ejemplo a aprox. 0-5°C, con la condición de que no se enfríe hasta el punto de fusión del disolvente o a una temperatura inferior), por ejemplo durante 0,5 a 2 horas, y después el subproducto sólido (el aducto óxido de trifenilfosfina e hidrazinadicarboxilato de diisopropilo) formado se retira, por ejemplo por filtración. En particular, la mezcla de reacción puede sembrarse con el aducto del aducto de óxido de trifenilfosfina e hidrazinadicarboxilato de diisopropilo, por ejemplo después de enfriar la mezcla de reacción. El uso de tolueno como disolvente de reacción

35 ayuda a cristalizar el aducto de subproducto de óxido de trifenilfosfina e hidrazinadicarboxilato de diisopropilo a partir de la solución (especialmente cuando la mezcla de reacción se siembra con este aducto, por ejemplo, después de la refrigeración), que ayuda a reducir los niveles de óxido de trifenilfosfina en el producto en bruto (III).

Para el aspecto de la solicitud que es un proceso para preparar un compuesto de fórmula (III), que usa un disolvente de reacción para la etapa (i) que comprende tolueno y/o xileno; se proporciona un proceso para preparar un

35 compuesto de fórmula (IV), que es ácido 4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)benzoico, que comprende:

- realizar la etapa (i) usando un disolvente de reacción que comprende o consiste esencialmente en tolueno y/o xileno, y después,
 - (ii) convertir el compuesto de fórmula (III) en el compuesto de fórmula (IV); por ejemplo hidrolizando el éster dentro del compuesto de fórmula (III) cuando P representa alquilo C₁₋₆ de cadena lineal (por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo o n-butilo) o isopropilo o isobutilo (en particular, metilo o etilo), por ejemplo en condiciones alcalinas (por
- 40

ejemplo, usando hidróxido sódico o hidróxido potásico, por ejemplo acuoso), o por ejemplo por hidrogenación cuando P representa bencilo.

En este aspecto del proceso de la solicitud, también se proporciona un proceso para la preparación de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal de la misma, comprendiendo el proceso:

- 5 - realizar la etapa (i) usando un disolvente de reacción que comprende o consiste esencialmente en tolueno y/o xileno; después
- (ii) convertir el compuesto de fórmula (III) en el compuesto de fórmula (IV), que es ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico, por ejemplo como se describe en este documento; y después
- 10 - a) convertir el ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico en cloruro de 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoilo y después hacer reaccionar éste con 1-isopropilpiperazina;
- o b) hacer reaccionar el ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico con 1-isopropilpiperazina, o convertir el ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico en un derivado que no es cloruro de ácido del mismo en el que el grupo ácido carboxílico se ha activado, y después hacer reaccionar éste con 1-isopropilpiperazina;
- 15 - y opcionalmente preparar una sal (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable) de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina.

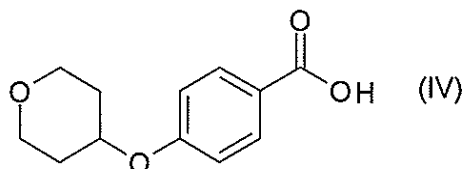
Las etapas a) y/o b) pueden ser, por ejemplo, como se describen en este documento.

La **etapa (ii)** es una reacción de desprotección. Cuando P representa alquilo C₁₋₆ de cadena lineal (por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo o n-butilo) o isopropilo o isobutilo (en particular, metilo o etilo), la reacción típicamente comprende tratamiento con un álcali adecuado (por ejemplo, acuoso), tal como hidróxido sódico o hidróxido potásico (por ejemplo, solución acuosa de hidróxido sódico o hidróxido potásico), en un disolvente adecuado, tal como metanol (por ejemplo, cuando P = Me) o etanol (por ejemplo, cuando P = Et), o tolueno y/o xileno; por ejemplo, a una temperatura adecuada, tal como 70-100°C (por ejemplo, 95°C u 80°C) y/o a la temperatura de reflujo, por ejemplo, durante 1 a 24 horas, tal como 2-6 horas o 2-3 horas; típicamente hasta que la hidrólisis se completa sustancialmente. En una realización particular, cuando el disolvente de reacción de la etapa (ii) es tolueno y/o xileno, y la reacción comprende tratamiento con un álcali acuoso adecuado, tal como solución acuosa de hidróxido sódico o hidróxido potásico, la reacción comprende la agitación o mezclado eficaz (por ejemplo, vigoroso).

En una realización particular, una solución de tolueno y/o xileno que contiene el compuesto de fórmula (III), producido en la etapa (i), se usa directamente en la etapa de hidrólisis posterior (ii), es decir, sin aislamiento del compuesto de fórmula (III), en particular cuando la etapa posterior (ii) comprende hidrólisis alcalina (por ejemplo, NaOH o KOH) del éster. Las condiciones de reacción para las etapas (i) y/o (ii) pueden ser, en particular, como se describen en este documento, por ejemplo, la etapa de reacción (i) puede usar trifenilfosfina y azodicarboxilato de diisopropilo.

Cuando P representa bencilo, la reacción de desprotección (ii) puede comprender hidrogenación.

De acuerdo con otro aspecto de la solicitud, se proporciona un proceso para preparar un compuesto de fórmula (IV)



35 que es ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico, comprendiendo el proceso:

- (i) hacer reaccionar el compuesto de fórmula (I), en la que P representa alquilo C₁₋₆ de cadena lineal (por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo o n-butilo) o isopropilo o isobutilo (en particular, metilo o etilo), con 4-hidroxitetrahidropirano de fórmula (II) o un derivado del mismo en el que su grupo OH está activado, para preparar un compuesto de fórmula (III), en la que P tiene la misma definición que en el compuesto de fórmula (I), e
- 40 (ii) hidrolizar el éster dentro del compuesto de fórmula (III), por ejemplo en condiciones alcalinas (por ejemplo,

usando hidróxido sódico o hidróxido potásico, por ejemplo acuoso), para formar el compuesto de fórmula (IV),

donde las etapas de reacción (i) y (ii) se realizan en un disolvente de reacción que comprende o consiste esencialmente en tolueno y/o xileno (en particular, tolueno). El término "xileno" puede ser *o*-xileno, *m*-xileno, *p*-xileno o una mezcla de xilenos.

5 En una realización particular de este aspecto del proceso de la solicitud, la solución de tolueno y/o xileno del compuesto de fórmula (III), producido en la etapa (i), se usa directamente en la etapa de hidrólisis posterior (ii), es decir, sin aislamiento del compuesto de fórmula (III), en particular cuando la etapa posterior (ii) comprende hidrólisis alcalina (por ejemplo, NaOH o KOH) del éster. Las condiciones de reacción para las etapas (i) y/o (ii) pueden ser, en particular, como se describen en este documento, por ejemplo, la etapa de reacción (i) puede usar trifenilfosfina y
10 azodicarboxilato de diisopropilo. En una realización particular de este aspecto del proceso de la invención, también se proporciona un proceso para la preparación de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal de la misma, comprendiendo el proceso:

- realizar las etapas (i) y (ii), donde las etapas de reacción (i) y (ii) se realizan en un disolvente de reacción que comprende o consiste esencialmente en tolueno y/o xileno, por ejemplo como se ha descrito anteriormente en este
15 documento; y después

- a) convertir el ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico en cloruro de 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoilo y después hacer reaccionar éste con 1-isopropilpiperazina;

- o b) hacer reaccionar el ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico con 1-isopropilpiperazina, o convertir el ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico en un derivado que no es cloruro de ácido del mismo en el que el grupo
20 ácido carboxílico se ha activado, y después hacer reaccionar éste con 1-isopropilpiperazina;

- y opcionalmente preparar una sal (por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable) de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina. Las etapas a) y/o b) pueden ser, por ejemplo, como se describen en este documento.

La **etapa (iii)** comprende típicamente tratamiento con un agente de cloración adecuado, tal como cloruro de oxalilo o
25 cloruro de tionilo, por ejemplo en un disolvente adecuado (por ejemplo, un disolvente orgánico no acuoso) tal como diclorometano o acetato de etilo (adecuadamente diclorometano) o (para cloruro de tionilo) sin disolvente, a una temperatura adecuada, tal como la temperatura ambiente.

Los compuestos de fórmula (I) están disponibles en el mercado (por ejemplo, 4-hidroxibenzoato de metilo está disponible en Aldrich) o pueden prepararse a partir de compuestos disponibles en el mercado usando metodología
30 convencional, 1-isopropilpiperazina y 4-hidroxitetrahidropirano están disponibles en el mercado, por ejemplo, en Aldrich.

Usos

La 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma tiene afinidad por el receptor H3 de histamina y es un antagonista y/o agonista inverso de dicho receptor y,
35 por ejemplo, tiene propiedades terapéuticas potencialmente útiles.

Más particularmente, la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma tiene utilidad potencial en el tratamiento o profilaxis (en particular, en el tratamiento) de:

- enfermedades neurológicas (por ejemplo, en un mamífero tal como un ser humano); tales como: deterioro(s)
40 cognitivo(s), déficit cognitivo, enfermedad de Alzheimer, demencia (tal como demencia con cuerpos de Lewy o demencia vascular), disfunción de memoria relacionada con la edad, epilepsia, migraña, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple (incluyendo fatiga), fatiga (en particular, fatiga en esclerosis múltiple, fatiga en depresión, fatiga en cáncer o en quimioterapia para cánceres, o síndrome de fatiga crónica) tal como fatiga cognitiva y/o psicológica, ictus, dolor de origen neuropático (tal como neuralgias, por ejemplo, neuralgia post-herpética, neuritis, dolor
45 neuropático de espalda, alodinia, etc.), dolor inflamatorio (en particular, dolor inflamatorio crónico tal como dolor en osteoartritis o dolor en artritis reumatoide o dolor inflamatorio de espalda; o dolor inflamatorio agudo), o trastornos del sueño (tales como hipersomnolencia, somnolencia excesiva durante el día, narcolepsia, o déficits de sueño asociados con la enfermedad de Parkinson, síndrome de piernas inquietas y/o fatiga, especialmente en esclerosis

múltiple); donde el (los) deterioro(s) cognitivo(s) puede(n) ser deterioro(s) cognitivo(s) en: enfermedad de Alzheimer, demencia (por ejemplo, demencia con cuerpos de Lewy o demencia vascular), deterioro cognitivo leve o un trastorno neurodegenerativo relacionado; o deterioro(s) cognitivo(s) en la enfermedad de Parkinson, o deterioro(s) cognitivo(s) en esquizofrenia; o

- 5 - trastornos psiquiátricos (por ejemplo, en un mamífero tal como un ser humano); tales como: trastornos psicóticos (tales como esquizofrenia o trastorno bipolar), trastorno de hiperactividad y déficit de atención (ADHD), depresión (incluyendo trastorno depresivo mayor), ansiedad o adicción; o
- otras enfermedades (por ejemplo, en un mamífero tal como un ser humano); tales como obesidad o un trastorno gastrointestinal.

- 10 De esta manera, la invención también proporciona 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para uso como una sustancia terapéutica en el tratamiento o profilaxis (en particular, en el tratamiento) de cualquiera de los trastornos anteriores; en particular de deterioro(s) cognitivo(s), por ejemplo, deterioro(s) cognitivo(s) en una enfermedad tal como la enfermedad de Alzheimer, demencia (por ejemplo, demencia con cuerpos de Lewy o demencia vascular), deterioro
- 15 cognitivo leve o un trastorno neurodegenerativo relacionado, o deterioro(s) cognitivo(s) en la enfermedad de Parkinson, o deterioro(s) cognitivo(s) en esquizofrenia; o fatiga; o un trastorno del sueño.

La invención también proporciona 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para uso como una sustancia terapéutica en el tratamiento o profilaxis (en particular, en el tratamiento) de cualquiera de los trastornos anteriores, en particular deterioro(s) cognitivo(s), fatiga o un trastorno del sueño, en un mamífero (por ejemplo, un roedor tal como una rata, o un cerdo o un ser humano) tal como un ser humano.

20

La invención también proporciona un método de tratamiento o profilaxis (en particular, de tratamiento) de cualquiera de los trastornos anteriores, por ejemplo una enfermedad neurológica, en un mamífero tal como un ser humano, que comprende administrar al paciente (el mamífero que lo necesita) una cantidad terapéuticamente eficaz de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

25

La invención también proporciona un método de tratamiento o profilaxis (en particular, de tratamiento) de:

- deterioro(s) cognitivo(s); por ejemplo, deterioro(s) cognitivo(s) en una enfermedad tal como la enfermedad de Alzheimer, demencia (por ejemplo, demencia con cuerpos de Lewy o demencia vascular), deterioro cognitivo leve o un trastorno neurodegenerativo relacionado, o deterioro(s) cognitivo(s) en la enfermedad de Parkinson, o deterioro(s) cognitivo(s) en esquizofrenia;
- 30

- o fatiga (en particular, fatiga en esclerosis múltiple, fatiga en depresión, fatiga en cáncer o en quimioterapia de cánceres, o síndrome de fatiga crónica);

- o un trastorno del sueño (tal como hipersomnolencia, somnolencia excesiva durante el día, narcolepsia, o déficits de sueño asociados con la enfermedad de Parkinson, el síndrome de las piernas inquietas y/o fatiga);
- 35

en un mamífero (por ejemplo, un roedor tal como una rata, cerdo o ser humano), tal como un ser humano, que lo necesita, que comprende administrar al mamífero una cantidad terapéuticamente eficaz de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento o profilaxis (en particular, en el tratamiento) de cualquiera de los trastornos anteriores, en particular una enfermedad neurológica y/o en particular deterioro(s) cognitivo(s), fatiga o un trastorno del sueño.

40

En particular, la invención proporciona el uso de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento o profilaxis (en particular, en el tratamiento) de cualquiera de los trastornos anteriores, en particular una enfermedad neurológica y/o en particular deterioro(s) cognitivo(s), fatiga o un trastorno del sueño, en un mamífero (por ejemplo, un roedor tal como una rata, un cerdo o un ser humano) tal como un ser

45

humano.

Más particularmente, la invención proporciona el uso de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma en la fabricación de un medicamento:

- 5 - para uso en el tratamiento o profilaxis (en particular, en el tratamiento) de deterioro(s) cognitivo(s); por ejemplo, deterioro(s) cognitivo(s) en una enfermedad tal como la enfermedad de Alzheimer, demencia (por ejemplo, demencia con cuerpos de Lewy o demencia vascular), deterioro cognitivo leve o un trastorno neurodegenerativo relacionado, o deterioro(s) cognitivo(s) en la enfermedad de Parkinson, o deterioro(s) cognitivo(s) en esquizofrenia;
- 10 - o para uso en el tratamiento o profilaxis (en particular, en el tratamiento) de la fatiga (en particular, fatiga en esclerosis múltiple, fatiga en depresión, fatiga en cáncer o en quimioterapia para cánceres, o síndrome de fatiga crónica);
- o para uso en el tratamiento o profilaxis (en particular, en el tratamiento) de un trastorno del sueño (tal como hipersomnolencia, exceso de somnolencia durante el día, narcolepsia o déficits de sueño asociados con la enfermedad de Parkinson, el síndrome de piernas inquietas y/o fatiga);
- 15 por ejemplo, en un mamífero (por ejemplo, un roedor tal como una rata, un cerdo o un ser humano) tal como un ser humano.

Composiciones farmacéuticas, dosis y regímenes de dosificación

20 Cuando se usa en terapia, el compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se formula normalmente en una composición farmacéutica. Dichas composiciones pueden prepararse usando diversos procedimientos.

25 Por lo tanto, la presente invención proporciona además una composición farmacéutica para uso en el tratamiento o profilaxis (por ejemplo, tratamiento) de cualquiera de los trastornos anteriores, por ejemplo, una enfermedad neurológica y/o alteración o alteraciones cognitivas, fatiga o un trastorno del sueño, que comprende 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 Una composición farmacéutica de la invención, que puede prepararse por mezcla, por ejemplo a temperatura ambiente y/o a presión atmosférica, normalmente se adapta para administración oral, parenteral o rectal y, como tal, puede estar en forma de un comprimido, una cápsula, una preparación líquida oral, un polvo, gránulos, una gragea, un polvo reconstituible, una solución o suspensión inyectable o infundible, o un supositorio.

Se prefiere generalmente una composición farmacéutica administrable por vía oral, tal como un comprimido o cápsula.

35 Un comprimido o cápsula para administración oral puede estar en una forma de dosificación unitaria, y puede contener uno o más excipientes, tales como un agente aglutinante (por ejemplo, povidona, hidroxipropilmetilcelulosa o almidón), una carga (por ejemplo, manitol o lactosa), celulosa microcristalina, un lubricante, por ejemplo, lubricante para comprimidos (por ejemplo, estearato de magnesio, estearato cálcico o ácido esteárico), un disgregante, por ejemplo un disgregante de comprimidos, y/o un agente humectante farmacéuticamente aceptable. Un comprimido

40 puede recubrirse, por ejemplo, con un recubrimiento de película, por ejemplo de acuerdo con un método de recubrimiento de comprimidos. Una cápsula puede ser una cápsula dura o blanda, que contiene el compuesto o sal de la invención y uno o más excipientes, por ejemplo, en forma de polvo o granulado.

45 Una preparación líquida oral puede estar en forma de, por ejemplo, una suspensión acuosa u oleosa, una solución, una emulsión, un jarabe o elixir, o puede estar en forma de un producto seco para reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso. Dichas preparaciones líquidas pueden contener aditivos tales como agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles) y/o conservantes, y/o, si se desea, aromatizantes y/o colorantes.

Para administración parenteral, típicamente se preparan formas de dosificación unitaria fluidas utilizando el compuesto de la invención o una de sus sales farmacéuticamente aceptables y un vehículo estéril. El compuesto o sal, por ejemplo, dependiendo del vehículo y/o concentración usada, puede suspenderse o disolverse en el vehículo. En la preparación de disoluciones, el compuesto o sal puede disolverse para inyección y esterilizarse por filtración antes de cargarlo en un vial o ampolla adecuado y sellarlo. Pueden disolverse en el vehículo adyuvantes, tales como un anestésico local, conservantes y/o agentes tamponantes. Para mejorar la estabilidad, la composición puede congelarse después de cargarse en el vial y el agua puede retirarse al vacío. Típicamente, las suspensiones parenterales se preparan sustancialmente de la misma manera, con la excepción de que el compuesto o sal se suspende en el vehículo en lugar de disolverse, y típicamente la esterilización no se realiza por filtración. En una realización, el compuesto o sal se esteriliza, por ejemplo, por exposición a óxido de etileno, antes de la suspensión en el vehículo estéril. En una realización, se incluye un tensioactivo o agente humectante en la composición para facilitar la distribución uniforme del compuesto o sal.

La composición farmacéutica puede contener de 0,1% a 99% en peso de la composición del material activo (es decir, la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma), en particular de 1 a 60% en peso o de 10 a 60% en peso de la composición del material activo. Por ejemplo, esto puede variar dependiendo de la vía de administración y/o del uso o usos deseados de la composición.

La cantidad total del vehículo farmacéuticamente aceptable en la composición farmacéutica puede variar, por ejemplo, dependiendo de la composición farmacéutica y/o de su uso deseado y/o de la vía de administración. En una realización, la cantidad total del vehículo farmacéuticamente aceptable en la composición farmacéutica (por ejemplo, o es decir, la cantidad total de uno o más excipientes presentes en ella, tal como uno o más de los tipos de excipientes mencionados en este documento), está en el intervalo de 1% a 99,9% en peso de la composición, por ejemplo de 40% a 99% en peso tal como de 40% a 90% en peso de la composición. Además o como alternativa, en una realización, para una composición (por ejemplo, composición para administración oral, por ejemplo comprimido o cápsula) en forma de dosificación unitaria, la cantidad total del vehículo farmacéuticamente aceptable en la composición farmacéutica en forma de dosificación unitaria (por ejemplo, o es decir, la cantidad total de uno o más excipientes presentes en ella) puede ser de 10 mg a 2000 mg, por ejemplo de 20 mg a 1500 mg tal como de 100 mg a aproximadamente 1000 mg.

La dosis, por ejemplo dosis oral, de la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma, por ejemplo usada en el tratamiento o profilaxis de los trastornos/enfermedades/afecciones mencionadas anteriormente y/o compuesta en una composición farmacéutica, puede variar, por ejemplo, de manera convencional con la gravedad del trastorno, el peso del paciente y/u otros factores similares. Sin embargo, como directriz general, en una realización puede usarse una dosis unitaria adecuada (por ejemplo, dosis unitaria oral) de 0,02 a 1000 mg o de 0,05 a 1000 mg, por ejemplo de 0,1 a 200 mg tal como de 1,0 a 200 mg, y/o por ejemplo de 0,02 a 200 mg o de 0,05 a 200 mg tal como de 0,05 a 45 mg o de 0,1 a 45 mg, del compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable de la invención (medido como el compuesto de "base libre"), por ejemplo en una composición farmacéutica (por ejemplo, en una composición farmacéutica oral, y/o por ejemplo en una forma de dosificación unitaria) de la invención. En una realización, dicha dosis unitaria es para administración una vez al día, por ejemplo por vía oral y/o a un mamífero tal como un ser humano; como alternativa, dicha dosis unitaria puede ser para administración más de una vez al día, por ejemplo, dos o tres veces al día, por ejemplo por vía oral y/o a un mamífero tal como un ser humano. Dicha terapia puede prolongarse durante varias semanas, meses o años.

Una realización de una forma de dosificación farmacéutica

En una realización, la invención proporciona una forma de dosificación farmacéutica (por ejemplo, forma de dosificación administrable por vía oral) que comprende:

- 45 a) 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma (por ejemplo, sal hidrocioruro);
- b) opcionalmente un estabilizante, que reduce la degradación de la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o la sal de la misma en la forma de dosificación en comparación con una forma de dosificación que carece de dicho estabilizante; y
- 50 c) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En una realización de esta realización, la forma de dosificación farmacéutica (por ejemplo, forma de dosificación administrable por vía oral) comprende un comprimido de soporte, donde dicho comprimido de soporte se cubre al menos parcialmente (por ejemplo, parcial o completamente, por ejemplo sólo parcialmente) con una película que comprende:

5 a) 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma (por ejemplo, sal hidrocloreto), y

b) opcionalmente un estabilizante que reduce la degradación de la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o la sal de la misma en la forma de dosificación en comparación con una forma de dosificación que carece de dicho estabilizante;

10 En esta realización, la expresión "comprimido de soporte" se refiere a un comprimido farmacéuticamente aceptable sustancialmente libre de la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En una realización, el comprimido de soporte se forma por tecnología de compresión directa.

En una realización, el comprimido de soporte comprende:

15 - un diluyente (por ejemplo, en una cantidad de 50 a 100%, por ejemplo de 80 a 98%, en peso del comprimido de soporte), tal como celulosa microcristalina, por ejemplo celulosa microcristalina que tiene un tamaño de partículas medio nominal de aproximadamente 50 micrómetros (por ejemplo, Avicel PH-101™) o de 100 micrómetros (por ejemplo, Avicel PH-102™), lactosa o manitol; y/o

20 - un agente aglutinante (por ejemplo, en una cantidad de 0,5 a 15%, por ejemplo de 2 a 10%, en peso del comprimido de soporte), tal como almidón (por ejemplo, almidón de maíz, almidón de patata o almidón pregelatinizado), polivinilpirrolidona (povidona), o hidroxipropilmetilcelulosa; y/o

- un lubricante (por ejemplo, en una cantidad de 0,1 a 5%, por ejemplo de 0,3 a 3%, en peso del comprimido de soporte), tal como estearato de magnesio, estearato cálcico o ácido esteárico.

25 En una realización, el comprimido de soporte es un comprimido que comprende celulosa microcristalina (por ejemplo, Avicel PH-102™) (por ejemplo, al 90% en peso del comprimido de soporte), almidón pregelatinizado (por ejemplo, Starch 1500™) (por ejemplo, al 9% en peso del comprimido de soporte) y estearato de magnesio (por ejemplo, al 1% en peso del comprimido de soporte).

30 La forma de dosificación farmacéutica mencionada anteriormente que comprende el estabilizante opcional puede contener, por ejemplo, de 0,02 mg a 2 mg (por ejemplo, de 0,05 mg a 1 mg) de la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma (por ejemplo, sal hidrocloreto), cuando se mide en forma de la cantidad de base libre presente.

En una realización, la forma de dosificación no comprende un estabilizante.

En una realización particular, la forma de dosificación comprende un estabilizante.

35 En la forma o formas de dosificación farmacéuticas mencionadas anteriormente, el estabilizante puede comprender típicamente ácido cítrico o una sal del mismo, ácido málico o una sal del mismo, ácido ascórbico o una sal del mismo, bicarbonato sódico, hidroxianisol opcionalmente butilado y/o hidroxitolueno butilado. En una realización particular, el estabilizante comprende hidroxianisol opcionalmente butilado, tal como hidroxianisol butilado, o, más particularmente, ácido cítrico o una sal del mismo, tal como ácido cítrico. En la forma de dosificación, la proporción molar del ácido cítrico o la sal del mismo (medida como ácido cítrico) con respecto a la 1-(1-metiletil)-4-[[4-

40 (tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o la sal de la misma (medida como la base libre) puede ser, por ejemplo, de 550:1 a 1:2, tal como de 500:1 a 2:3.

45 En una realización, el comprimido de soporte se recubre con un recubrimiento de película para comprimidos de soporte, por ejemplo hasta un aumento de 2-6% en peso, por ejemplo usando un recubrimiento no soluble en agua (o no soluble en metanol o etanol), por ejemplo usando etilcelulosa (por ejemplo, Surelease™) o copolímero de ácido metacrílico (por ejemplo, Eudragit™) como recubrimiento de película de comprimidos de soporte. La película recubre al comprimido de soporte y comprende el compuesto o sal de la invención y el estabilizante opcional está típicamente en la parte exterior de y/o recubierto sobre el recubrimiento de película de comprimidos de soporte.

En una realización, en la forma de dosificación mencionada anteriormente que comprende el estabilizante opcional, sustancialmente no hay absorción de la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma por el comprimido de soporte.

5 El comprimido de soporte puede tener, en particular, uno o más huecos o depresiones. En una realización particular, la película (que cubre al menos parcialmente, por ejemplo sólo parcialmente, al comprimido de soporte y que comprende el compuesto o sal de la invención y el estabilizante opcional) está sustancialmente presente dentro de uno o más huecos o depresiones del comprimido de soporte.

10 En una realización, la forma de dosificación mencionada anteriormente (por ejemplo, que comprende un comprimido de soporte al menos parcialmente cubierto por una película que comprende el compuesto o sal de la invención y un estabilizante opcional) se recubre opcionalmente con un recubrimiento de película externo.

15 En otro aspecto de esta realización, la invención proporciona un método para preparar la forma de dosificación farmacéutica anterior (que comprende un comprimido de soporte recubierto al menos parcialmente por una película que comprende el compuesto o sal de la invención y un estabilizante opcional), donde el método comprende dispensar una solución o suspensión de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un estabilizante (por ejemplo, ácido cítrico o una sal del mismo, por ejemplo presente en aproximadamente 2-3% p/v) sobre un comprimido de soporte. Puede usarse cualquier disolvente con la condición de que el estabilizante y cualquier otro excipiente presente en la película (para recubrir al menos parcialmente el comprimido de soporte) sea soluble en el disolvente. El disolvente es típicamente volátil. El disolvente debe ser farmacéuticamente aceptable en cualquier cantidad (residual) en la que aparezca en la forma de dosificación terminada. El disolvente usado en el método puede incluir agua y/o un disolvente orgánico tal como metanol, etanol, acetona, ácido acético y/o diclorometano. Puede usarse una mezcla de disolventes (por ejemplo, agua-etanol). En una realización, el disolvente es metanol.

25 En el método para preparar la forma de dosificación, el comprimido de soporte y la solución o suspensión dispensada pueden calentarse (por ejemplo, en una estufa de aire forzado) para evaporar el exceso de líquido y puede dar como resultado la formación de una película sobre al menos una parte de la superficie del comprimido de soporte. Después, la forma de dosificación puede recubrirse opcionalmente con la película, por ejemplo de acuerdo con métodos convencionales, para crear un recubrimiento de película externo.

30 El comprimido de soporte usado en el método para preparar la forma de dosificación puede tener un hueco o depresión que proporciona una cavidad para alojar la solución o suspensión de la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma y el estabilizador después de dispensarse. Típicamente, se emplean comprimidos bicóncavos que tienen huecos en los dos lados del comprimido.

35 En una realización opcional, la forma de dosificación mencionada anteriormente que comprende un comprimido de soporte de la presente invención se produce por un aparato descrito en el documento WO 2005/123569, y más particularmente se produce por un aparato que contiene un módulo de reparto para administrar con exactitud una cantidad predeterminada de la solución o suspensión de la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma y el estabilizador sobre los comprimidos de soporte. El aparato puede tener también un miembro de contención para contener los comprimidos de soporte, que puede moverse continuamente a lo largo del aparato mientras el módulo de reparto reparte la solución o suspensión en cada uno de los comprimidos de soporte. El aparato puede tener además un sistema de secado que seca o evapora disolvente de la solución o suspensión depositada en cada uno de los comprimidos de soporte. El miembro de contención puede moverse continuamente a lo largo del aparato mientras que el sistema de secado seca la dosificación en cada uno de los comprimidos de soporte. El sistema de secado puede secar la forma de dosificación mediante el uso de aire caliente o por calentamiento con infrarrojos o microondas. El aparato también puede tener un sistema de recubrimiento que aplica una película exterior sobre la forma de dosificación.

45 **Combinaciones**

50 La 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o su sal farmacéuticamente aceptable puede usarse en combinación con otros agentes terapéuticos. Cuando la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o su sal farmacéuticamente aceptable se pretende usar en el tratamiento o profilaxis (en particular, en el tratamiento) de la enfermedad de Alzheimer, demencia, deterioro cognitivo leve o un trastorno neurodegenerativo relacionado, en particular en el tratamiento o profilaxis (en particular, en el tratamiento) de deterioro(s) cognitivo(s) en la enfermedad de Alzheimer, demencia (por ejemplo, demencia con cuerpos de Lewy o

demencia vascular), deterioro cognitivo leve o un trastorno neurodegenerativo relacionado, por ejemplo en un mamífero tal como un ser humano, puede usarse en combinación con medicamentos considerados útiles como tratamientos sintomáticos o para modificar la enfermedad de la enfermedad de Alzheimer, demencia, deterioro cognitivo leve o un trastorno neurodegenerativo relacionado. Pueden ser ejemplos adecuados de estos otros agentes terapéuticos agentes sintomáticos, por ejemplo los que se sabe que modifican la transmisión colinérgica tales como agonistas o moduladores alostéricos del receptor muscarínico M1, antagonistas muscarínicos M2, inhibidores de acetilcolinesterasa (tales como tetrahidroaminoacridina, donepezilo, por ejemplo, hidrocloreto de donepezilo, rivastigmina o galantamina, por ejemplo, hidrobromuro de galantamina), agonistas o moduladores alostéricos de receptores nicotínicos (tales como agonistas o moduladores alostéricos de $\alpha 7$ o agonistas o moduladores alostéricos de $\alpha 4\beta 2$), agonistas de PPAR (tales como agonistas de PPAR γ), agonistas parciales del receptor 5-HT $_4$, antagonistas del receptor 5-HT $_6$ [tales como 3-(fenilsulfonil)-8-(1-piperazinil)quinolina o una sal de la misma, por ejemplo, descrita en el documento WO 03/080580 como la sal hidrocloreto (Ejemplo 2) y como la base libre (Ejemplo 16)], antagonistas del receptor 5HT1A, antagonistas o moduladores del receptor NMDA (tales como memantina, por ejemplo, hidrocloreto de memantina) o agentes modificadores de la enfermedad tales como inhibidores de β o γ -secretasa.

Cuando la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o su sal farmacéuticamente aceptable pretende usarse para el tratamiento de la narcolepsia, puede usarse en combinación con medicamentos considerados útiles como tratamientos para la narcolepsia. Los ejemplos adecuados de dichos agentes terapéuticos diferentes incluyen modafinilo, armodafinil y bloqueantes de la absorción de monoamina.

Cuando la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o su sal farmacéuticamente aceptable pretende usarse en el tratamiento de la esquizofrenia, puede usarse en combinación con medicamentos considerados útiles como tratamientos de la esquizofrenia incluyendo i) antipsicóticos incluyendo antipsicóticos típicos (por ejemplo, clorpromazina, tioridazina, mesoridazina, flufenazina, perfenazina, proclorperazina, trifluoperazina, tiotixina, haloperidol, molindona o ioxapina), antipsicóticos atípicos (por ejemplo, clozapina, olanzapina, risperidona, quetiapina, ziprasidona, amisulprida o aripiprazol), inhibidores del transportador de glicina 1 y ligandos del receptor metabotrópico; ii) fármacos para los efectos secundarios extrapiramidales, por ejemplo anticolinérgicos (tales como benzotropina, biperidén, prociclidina o trihexifenidilo) y dopaminérgicos (tales como amantadina); iii) antidepresivos que incluyen inhibidores de la reabsorción de serotonina (tales como citalopram, escitalopram, fluoxetina, paroxetina, dapoxetina o sertralina), inhibidores duales de la reabsorción de serotonina/noradrenalina (tales como venlafaxina, duloxetina o milnacipran), inhibidores de la reabsorción de noradrenalina (tales como reboxetina), antidepresivos tricíclicos (tales como amitriptilina, clomipramina, imipramina, maprotilina, nortriptilina o trimipramina), inhibidores de monoaminoxidasa (tales como isocarboxazida, moclobemida, fenelzina o tranilcipromina), y otros (tales como bupropion, mianserina, mirtazepina, nefazodona o trazodona); iv) ansiolíticos, incluyendo benzodiazepinas tales como alprazolam o lorazepam; y v) potenciadores cognitivos, por ejemplo, inhibidores de colinesterasa (tales como tacrina, donepezilo, rivastigmina o galantamina).

Cuando el compuesto de la invención o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo se usa en combinación con otros agentes terapéuticos, los compuestos pueden administrarse de manera secuencial o simultánea por cualquier vía conveniente.

La solicitud proporciona, en un aspecto adicional, una combinación que comprende 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma junto con un agente o agentes terapéuticos adicionales.

Las combinaciones mencionadas anteriormente se pueden presentar convenientemente para uso en la forma de una formulación farmacéutica, y de esta manera las formulaciones farmacéuticas que comprenden una combinación como se ha definido anteriormente junto con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable constituyen otro aspecto de la invención. Los componentes individuales de tales combinaciones se pueden administrar secuencial o simultáneamente en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas.

Cuando el compuesto de la invención, o su sal farmacéuticamente aceptable, se utiliza en combinación con un segundo agente terapéutico activo contra el mismo estado de enfermedad, la dosis de cada compuesto puede ser diferente de la empleada cuando el compuesto se utiliza por sí solo.

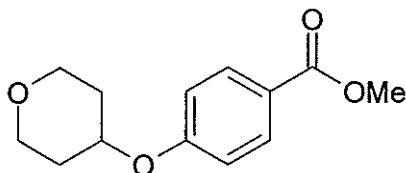
50 Sección experimental

Las siguientes Descripciones y Ejemplos ilustran el compuesto de la invención, su sal hidrocloreto, preparaciones

del mismo e intermedios ("Descripciones") de uso en la preparación del mismo.

Descripción 1

4-(Tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)benzoato de metilo (D1)



5 Método A

Una solución agitada de 4-hidroxibenzoato de metilo (1,49 g, 9,8 mmol, por ejemplo disponible en Aldrich), 4-hidroxitetrahidropirano (1 g, 9,8 mmol, por ejemplo disponible en Aldrich) y trifetilfosfina (3,85 g, 14,7 mmol) en tetrahidrofurano (60 ml) a temperatura ambiente se trató gota a gota con azodicarboxilato de dietilo (2,32 ml, 1,5 equivalentes molares). La reacción se agitó durante una noche. El disolvente se retiró por evaporación y el producto en bruto se disolvió de nuevo en acetato de etilo (50 ml), se lavó con una solución al 5% de carbonato sódico (2 x 40 ml), agua (3 x 40 ml) y salmuera (40 ml), se secó (sulfato de magnesio) y se evaporó. El producto en bruto se cargó sobre una columna de sílice y se sometió a cromatografía ultrarrápida, eluyendo con un gradiente de 10% a 30% de acetato de etilo en petróleo ligero (40°-60°C) para producir el compuesto del título (2,12 g).

Método B

Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (7,8 ml, 39,6 mmol, 2 equivalentes molares) a una solución agitada de 4-hidroxibenzoato de metilo (3,0 g, 19,7 mmol), 4-hidroxitetrahidropirano (2,8 ml, 28,2 mmol, aprox. 1,4 equivalentes molares) y trifetilfosfina (10,3 g, 39,3 mmol, 2 equivalentes molares) en tetrahidrofurano (120 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 68 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo en bruto se disolvió en acetato de etilo (100 ml). Después, la solución orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato sódico (40 ml), agua (40 ml) y salmuera (40 ml). La fase orgánica se secó (columna de separación de fases) y se concentró. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo de 0% a 30% en hexano para producir el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo pálido (3,14 g) (¹H RMN en CDCl₃ sugirió que el producto estaba contaminado con una cantidad sustancial de un residuo de azodicarboxilato de diisopropilo).

25 Método C

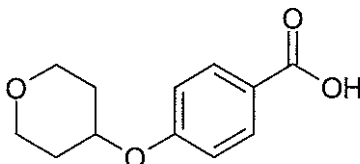
Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (2,89 ml, 14,68 mmol, 1,5 equivalentes molares) a una solución agitada de 4-hidroxibenzoato de metilo (1,49 g, 9,80 mmol, 1,0 equivalentes molares), 4-hidroxitetrahidropirano (1,00 g, 9,79 mmol, 1,0 equivalentes molares) y trifetilfosfina (3,85 g, 14,68 mmol, 1,5 equivalentes molares) en tetrahidrofurano (60 ml) a 0°C. La mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 21 horas. A la mezcla de reacción se le añadieron secuencialmente 4-hidroxitetrahidropirano (0,3 ml), trifetilfosfina (1,11 g) y azodicarboxilato de diisopropilo (0,9 ml) a temperatura ambiente y la agitación se continuó durante 2 horas. El disolvente se retiró al vacío y el residuo se disolvió en acetato de etilo (50 ml). La fase orgánica se lavó con una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato sódico (30 ml), agua (30 ml) y salmuera (30 ml). La fase orgánica se secó (columna de separación de fases) y se concentró. El residuo en bruto se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo de 0% a 30% en hexano para producir el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo pálido (2,19 g) (contaminado con una cantidad pequeña de un resto de azodicarboxilato de diisopropilo).

Método D

A una solución agitada de 4-hidroxibenzoato de metilo (30 g, 197 mmol, 1,0 equivalentes molares), tetrahidro-4-piranol (24 ml, 251 mmol, 1,3 equivalentes molares) y trifetilfosfina (78 g, 297 mmol, 1,5 equivalentes molares) en tetrahidrofurano (600 ml) a temperatura ambiente se le añadió azodicarboxilato de diisopropilo (58 ml, 298 mmol, 1,5 equivalentes molares) durante un periodo de 15 minutos. La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas. Se añadió otra porción de azodicarboxilato de diisopropilo (5 ml) y tetrahidro-4-piranol (2 ml) y la mezcla de reacción se agitó durante 2 horas más a temperatura ambiente. Después, la mezcla de reacción se

inactivó mediante la adición de una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato sódico (500 ml) y acetato de etilo (500 ml). La fase orgánica se lavó con agua (2 x 250 ml), se secó (sulfato de magnesio) y después se concentró al vacío para dar el producto en bruto, 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoato de metilo, en forma de un aceite pegajoso de color amarillo (182 g).

5 Descripción 2 Ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico (D2)



Método A

Una solución agitada de 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoato de metilo (2,12 g; preparada como se ha descrito en la Descripción 1 Método A) en metanol (20 ml) a temperatura ambiente se trató con una solución 1 M de hidróxido sódico (17,9 ml, aproximadamente 2 equivalentes molares). La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 4 horas y después se enfrió a temperatura ambiente. El metanol se retira por evaporación y la mezcla acuosa se lava con diclorometano (3 x 10 ml) y después se acidifica a un valor de pH de 2 con ácido clorhídrico concentrado. La capa acuosa se extrajo con éter (100 ml) y la solución de éter se lavó con agua (3 x 50 ml) y salmuera (50 ml), se secó (sulfato de magnesio) y se evaporó para producir el compuesto del título (1,27g, que contiene aprox. 15% de ácido 4-hidroxibenzoico por RMN).

Como alternativa, después de enfriar la reacción a temperatura ambiente, el metanol se retira por evaporación, la mezcla acuosa se lava con diclorometano (3 x 10 ml) y después se acidifica a un valor de pH de 2 con ácido clorhídrico concentrado y después el producto se retiró directamente por filtración.

Método B

A una solución agitada de 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoato de metilo (3,14 g, preparada como se ha descrito en la Descripción 1 Método B) en metanol (28 ml) se le añadió una solución acuosa 1,0 M de hidróxido sódico (28 ml, 28 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 95°C durante 18 horas y después se enfrió a temperatura ambiente. El metanol se retiró al vacío y la fase acuosa restante se lavó con diclorometano (2 x 30 ml). Después, la capa acuosa se acidificó a un valor de pH de 2 usando una solución acuosa 1,0 M de HCl. El precipitado resultante de color blanco se retiró por filtración y se secó (estufa de vacío a 40°C durante 3 horas) para producir el compuesto del título (1,52 g).

Método C

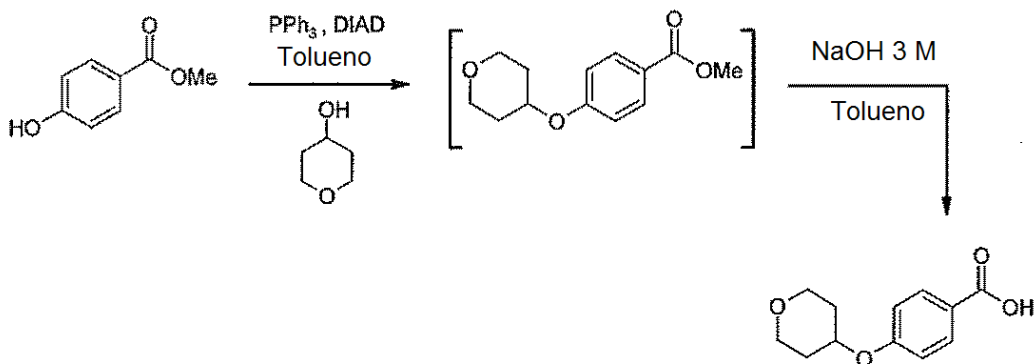
A una solución de 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoato de metilo (2,19 g, preparada como se ha descrito en la Descripción 1 Método C) en metanol (20 ml) a temperatura ambiente se le añadió una solución acuosa 1,0 M de hidróxido sódico (19 ml, 19 mmol). Después, la mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 15 horas. Después, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y el metanol se retiró al vacío. La fase acuosa resultante se lavó con diclorometano (2 x 15 ml) y después se acidificó a un valor de pH de 2 usando una solución acuosa 1,0 M de HCl. El precipitado resultante de color blanco se retiró por filtración y se secó (estufa de vacío a 40°C durante 2 horas) para producir el compuesto del título (1,32 g).

35 Método D

A una solución agitada de 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoato de metilo en bruto (182 g, preparada como se ha descrito en la Descripción 1 Método D) en metanol (800 ml) se le añadió una solución acuosa 1,0 M de hidróxido sódico (900 ml, 900 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 50°C durante 4 horas y después se enfrió a temperatura ambiente. El metanol se retiró al vacío y la fase acuosa restante se lavó con acetato de etilo (2 x 400 ml). Después, la fase acuosa se acidificó con HCl acuoso 2,5 M. El sólido de color blanco resultante se filtró para producir el compuesto del título (36,5 g).

Descripción 3

Ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico (D3)



Breve Compendio de la Descripción del Proceso

Todos los pesos, volúmenes ("vol") y equivalentes son con respecto al 4-hidroxibenzoato de metilo.

- Una solución de 4-hidroxibenzoato de metilo (1 parte en peso, 1 equivalente molar), trifetilfosfina (2,6 partes en peso, 1,5 equivalentes molares), 4-hidroxitetrahidropirano (0,75 vol, 1,2 equivalentes molares) en tolueno (3,5 partes en vol) en una atmósfera de nitrógeno se calienta a 55°C y se añade gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (1,95 vol, 1,5 equivalentes molares) durante 60 minutos, manteniendo el contenido a 60 ± 2°C. Después de la adición, la reacción se agita durante 30 minutos y después se enfría a 0-5°C. Después, la extracción se siembra con aducto de óxido de trifetilfosfina-hidrazinadicarboxilato de diisopropilo preparado previamente y después se deja en agitación durante 1 hora más antes de la filtración. La torta húmeda se lava con tolueno (2 x 1 vol) y las aguas madre combinadas se transfieren a un recipiente limpio. La solución de tolueno se lava con una solución 2 M de hidróxido sódico (5 vol) a 0-5°C, después se añade una solución 3 M de hidróxido sódico (5 vol) y la reacción se calienta a 80°C. La reacción se agita durante al menos 2,5 horas, hasta que el análisis por HPLC no muestra material de partida. Después, la mezcla se enfría a 50°C y se añaden tolueno (5 vol) y agua (5 vol). Las capas se dejan separar y la capa acuosa se lava con tolueno (10 vol) y después se acidifica a un valor de pH de 1 con una solución 2,5 M de HCl (7,5 vol). La suspensión resultante se filtra y la torta húmeda se lava con agua (2 x 2 vol). El producto del título se seca a aproximadamente 50°C en una estufa de vacío con un purgador de nitrógeno para mantener constante la temperatura de la sonda.

Descripción Detallada del Proceso

1. Se añadió 4-hidroxibenzoato de metilo (1 parte en peso, 482,3 g, disponible en Fluka) al Recipiente 1.
2. Se añadió 4-hidroxitetrahidropirano (0,75 vol, 362 ml, 1,2 equivalentes molares, disponible en Sigma-Aldrich) al Recipiente 1.
3. Se añadió trifetilfosfina (2,6 partes en peso, 1253 g, 1,5 equivalentes molares) al Recipiente 1.
4. Se purgó el Recipiente 1 con nitrógeno.
5. Se añadió tolueno (3,5 vol, 1690 ml) al Recipiente 1.
6. El contenido se calentó a 55°C con agitación.
7. Se añadió azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD, 1,95 vol., 940 ml, 1,5 equivalentes molares, disponible en Aldrich) al Recipiente 1 mediante una bomba peristáltica durante 2 horas, manteniendo la temperatura del contenido a 60±2°C.
8. Se agitó el contenido del Recipiente 1 a 60±2°C durante 50 min.
9. Se tomaron muestras de la mezcla de reacción para el análisis por HPLC.
10. Se enfrió el contenido del Recipiente 1 a 0-5°C.
11. La extracción se sembró con aducto de óxido de trifetilfosfina-hidrazinadicarboxilato de diisopropilo (0,001 partes en peso, 0,482 g)

ES 2 384 414 T3

12. Se agitó el contenido del Recipiente 1 durante 81 min.
13. El subproducto se retiró por filtración durante 5 min en un minifiltro de PTFE equipado con papel de filtro reforzado húmedo Whatman N° 113 (cara superior rugosa). Se usó un matraz Buchner de 20 l como recipiente.
- 5 14. La torta húmeda se lavó con tolueno (2 x aprox. 1 vol, 2 x 490 ml) y se aspiró el disolvente de la torta.
15. El filtrado y los lavados de la torta combinados se transfirieron al Recipiente 2 por una línea de aspiración de PTFE.
16. Se enfrió el contenido del Recipiente 2 a 0-5°C.
17. Se añadió una solución 2 M de hidróxido sódico (5 vol, 2400 ml) al Recipiente 2.
- 10 18. Se agitó el contenido del Recipiente 2 a 0-5°C durante 5 min antes de dejar que las capas se depositaran.
19. La capa acuosa inferior se llevó a una botella Schott etiquetada.
20. Se añadió una solución 3 M de hidróxido sódico (5 vol, 2410 ml) al Recipiente 2.
21. El contenido se calentó a 80°C y se agitó durante 2 horas y 45 min.
22. La reacción se controló por HPLC hasta que se completó la hidrólisis.
- 15 23. Se enfrió el contenido del Recipiente 2 a 50°C y después se añadió tolueno (5 vol, 2410 ml) al Recipiente 2.
24. Se añadió agua (5 vol, 2410 ml) al Recipiente 2.
25. El contenido se agitó a 50±5°C durante 5 min antes de dejar que las capas se depositaran.
26. La capa acuosa inferior se llevó a una botella Schott etiquetada para la retención.
27. La capa orgánica superior se llevó a una botella Schott etiquetada para la disposición.
- 20 28. La capa acuosa se recargó de la botella Schott etiquetada al Recipiente 2.
29. Se añadió tolueno (aprox. 10 vol, 4900 ml) al Recipiente 2.
30. El contenido se agitó a 50±5°C durante 5 min antes de dejar que las capas se depositaran.
31. La capa acuosa inferior se llevó a una botella Schott etiquetada para la retención.
32. La capa orgánica superior se llevó a una botella Schott etiquetada para la disposición.
- 25 33. La capa acuosa se recargó en el Recipiente 2.
34. Se añadió ácido clorhídrico acuoso 2,5 M (7,5 vol, 3620 ml) mediante una bomba peristáltica hasta alcanzar un valor de pH de 1.
35. La suspensión resultante se agitó durante 15 min.
- 30 36. El producto se retiró por filtración en un minifiltro de PTFE equipado con papel de filtro reforzado húmedo Whatman 113 (parte superior rugosa). Tiempo de filtración 10 min.
37. La torta de filtro se lavó con agua (2 x 2 vol, 970 ml).
38. El producto sólido se secó en bandejas de acero con línea de polietileno cubiertas con una tela de muselina, al vacío y con purgado de nitrógeno, a 50°C durante una noche y a 75°C durante 3 días más.
39. El producto del título se obtuvo en forma de un sólido de color blanquecino (568,9 g).

35 *Datos analíticos*

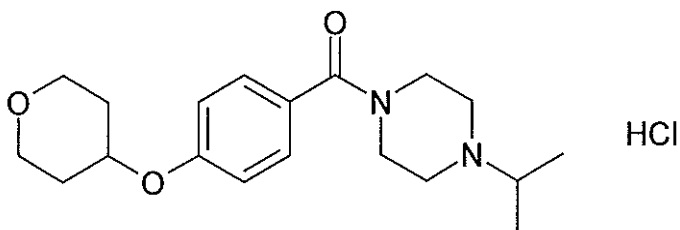
¹H RMN (400 MHz, DMSO-d₆) delta ppm 1,55-1,64 (m, 2 H) 1,95-2,03 (m, 2 H) 3,49 (ddd, J=11,74, 9,41, 2,57 Hz, 2

H) 3,85 (ddd, $J=11,80, 4,34, 4,16$ Hz, 2 H) 4,69 (ddd, $J=8,56, 4,65, 4,40$ Hz, 1 H) 7,03-7,09 (m, 2 H) 7,84-7,90 (m, 2 H), y 12,31 (s a, 1H).

En una alternativa al proceso anterior, en la etapa 37, la torta de filtro puede lavarse con tolueno en lugar de agua, antes del secado al vacío a 50-75°C de la etapa 38.

5 Ejemplo 1

Hidrocloruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (E1)



Método A

Una solución de ácido 4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)benzoico (200 mg; preparada como se ha descrito en la Descripción 2 Método A) en diclorometano (10 ml) a temperatura ambiente se trató con cloruro de oxalilo (0,16 ml, aproximadamente 2 equivalentes molares) y 1 gota de *N,N*-dimetilformamida al 10% en diclorometano. Después de 30 minutos, el disolvente se retiró por evaporación y el producto se evaporó de nuevo en diclorometano (2 veces). El producto de cloruro de ácido en diclorometano se añadió a una mezcla agitada de dietilaminometilpoliestireno (844 mg, 3,2 mmol/g, 2,7 mmol, aproximadamente 3 equivalentes molares) y 1-isopropilpiperazina (115 mg, 0,90 mmol, por ejemplo disponible en Aldrich) en diclorometano (10 ml) a temperatura ambiente. Después de 30 minutos, la mezcla se cargó directamente sobre una columna ultrarrápida de sílice y se eluyó con un gradiente de metanol de 2% a 6% (que contenía amoníaco 0,88 al 10%) en diclorometano. Las fracciones que contenían el producto se evaporaron. El producto se disolvió de nuevo en diclorometano y se trató con exceso de HCl 4 M en dioxano. El disolvente se evaporó y el producto se cristalizó con acetona, se retiró por filtración, se lavó con acetona y se secó para producir el compuesto del título (247 mg).

^1H RMN ($\text{D}_6\text{-DMSO}$, 250 MHz) δ 10,9 a 11,0 (1H, a), 7,43 (2H, d, $J=8,7$ Hz), 7,04 (2H, d, $J=8,7$ Hz), 4,65 (1H, m), 4,18 (2H, a), 3,90-3,81 (2H, m), 3,57-3,41 (7H, m), 3,12-3,00 (2H, m), 2,02-1,95 (2H, m), 1,66-1,52 (2H, m), 1,28 (6H, d, $J=6,6$ Hz); MS (electronebulización): m/z (M+H) $^+$ 333; $\text{C}_{19}\text{H}_{28}\text{N}_2\text{O}_3$ requiere 332.

Método B

A una solución agitada de ácido 4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)benzoico (2,56 g, 11,5 mmol; que puede prepararse como se ha descrito en la Descripción 2 Método B y/o Método C) en *N,N*-dimetilformamida (40 ml) a temperatura ambiente se le añadió hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (3,32 g, 17,3 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos, seguido de la adición de 1-isopropilpiperazina (2,50 ml, 17,5 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 20 horas. A la mezcla de reacción se le añadió diclorometano (10 ml) y el disolvente se retiró al vacío. El residuo oleoso de color amarillo pálido se purificó por cromatografía sobre gel de sílice, eluyendo con un gradiente de 0% a 10% de (amoníaco 2 N/metanol) en diclorometano, para producir la base libre en forma de un aceite de color amarillo pálido (1,80 g) (LCMS (básico): m/z (M+H) $^+$ 333). La base libre se disolvió en diclorometano (20 ml), seguido de la adición de una solución 4,0 M de HCl en dioxano (5 ml). Después, el disolvente se retiró al vacío para producir la sal hidrocloruro correspondiente, hidrocloruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, en forma de un sólido de color blanquecino (1,81 g); LCMS (básico): m/z (M+H) $^+$ 333.

Método C

A una solución agitada de ácido 4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)benzoico (0,205 g, 0,92 mmol; que puede prepararse como se ha descrito en la Descripción 2 Método C) en *N,N*-dimetilformamida (3,5 ml) se le añadió hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (0,268 g, 1,39 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 15 minutos a temperatura ambiente, seguido de la adición de 1-isopropilpiperazina (0,20 ml, 1,4 mmol). La mezcla resultante se agitó durante 66 horas a temperatura ambiente. A la mezcla de reacción se le añadió diclorometano (5 ml) y el disolvente se retiró al vacío. El residuo oleoso de color amarillo pálido en bruto se purificó por cromatografía sobre

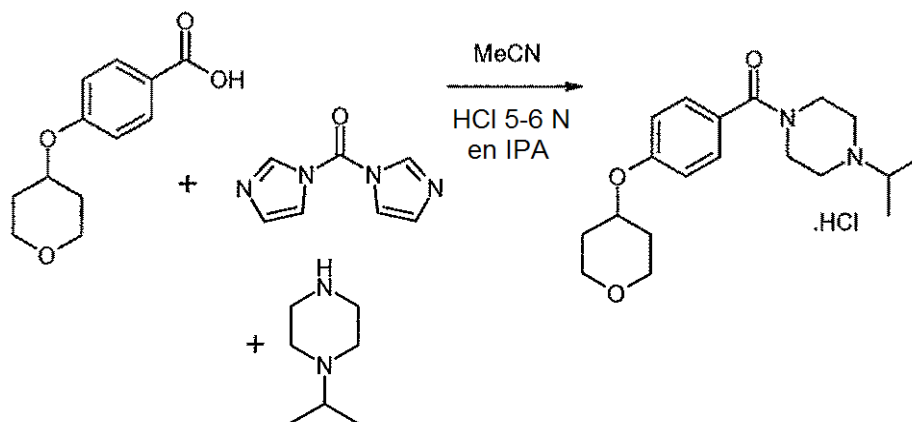
gel de sílice, eluyendo con un gradiente de 0% a 10% de (amoníaco 2 M/metanol) en diclorometano, para producir la base libre en forma de un aceite de color amarillo pálido (204 mg) (LCMS (básico): m/z (M+H)⁺ 333). La base libre se disolvió en diclorometano (5 ml), seguido de la adición de una solución 4,0 M de HCl en dioxano (1 ml). Después, el disolvente se retiró al vacío para producir la sal hidrocloreto correspondiente, hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, en forma de un sólido de color blanquecino (0,196 g); LCMS (básico): m/z (M+H)⁺ 333.

Método D

A una solución agitada de ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico (36,5 g, 164 mmol, que puede prepararse como se ha descrito en la Descripción 2 Método D), hidrocloreto de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (38 g, 198 mmol) y 1-hidroxibenzotriazol (31 g, 203 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (500 ml) a temperatura ambiente se le añadió 1-isopropilpiperazina (26 ml, 182 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas y después se inactivó mediante la adición de una solución acuosa saturada de hidrogenocarbonato sódico (500 ml) y acetato de etilo (1 litro). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (400 ml) y los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (2 x 400 ml). El disolvente se retiró al vacío y el residuo se recogió en diclorometano (150 ml), seguido de la adición de una solución 1,0 M de HCl en éter dietílico (200 ml). Después, el sólido de color blanco resultante se separó por filtración y se lavó con diclorometano para dar la sal hidrocloreto correspondiente. La recristalización de este material en etanol dio el compuesto del título, hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, en forma de un sólido (32 g).

Ejemplo 2

20 **Forma 1 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina**



Breve Compendio de la Descripción del Proceso

Todos los pesos, volúmenes ("vol") y equivalentes son con respecto al ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico.

Se cargan ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico (1 parte en peso, por ejemplo, que puede prepararse como en la Descripción 3) y carbonildiimidazol (CDI) (0,8 partes en peso, 1,1 equivalentes molares) en un recipiente de 20 l. Después, se añade acetonitrilo (12 volúmenes) y la suspensión se calienta a 30°C y se agita durante aproximadamente 2 a 2,25 horas. Se añade *N*-isopropilpiperazina (1-isopropilpiperazina, 0,66 partes en peso, 1,15 equivalentes molares) en una carga y la solución brumosa resultante se calienta a 50°C durante aproximadamente 15-30 minutos y después se agita durante aproximadamente 2 a 2,25 horas. La reacción se controla por HPLC. Después de que se complete la reacción, la mezcla se enfría a 20°C y se retira cualquier material insoluble (por ejemplo, cualquier material inorgánico sobre el ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico) por filtración. La solución aclarada se transfiere en porciones a un recipiente de 10 l y se concentra por destilación a presión reducida hasta alcanzar aproximadamente 3 volúmenes para retirar el acetonitrilo (por ejemplo, usando una temperatura de la camisa de 50°C y una presión de 200 mbar disminuyendo hasta una presión de 100 mbar). Después de la destilación, se añade propan-2-ol (6 volúmenes) y la solución se concentra adicionalmente por destilación a presión reducida hasta alcanzar 5 volúmenes. Después de que se añada más cantidad de propan-2-ol (8 volúmenes), la solución se calienta a 70°C con agitación y se añade HCl 5-6 N en isopropanol (0,9 volúmenes) durante al menos 10 minutos. La cristalización comienza generalmente durante la adición. Después de la adición, se aumenta la

ES 2 384 414 T3

temperatura de la suspensión resultante hasta 20°C durante 1,5 horas. El producto se filtra y la torta se lava con isopropanol (3 volúmenes). El disolvente se aspira libre de la torta durante al menos 2 horas. El producto se seca en una estufa de vacío a 50°C para mantener constante la temperatura de la sonda durante al menos 22 horas para dar el producto del título.

5 Descripción Detallada del Proceso

40. Se añadió ácido 4-{tetrahydro-2H-piran-4-iloxi}benzoico (1 parte en peso, 1000,0 g) al Recipiente 1 (20 l).
41. Se añadió carbonildiimidazol (CDI) (0,8 partes en peso, 1,1 equivalentes molares, 800,0 g) (obtenido en Fluorochem) al Recipiente 1.
- 10 42. Se añadió acetonitrilo (12 vol, 12 l) al Recipiente 1 y se comenzó la agitación (se observó desprendimiento de gas).
43. Se calentó cuidadosamente el contenido del Recipiente 1 a 30°C y después se agitó durante 2 horas y 10 minutos.
44. Se añadió N-isopropilpiperazina (1-isopropilpiperazina) (obtenida en Fluorochem) (0,66 partes en peso, 1,15 equivalentes molares, 666,4 g) al Recipiente 1.
- 15 45. Se calentó cuidadosamente el contenido del Recipiente 1 a 50°C, durante aproximadamente 15-20 minutos y después se agitó durante 2 horas y 15 minutos.
46. Se tomaron muestras de la mezcla para el análisis por HPLC (se inactivó sobre butilamina y la reacción se determinó completa si la proporción de producto:butilamida era >50:1).
47. Se enfrió el contenido del Recipiente 1 a 20°C.
- 20 48. La solución se transfirió al Recipiente 2 mediante un filtro Dominic de 5 micrómetros para retirar el material insoluble.
49. El Recipiente 1 se aclaró con acetonitrilo (0,2 vol, 200 ml) y se usó como lavado de la línea en el Recipiente 2.
- 25 50. Se concentró el contenido del Recipiente 2 hasta alcanzar 3,0 volúmenes por destilación a presión reducida. Se partió con una camisa calefactora a 50°C y vacío de 200 mbar, y la presión se redujo gradualmente hasta 100 mbar.
51. El Recipiente 1 se aclaró con agua y se llevó al punto de ebullición con metanol para limpiarlo.
52. Se añadió propan-2-ol (6 volúmenes, 6L) al Recipiente 2.
53. Se concentró el contenido del Recipiente 2 hasta alcanzar 5 volúmenes por destilación a presión reducida.
- 30 54. Se añadió propan-2-ol (8 volúmenes, 8 l) al Recipiente 2.
55. La mezcla de reacción se transfirió al Recipiente 1 para la cristalización.
56. Se calentó el contenido del Recipiente 1 a 70°C con agitación.
57. Se añadió ácido clorhídrico 5-6 N en propan-2-ol (0,9 volúmenes, 900 ml) al Recipiente 1 mediante una bomba peristáltica con tubería de silicona durante al menos 10 min.
- 35 58. El contenido del Recipiente 1 se enfrió a 20°C durante 1,5 horas.
59. El producto se retiró por filtración en un minifiltro 9 de PTFE equipado con papel de filtro reforzado húmedo Whatman 113 (parte superior rugosa).
60. La torta de filtro se lavó propan-2ol (3 volúmenes, 3 l) y se aspiró el disolvente.
- 40 61. El producto sólido se secó en bandejas de acero con línea de polietileno cubiertas con una tela de muselina, hasta alcanzar una temperatura de la sonda constante, a 50°C al vacío durante aproximadamente 22 horas para dar el compuesto del título en forma de un sólido (1515,1 g).

A partir del análisis, se cree que la forma 1 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina producida por el Ejemplo 2 no es un forma de cristal enteramente pura, y se cree que contiene aproximadamente 20% de la forma 2 cristalina. El análisis del producto de la forma 1 cristalina producido por el Ejemplo 2 incluye lo siguiente:

5 *Difracción de rayos X en polvo (XRPD)*

Los datos de XRPD se adquirieron en un difractómetro de polvo PANalytical X'Pert Pro equipado con un detector X'Celerator. Las condiciones de adquisición fueron: radiación: Cu K α (cobre K-alfa), tensión del generador: 40 kV, corriente del generador: 45 mA, ángulo inicial: 2,0° 2 θ (dos-theta), ángulo final: 40,0° 2 θ , tamaño de etapa: 0,0167° 2 θ (dos -theta). El tiempo por etapa fue de 31,750 s. La muestra se preparó montando algunos miligramos de muestra en placas de oblea de Si (fondo cero), produciendo una capa fina de polvo.

10

Algunas posiciones de picos característicos y espaciamentos d calculados para el producto de la forma 1 cristalina producido por el Ejemplo 2 se resumen en la siguiente tabla (nota: éstos no son los únicos picos observados). Se calcularon a partir de los datos de partida usando software Highscore.

XRPD - Forma 1 cristalina	
2 θ /°	espaciador $d/\text{Å}$ (Ångstroms)
6,4	13,9
12,7	7,0
15,4	5,7
15,7	5,6
17,1	5,2
19,1	4,7
19,7	4,5
21,9	4,1
25,5	3,5
27,0	3,3
28,2	3,2

15

El espectro de XRPD para la forma 1 cristalina preparada por el Ejemplo 2 se muestra en la Figura 1. Un espectro de solapamiento de XRPD se muestra en la Figura 3, que comparte los picos de XRPD de la forma 1 cristalina del Ejemplo 2 (superior) con los de la forma 2 cristalina del Ejemplo 3 (inferior), con fines de comparación. Los picos de XRPD de la forma 1 cristalina a 15,7° 2 θ y 25,5° 2 θ parecen ser característicos para la forma 1 cristalina en que estos picos no parecen estar presentes en el espectro e XRPD de la forma 2 cristalina.

20

Espectro de FT-IR (FT-infrarrojos)

El espectro de FT-IR se adquirió durante 64 exploraciones a una resolución de 4 cm⁻¹ usando un espectrómetro Nicolet Avatar 360 FT-IR, equipado con accesorio Diamond/ZnSe ATR.

El espectro de FT-IR para la forma 1 cristalina preparada por el Ejemplo 2 se muestra en las Figuras 4 y 5, que muestran las regiones espectrales de 4000 a 675 cm⁻¹ y de 2000 a 675 cm⁻¹ respectivamente. En la Figura 8 se muestra un espectro de solapamiento de FT-IR, con fines de comparación, que compara estos picos de la forma 1 cristalina del Ejemplo 2 con los de la forma 2 cristalina del Ejemplo 3, mostrando las regiones espectrales de 2000 a

25

675 cm^{-1} .

Espectro de RMN en estado sólido

Se obtuvo un espectro de RMN en estado sólido a una frecuencia de 90,55 MHz para la observación ^{13}C usando una sonda Bruker HFX MAS de 4-mm (rotación de ángulo mágico) a una temperatura de 296K, y a una velocidad de rotación de 8 kHz. Los datos se adquirieron usando una secuencia de polarización cruzada con supresión de banda lateral. Se adquirieron varias exploraciones, con un retardo de relajación de 10 segundos.

Los desplazamientos químicos para las resonancias observadas para la forma 1 cristalina preparada por el Ejemplo 2 se muestran a continuación (en ppm):

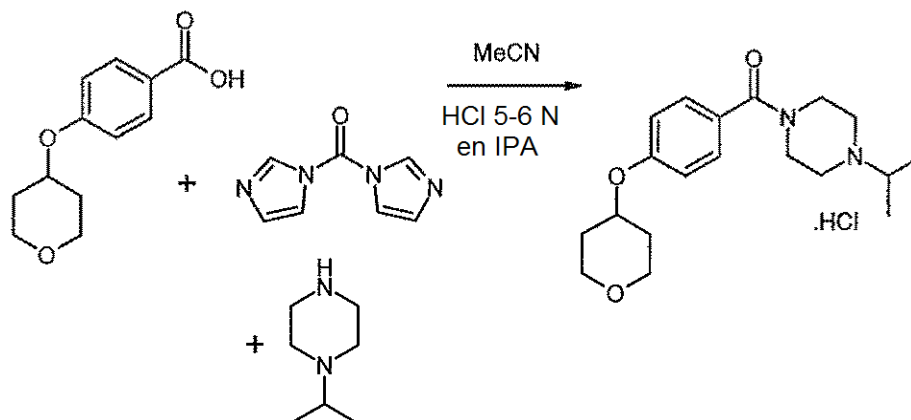
18,5±0,3, 30,4±0,3, 31,8±0,3, 37,6±0,3, 45,8±0,3, 49,4±0,3, 52,3±0,3, 59,2±0,3, 63,6±0,3, 68,4±0,3, 110,3±0,3, 118,8±0,3, 128,4±0,3, 131,2±0,3, 133,9±0,3, 159,1±0,3 y 167,6 ppm.

También se observaron resonancias adicionales a 19,5±0,3, 71,1±0,3, 109,5±0,3 y 119,6±0,3 ppm, y se cree que corresponden a la forma 2 cristalina como una impureza.

El espectro de RMN en estado sólido para la forma 1 cristalina preparada por el Ejemplo 2, como un solapamiento de comparación con la de la forma 2 cristalina, se ilustra en la Figura 9.

15 Ejemplo 3

Forma 2 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina



Se suspendió ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico (1 parte en peso, 20 g; por ejemplo, puede prepararse como se ha descrito en la Descripción 3) en acetonitrilo (80 ml). A la suspensión se le añadió una solución de carbonildiimidazol (CDI) (0,8 partes en peso, 16 g, 1,1 equivalentes molares) en acetonitrilo (80 ml), que se había calentado previamente a 35-40°C en una sola carga a temperatura ambiente. También se añadió un lavado de línea de acetonitrilo (20 ml, 1 volumen). La mezcla de reacción se calentó en una atmósfera de nitrógeno a 60°C durante 1 minuto. A la mezcla de reacción se le añadió N-isopropilpiperazina (1-isopropilpiperazina, 0,66 partes en peso, 13,33 g, obtenida de Fluorochem ACI) y el calentamiento se continuó durante 2 horas. La mezcla se concentró hasta alcanzar un volumen de aprox 2,5 volúmenes (50 ml) por destilación al vacío para dar un aceite espeso con movilidad. Después, se añadió propan-2-ol (240 ml, 12 volúmenes) y la mezcla se concentró por destilación a presión reducida (100 mbar) para retirar 2 volúmenes (40 ml). La mezcla se calentó a 70°C con agitación. A la mezcla se le añadió ácido clorhídrico 5-6 N en propan-2-ol (20 ml, 1 volumen) durante 10 min. No se produjo la cristalización hasta que se añadió todo el ácido. La mezcla de reacción se mantuvo a 70°C durante una noche. La mezcla se enfrió y la suspensión se filtró. El sólido filtrado se secó con succión del aire sobre el filtro durante 1 a 1,5 horas. El producto del título se obtuvo en forma de un sólido de color ligeramente rosa (25 g).

El análisis del producto de la forma 2 cristalina producido por el Ejemplo 3 incluye lo siguiente:

Difracción de rayos X en polvo (XRPD)

Los datos de XRPD se adquirieron en un difractor de polvo PANalytical X'Pert Pro equipado con un detector X'Celerator. Las condiciones de adquisición fueron: radiación: Cu $K\alpha$ (cobre K-alfa), tensión del generador: 40 kV,

ES 2 384 414 T3

corriente del generador: 45 mA, ángulo inicial: 2,0° 2θ (dos-theta), ángulo final: 40,0° 2θ, tamaño de etapa: 0,0167° 2θ (dos -theta). El tiempo por etapa fue de 31,750 s. La muestra se preparó montando algunos miligramos de muestra en placas de oblea de Si (fondo cero), produciendo una capa fina de polvo.

- 5 Algunas posiciones de picos característicos y espaciamentos d calculados para el producto de la forma 2 cristalina producido por el Ejemplo 3 se resumen en la siguiente tabla (nota: éstos no son los únicos picos observados). Se calcularon a partir de los datos de partida usando software Highscore.

XRPD - Forma 2 cristalina	
2θ /°	espaciador $d/\text{Å}$ (Ångstroms)
6,4	13,8
12,8	6,9
15,4	5,8
19,2	4,6
19,7	4,5
20,0	4,4
21,8	4,1
21,9	4,1
23,5	3,8
24,65 (se redondea a 24,7)	3,6
25,8	3,5
27,0	3,3

- 10 El espectro de XRPD para la forma 2 cristalina preparada por el Ejemplo 3 se muestra en la Figura 2. Un espectro de solapamiento de XRPD se muestra en la Figura 3, que comparte los picos de XRPD de la forma 2 cristalina del Ejemplo 3 (inferior) con los de la forma 1 cristalina del Ejemplo 2 (superior), con fines de comparación. Los picos de XRPD de la forma 2 cristalina XRPD a 20,0° 2θ y 24,65° (o 24,7°) 2θ parecen ser característicos para la forma 2 cristalina ya que estos picos no parecen estar presentes significativamente en el espectro de XRPD de la forma 1 cristalina.

15 *Espectro de FT-IR (FT-infrarrojos)*

El espectro de FT-IR se adquirió durante 64 exploraciones a una resolución de 4 cm^{-1} usando un espectrómetro Nicolet Avatar 360 FT-IR, equipado con accesorio Diamond/ZnSe ATR.

- 20 El espectro de FT-IR para la forma 2 cristalina preparada por el Ejemplo 3 se muestra en las Figuras 6 y 7, que muestran las regiones espectrales de 4000 a 675 cm^{-1} y de 2000 a 675 cm^{-1} respectivamente. En la Figura 8 se muestra, con fines de comparación, un espectro de solapamiento de FT-IR que compara los picos de la Forma 2 del Ejemplo 3 con los de la forma 1 cristalina del Ejemplo 2, mostrando las regiones espectrales de 2000 a 675 cm^{-1} .

Espectro de RMN en estado sólido

Se obtuvo un espectro de RMN en estado sólido a una frecuencia de 90,55 MHz para la observación ^{13}C usando una sonda Bruker HFX MAS de 4-mm (rotación de ángulo mágico) a una temperatura de 296K, y a una velocidad de

rotación de 8 kHz. Los datos se adquirieron usando una secuencia de polarización cruzada con supresión de banda lateral. Se adquirieron varias exploraciones, con un retardo de relajación de 10 segundos.

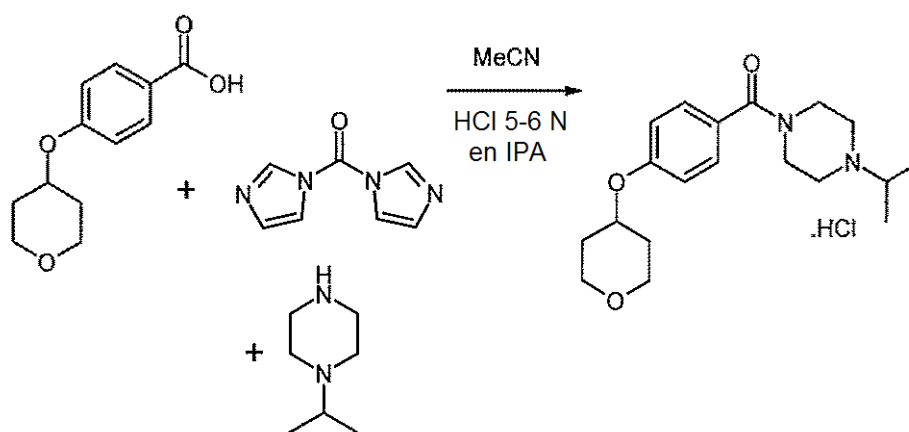
Los desplazamientos químicos para las resonancias observadas para la forma 2 cristalina preparada por el Ejemplo 3 se muestran a continuación (en ppm):

- 5 18,8±0,3, 19,5±0,3, 32,4±0,3, 37,5±0,3, 45,7±0,3, 49,3±0,3, 52,7±0,3, 59,1±0,3, 66,3±0,3, 71,1±0,3, 109,4±0,3, 119,6±0,3, 128,4±0,3, 131,3±0,3, 134,3±0,3, 158,7±0,3 y 167,8±0,3 ppm.

El espectro de RMN en estado sólido para la forma 2 cristalina preparada por el Ejemplo 3, como un solapamiento de comparación con la de la Forma 1 del Ejemplo 2, se ilustra en la Figura 9.

Ejemplo 4

10 Hidrocloruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina



Todos los pesos, volúmenes y equivalentes son con respecto al ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico.

- 15 Se añade en porciones ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico (10 g, 1 partes en peso, 1 vol, 1 equivalente molar) (precaución, desprendimiento de gas) durante 10 minutos a una solución agitada de carbonildiimidazol (CDI, 8,0 g, 0,8 partes en peso, 1,1 equivalentes molares) en acetonitrilo (100 ml, 10 vol) en una atmósfera de nitrógeno a aproximadamente 65°C (temperatura de la camisa a 70°C). Se usa acetonitrilo (1,5 volúmenes, 15 ml) como lavado de la línea para el recipiente del ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico y el embudo se usa para la adición del reactivo. La suspensión resultante se agita a aproximadamente 65°C durante al menos aprox. 2 horas (por ejemplo, aprox. 2-2,5 horas) antes de muestrearse.

- 20 El progreso de la reacción se controla por HPLC. La muestra se prepara inactivando una gota de la mezcla de reacción en 1 ml de solución al 5% de butilamina en acetonitrilo; esto permite la determinación del ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico residual por derivatización del ácido activado-imidazolida para dar la butilamida correspondiente. Esto se registra generalmente como información sólo cuando la homogeneidad de la suspensión puede dar lugar a resultados incoherentes (típicamente <2% de ácido 4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)benzoico residual es satisfactorio en esta etapa).

- 30 Posteriormente, se añade en una porción 1-isopropilpiperazina (0,667 partes en peso, 6,67 g, 1,15 equivalentes molares) a aproximadamente 65°C, seguido de un lavado de la línea con acetonitrilo (0,5 vol, 5 ml). La solución brumosa resultante se mantiene en agitación a aproximadamente 65°C durante al menos aprox. 2 horas (por ejemplo, aprox. 2-2,5 horas) antes de muestrearse. El progreso de la reacción se controla por HPLC, usando el método indicado anteriormente.

- 35 Después, la reacción se deja enfriar y el material insoluble se retira por filtración. Después, la solución aclarada se concentra por destilación al vacío hasta 2,5 a 3 volúmenes y se añade agua al 5% en isopropanol (5 volúmenes, 50 ml) a temperatura ambiente. Después, la solución se calienta a aproximadamente 65°C y se añade en una carga HCl 5-6N en isopropanol (0,9 volúmenes). La cristalización puede comenzar poco después de la adición. La suspensión resultante se deja envejecer a 65°C durante 1,5 horas. Después, la suspensión se enfría a 55°C durante aprox. 20 min y se mantiene a 55°C durante 1,5 horas, después se enfría a 45°C durante aprox. 20 min y se mantiene a 45°C

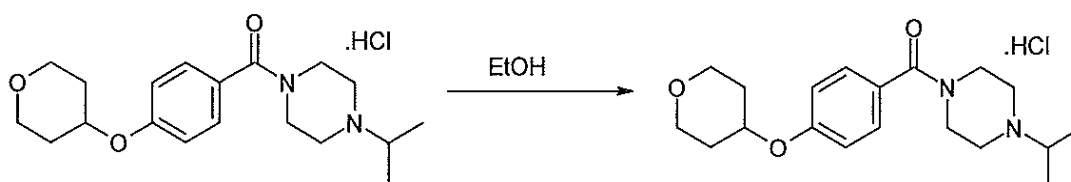
durante 1,5 horas, y después se enfría a temperatura ambiente y el sólido se retira por filtración (1 hora en total); el tiempo de refrigeración total es, por lo tanto, de aproximadamente 4,5 a 4,75 horas.

El hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina sólido, aislado por filtración, se lava con 4 volúmenes de isopropanol y se seca al vacío a 50°C, por ejemplo durante una noche.

- 5 Actualmente se cree que el proceso descrito anteriormente produce la forma 2 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina.

Ejemplo 5

Recristalización de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina



10 Breve Descripción del Proceso

Todos los pesos, volúmenes ("vol") y equivalentes son con respecto al hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina.

- Una suspensión de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (1 parte en peso, por ejemplo, puede prepararse como se ha descrito en el Ejemplo 1 Método D) en etanol (50 vol) se calienta a reflujo y se agita hasta que se forma una solución. Esta solución se enfría a 65±3°C y se aclara. Se añade un lavado de línea de etanol caliente (3 vol) y la solución se enfría a 58±3°C. Se añade un gránulo de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (0,01 partes en peso) y la suspensión resultante se agita a 58±3°C durante 30 min. Después, la suspensión se enfría a 0±3°C durante 2 horas antes de dejarse envejecer a esta temperatura durante 1 hora. Después, el sólido se retira por filtración al vacío y se lava con etanol frío (3 vol). El producto se seca al vacío a 40°C hasta que se alcanza una temperatura de la sonda constante.

Descripción Detallada del Proceso

1. Añadir hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (1 parte en peso, 140 g, por ejemplo, puede prepararse como se ha descrito en el Ejemplo 1 Método D) al Reactor 1.
2. Purgar el reactor con nitrógeno.
- 25 3. Añadir etanol (50 vol, 7100 ml).
4. Calentar a la temperatura de reflujo y agitar hasta que se forme una solución.
5. Esta solución se enfría a 65±3°C.
6. El contenido del Reactor 1 se transfiere al Reactor 2 mediante una bomba peristáltica equipada con una tubería de silicona y un filtro en línea de 5 micrómetros.
- 30 7. Añadir etanol al Reactor 1 (3 vol, 420 ml) y calentar a 65±3°C.
8. El contenido del Reactor 1 se transfiere al Reactor 2 como para la etapa 6.
9. La solución se enfría a 58±3°C.
10. Se añade un gránulo de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (0,01 partes en peso) y la suspensión resultante se agita a 58±3°C durante 30 min.
- 35 11. Después, la suspensión se enfría a 0±3°C durante 2 horas antes de dejarse envejecer a esta temperatura durante 1 hora.

12. Después, el sólido se retira por filtración al vacío y se lava con etanol frío (3 vol).
13. El producto se seca al vacío a 40°C hasta que se alcanza una temperatura de la sonda constante.
14. El producto se obtiene generalmente en forma de un sólido de color blanco.

DATOS BIOLÓGICOS

- 5 Se puede producir una preparación de membranas que contiene receptores H3 de histamina de acuerdo con los siguientes procedimientos:

(i) Generación de una línea celular con receptores H3 de histamina

Se clonó ADN codificante del gen del receptor H3 humano de histamina (Huvar, A. *et al.* (1999), *Mol. Pharmacol.* **55(6)**, 1101-1107) en un vector de sujeción, pCDNA3,1 TOPO (InVitrogen) y se aisló su ADNc a partir de este vector por digestión con enzimas de restricción del ADN plasmídico con las enzimas BamH1 y Not-1 y se acopló en el vector de expresión inducible pGene (InVitrogen) digerido con las mismas enzimas. Se realizó el sistema GeneSwitch™ (un sistema en el que la expresión transgénica se desconecta en ausencia de inductor y se conecta en presencia de inductor) como se describe en las Patentes de Estados Unidos N°: 5.364.791; 5.874.534; y 5.935.934. El ADN ligado se usó para transformar células bacterianas *E. coli* DH5α competentes y se cultivaron en agar de caldo Luria (LB) conteniendo Zeocin™ (un antibiótico que permite seleccionar células que expresan el gen *sh ble* que está presente en pGene y pSwitch) a 50 µg ml⁻¹. Las colonias que contenían el plásmido reacoplado se identificaron por análisis de restricción. El ADN para la transfección en células de mamíferos se preparó a partir de cultivos de 250 ml de la bacteria hospedadora que contiene el plásmido pGeneH3 y se aisló utilizando un kit de preparación de ADN (Qiagen Midi-Prep) siguiendo las normas del fabricante (Qiagen).

Células CHO K1 previamente transfectadas con el plásmido regulador pSwitch (InVitrogen) se sembraron a razón de 2x10⁶ células por matraz T75 en medio completo, que contenía medio Hams F12 (GIBCOBRL, Life Technologies) enriquecido con suero bovino fetal dializado al 10% en v/v, L-glutamina, e higromicina (100 µg ml⁻¹), 24 horas antes de su uso. Se transfectó ADN plasmídico en las células utilizando Lipofectamina plus de acuerdo con las instrucciones del fabricante (InVitrogen). 48 horas después de la transfección, se pusieron las células en medio completo enriquecido con 500 µg ml⁻¹ de Zeocin™.

10-14 días después de la selección, se añadió Mifepristone 10 nM (InVitrogen) al medio de cultivo para inducir la expresión del receptor. 18 horas después de la inducción, se despegaron las células del matraz utilizando ácido etilendiamintetraacético (EDTA; 1:5000; InVitrogen), y seguidamente con varios lavados con disolución salina tamponada con fosfato, pH 7,4, y se resuspendieron en medio de clasificación que contenía medio esencial mínimo (MEM), sin rojo de fenol y enriquecido con sales de Earle y Clon Fetal II al 3% (Hyclone). Se examinaron aproximadamente 1x 10⁷ células en busca de la expresión del receptor por tinción con anticuerpo policlonal de conejo, 4a, generado contra el dominio N-terminal del receptor H3 de histamina, que se incubaron sobre hielo durante 60 minutos y seguidamente se lavaron dos veces en medio de clasificación. El anticuerpo unido al receptor se detectó por incubación de las células durante 60 minutos en hielo con un anticuerpo anti-conejo de cabra, conjugado con el marcador de fluorescencia Alexa 488 (Molecular Probes). Después de dos lavados más con medio de clasificación, las células se filtraron a través de un Filcon™ (BD Biosciences) 50 µm y después se analizaron sobre un citómetro de flujo FACS Vantage SE provisto de una unidad de depósito automático de células. Las células utilizadas como control eran células no inducidas tratadas de manera similar. Las células teñidas positivamente se clasificaron como células individuales en placas de 96 pocillos, que contenían medio completo que contenía Zeocin™ 500 µg ml⁻¹ y se dejaron expandir antes del reanálisis en busca de la expresión del receptor mediante estudios de unión de anticuerpos y ligandos. Se seleccionó un clon, 3H3, para la preparación de membranas.

(ii) Preparación de membranas a partir de células cultivadas

Todas las etapas del protocolo se llevan a cabo a 4°C y con reactivos previamente enfriados. El sedimento de células se resuspende en 10 volúmenes de tampón de homogeneización (ácido N-2-hidroxiethylpiperazin-N'-2-etanosulfónico (HEPES) 50 mM, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 1 mM, pH 7,4 con KOH, que contiene leupeptina 10e-4 M (acetil-leucil-leucil-arginal; Sigma L2884) y 25 g/ml de bacitracina (Sigma B0125)) suplementada con fluoruro de fenilmetilsulfonilo (PMSF) y pepstain A 2x10⁻⁶ M (Sigma). Después, las células se homogeneizan en 2 golpes de 15 segundos en un mezclador Waring de vidrio de 1 litro, y seguidamente se centrifugan a 500 g durante 20 minutos. Después se centrifuga el sobrenadante a 48,000 g durante 30 minutos. El sedimento se resuspende en tampón de homogeneización (4X el volumen del sedimento de células original) por agitación vorticial durante 5

segundos, y después haciéndose pasar por una jeringa a través de una aguja con un diámetro interno de 0,6 mm. En este punto, la preparación se reparte en alícuotas en tubos de polipropileno que se conservan a -80° C.

(iii) Generación de una línea celular con receptores H1 de histamina

5 El receptor H1 humano se clonó generalmente usando procedimientos conocidos descritos en la bibliografía [Biochem. Biophys. Res. Commun. 1994, 201(2), 894]. Se generaron células de ovario de hámster chino que expresaban de manera estable el receptor H1 humano generalmente de acuerdo con procedimientos conocidos descritos en la bibliografía [Br. J. Pharmacol. 1996, 117(6), 1071].

El compuesto de la invención o su sal farmacéuticamente aceptable puede ensayarse con respecto a la actividad biológica in vitro de acuerdo con los siguientes ensayos:

10 **(I) Ensayo de antagonista funcional de histamina H3**

Para cada compuesto que se está ensayando, en una placa de 384 pocillos maciza de color blanco, se añade:-

(a) 0,5 µl (0,5 ul) de compuesto de ensayo diluido hasta la concentración requerida en DMSO (o 0,5 µl (0,5 ul) de DMSO como control);

15 (b) 30µl (30 ul) de mezcla de perlas/membrana/GDP preparada mezclando perlas de ensayo de centelleo por proximidad (SPA) LeadSeeker® de poliestireno con aglutinina de germen de trigo (WGA PS LS) con membrana (preparada, por ejemplo, de acuerdo con la metodología descrita anteriormente) y una concentración final 10 µM (10 uM) de guanosina 5' difosfato (GDP), y diluyendo en tampón de ensayo (ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etanosulfónico (HEPES) 20 mM + NaCl 100 mM + MgCl₂ 10 mM, NaOH pH 7,4) para dar un volumen final de 30 µl (30 ul) que contiene 5 µg (5 ug) de proteína y 0,25 mg de perla por pocillo, e incubando a temperatura ambiente durante 60 minutos en un rodillo;

20 (c) 15 µl (15 ul) de [³⁵S]-GTPγS 0,38 nM ([³⁵S]-GTP-gamma-S) (Amersham; concentración de radiactividad = 37 MBq/ml; actividad específica = 1160 Ci/mmol), histamina (a una concentración que da como resultado que la concentración final de análisis de histamina sea EC₈₀). La placa se cierra herméticamente y después de 2-6 horas, la placa se centrifuga durante 5 min a 1500 rpm y se cuenta en un contador Viewlux usando un filtro 613/55 durante 5 min/placa. Los datos se analizan utilizando una ecuación logística de 4 parámetros. Como mínimo se usa la actividad basal, es decir, cuando al pocillo se ha añadido el antagonista de histamina H3 yodofenpropit (30 uM, 0,5 ul).

(II) Ensayo de antagonista funcional de histamina H1

30 Se mantuvieron en cultivo células de ovario de hámster chino (CHO) adherentes que expresaban de manera estable el receptor H₁ humano recombinante a 37°C en una atmósfera con 5% de CO₂ en medio esencial mínimo Alpha sin ribonucleósidos (Gibco Invitrogen), suplementado con suero bovino fetal dializado al 10% y glutamina 200 mM. Estas células, que expresan el receptor H1 humano, se congelaron de manera inmediata y se almacenaron listas para el ensayo.

35 24 o 72 horas antes del ensayo las células se sembraron en placas de 384 pocillos de paredes negras y de fondo transparente a una densidad de 12,000 ó 4,000 células por pocillo (respectivamente) y se cultivaron a 37°C en una atmósfera con 5% de CO₂. Las densidades de siembra de las células produjeron una monocapa confluyente de células en un punto de tiempo de aproximadamente 24 horas para 12 000 células o 72 horas para 4 000 células. El medio se aspiró y las células después se incubaron con medio HBSS (CaCl₂·2H₂O 1,26 mM, Glucosa 5,55 mM, KCl 5,36 mM, MgSO₄ (anhid.) 0,81 mM, NaCl 136,89,mM, KH₂PO₄ (anhid.) 0,41 mM, HEPES 20 mM, NaHCO₃ 4,16 mM) que contenía el indicador de calcio citoplásmico, Fluo-4 en la forma acetilmetilo (4 mM), Probenecid 2,5 mM y Negro Brillante (Brilliant Black) 250 uM (Molecular Devices) a 37°C durante 60 min. Las células cargadas después se incubaron con compuesto de ensayo durante 30 min a 37°C. Las placas después se pusieron en un FLIPR (Molecular Devices, Reino Unido) para el ensayo en modo antagonista, donde se añadió una concentración predeterminada de histamina (aproximadamente 4xCE50) mientras se controlaba la fluorescencia de las células (λ_{ex} 488 nm, λ_{em} 540 nm).

45 El antagonismo funcional lo indica una supresión del aumento en la fluorescencia inducido por histamina, según se mide mediante el sistema FLIPR™ (Molecular Devices). Mediante las curvas de concentración-efecto se determinan las afinidades funcionales utilizando análisis matemáticos farmacológicos convencionales.

Resultados de los ensayos antagonistas funcionales H3 y H1

Se ensayó hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (por ejemplo, el Ejemplo E1) en el ensayo de antagonismo funcional de histamina H3. El resultado se expresa como un valor de pK_i funcional (fpK_i). Un pK_i funcional es el logaritmo negativo de la constante de disociación en equilibrio del antagonista, como se determina en el ensayo de los antagonistas funcionales de H3 utilizando membrana preparada a partir de células cultivadas que expresan H3. El resultado proporcionado es una media de varios experimentos. El hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (por ejemplo, el Ejemplo E1) presentó antagonismo con un valor de fpK_i de aproximadamente 7,6 (como la media de 27 experimentos), con un intervalo de fpK_i observado de 6,9 a 8,2.

El hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (por ejemplo, el Ejemplo E1) se ensayó en el ensayo de antagonista funcional de histamina H1 o un ensayo de antagonista funcional H1 similar. De nuevo, el resultado se expresa como un valor de pK_i funcional (fpK_i) y es una media de varios experimentos. El hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (por ejemplo, Ejemplo E1) presentó un antagonismo de aproximadamente < 5,6 fpK_i.

15 Estudios de unión ex vivo - ocupación del receptor H3 de histamina en cerebro de rata

Se realizaron estudios de unión ex vivo para determinar la ocupación del receptor H3 de histamina en cerebro en ratas a ciertos puntos de tiempo después de la administración oral de un compuesto de ensayo.

Ratas adultas macho (Lister encapuchadas 200-250 g, Charles River, UK) recibieron vehículo (metilcelulosa acuosa al 1% p/v) (control) o el compuesto de ensayo (10 mg/kg) por sonda oral (n=3 por grupo) y se sacrificaron 1 ó 4 horas después de la dosificación oral. Los estudios de 1 hora y 4 horas no se realizaron necesariamente el mismo día. Se recogieron muestras de sangre terminales y rápidamente se retiraron los cerebros. Se diseccionó el tejido de la corteza cerebral de la mitad de cada cerebro para la unión ex vivo; la otra mitad de cerebro puede usarse para el análisis farmacocinético de concentraciones cerebrales de cada compuesto. Todas las muestras de tejido diseccionado se congelaron inmediatamente en nitrógeno líquido, y se almacenaron a -80°C hasta el uso. Los tejidos se descongelaron rápidamente y se homogeneizaron en aproximadamente 30 volúmenes de tampón de reacción de ensayo enfriado con hielo. El tampón de reacción de ensayo contenía Tris-HCl 50 mM (constituido usando cristales pre-establecidos Trizma de pH 7,7 a 25°C, Sigma N° de cat. T8068-250G) y EDTA 5 mM, con un pH final de tampón de 7,2 a 7,8, normalmente de aproximadamente 7,4. El homogeneizado bruto (600-800 µg/pocillo) después se usó para medir la unión al receptor H3 usando [³H]-R-α-metilhistamina como radioligando. Los ensayos que medían la unión total de [³H]-R-α-metilhistamina consistían en 50 µl de tampón de reacción de ensayo, 400 µl de homogeneizado (correspondiente a 600-800 µg/pocillo) y 50 µl de hidrocloreto de R(-)-α-Metilimidazol-2,5(n)-³H]histamina 2 nM ([³H]-R-α-metilhistamina; actividad específica, 24 Ci mmol⁻¹, Amersham Biosciences, n° de catálogo TRK1017). Las incubaciones con [³H]-R-α-metilhistamina se realizaron durante 45 min a 30°C. Se determinó en paralelo la unión no específica de [³H]-R-α-metilhistamina usando el mismo ensayo con la excepción de que se usaron 50 µl de imetit 10 µM (un agonista del receptor H3, por ejemplo, disponible en Tocris) en lugar de los 50 µl de tampón de reacción de ensayo. Los experimentos se terminaron por medio de filtración rápida a través de filtros Whatman GF/B (pre-humedecidos en polietilenoimina (PEI) al 0,3% v/v), y después los filtros se lavaron minuciosamente con 4 x 5 ml de tampón de recolección enfriado con hielo. El tampón de recolección contenía Tris-HCl 50 mM (de cristales pre-establecidos Trizma pH 7,7 a 25°C) y MgCl₂ 5 mM con un pH final de tampón de 7,2 a 7,8, normalmente de aproximadamente 7,4. Los filtros se secaron y se añadieron a viales que contenían, cada uno, 4 ml de líquido de centelleo Ultima Gold MV (Hewlett Packard) y la radiactividad se determinó por espectrometría de centelleo de líquidos usando un contador de centelleo de líquidos Packard Tri-Carb 2500TR.

La unión específica de la [³H]-R-α-metilhistamina al receptor H3 se determinó restando del valor obtenido para la unión total el valor obtenido para la unión no específica.

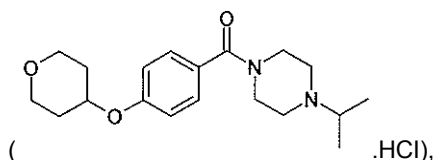
Las concentraciones de proteína se determinaron usando el método de ensayo de Bradford (Bio-Rad Protein Assay Dye Reagent Concentrate, n° de catálogo 500-0006; de Bio-Rad Laboratories GmbH, Heidemannstrasse 164, 80939 Muenchen, Alemania; o de Bio-Rad, York, UK) con albúmina de suero bovino como patrón. La radiactividad específica en las muestras se corrigió para las proteínas (es decir, por microgramo de proteína).

La unión específica de [³H]-R-α-metilhistamina al receptor H3 se expresa como una media (n = 3 ratas) ± SEM (error típico de la media), como un porcentaje de los animales de control tratados con vehículo. Los datos también se expresan como inhibición de la unión específica de [³H]-R-α-metilhistamina al receptor H3, como una medida

sustituta para la ocupación del receptor H3 por el compuesto de ensayo, calculada como 100% menos el % de unión específica media de [³H]-R- α -metilhistamina al receptor H3.

Resultados de estudios de unión ex vivo en rata

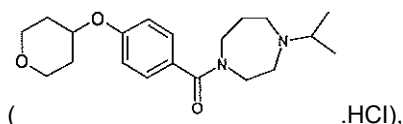
En el caso del hidrocloreuro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina



dentro de la presente invención, administrado por vía oral a ratas (n = 3) a 10 mg/kg, y con las ratas sacrificadas 1 hora después de la dosificación oral, se determinó que la unión específica de [³H]-R- α -metilhistamina al receptor H3 era de 40% \pm 2% (% de control). Por lo tanto, la inhibición de la unión específica de [³H]-R- α -metilhistamina al receptor H3 era de aproximadamente 60%, como una medida sustituta de la ocupación del receptor H3 de cerebro de rata por el compuesto de ensayo 1 hora después de la dosificación de 10 mg/kg por vía oral.

En el caso del hidrocloreuro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, dentro de la presente invención, administrado por vía oral a ratas (n = 3) a 10 mg/kg, y con las ratas sacrificadas 4 horas después de la dosificación oral, se determinó que la unión específica de [³H]-R- α -metilhistamina al receptor H3 era de 84% \pm 6% (% de control). Por lo tanto, la inhibición de la unión específica de [³H]-R- α -metilhistamina al receptor H3 era de aproximadamente 16%, como una medida sustituta de la ocupación del receptor H3 de cerebro de rata por el compuesto de ensayo 4 horas después de la dosificación de 10 mg/kg por vía oral.

En el caso del hidrocloreuro de 1-(isopropil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]hexahidro-1H-1,4-diazepina



un compuesto comparador, administrado por vía oral a ratas (n = 3) a 10 mg/kg, y con las ratas sacrificadas 1 hora después de la dosificación oral, se determinó que la unión específica de [³H]-R- α -metilhistamina al receptor H3 era de 40% \pm 4% (% de control). Por lo tanto, la inhibición de la unión específica de [³H]-R- α -metilhistamina al receptor H3 era de aproximadamente 60%, como una medida sustituta de la ocupación del receptor H3 de cerebro de rata por el compuesto de ensayo 1 hora después de la dosificación de 10 mg/kg por vía oral.

En el caso del hidrocloreuro de 1-(isopropil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]hexahidro-1H-1,4-diazepina, un compuesto comparador, administrado por vía oral a ratas (n = 3) a 10 mg/kg, y con las ratas sacrificadas 4 horas después de la dosificación oral, se determinó que la unión específica de [³H]-R- α -metilhistamina al receptor H3 era de 88% \pm 6% (% de control). Por lo tanto, la inhibición de la unión específica de [³H]-R- α -metilhistamina al receptor H3 era de aproximadamente 12%, como una medida sustituta de la ocupación del receptor H3 de cerebro de rata por el compuesto de ensayo 4 horas después de la dosificación de 10 mg/kg por vía oral.

Estudios de antagonista de receptor H3 de histamina "PET en cerdo", usando Tomografía de Emisión de Positrones (PET) en el cerdo de la raza Yorkshire-Land: perfiles de ocupación de receptores H3 en cerebro a lo largo del tiempo

Estos estudios, y los resultados de los mismos, se ilustran en parte por las Figuras 10, 11, 12, 13 y 14 adjuntas, ya descritas brevemente.

Teoría de la Tomografía de Emisión de Positrones (PET)

PET es una técnica nuclear de formación de imágenes que permite la medición de la distribución en cuatro dimensiones (tres del espacio y una del tiempo) de un agente radiofarmacéutico en el cuerpo vivo. Una molécula bioactiva (que se une al receptor de interés, en el presente caso el receptor H3 de histamina) se modifica cambiando uno de sus átomos por núcleos de emisión de positrones (por ejemplo, ¹⁵O, ¹¹C, ¹⁸F, etc.). La molécula radiactiva (agente radiofarmacéutico) después se inyecta por vía intravenosa en el sujeto. En teoría, un átomo de emisión de

positrones experimenta desintegración radiactiva por medio de la liberación de un positrón de su núcleo. Generalmente, después de varias interacciones con el entorno, el positrón pierde energía cinética e interacciona con un electrón por aniquilación. La aniquilación da como resultado dos fotones de alta energía (2 x 511 keV) emitidos a 180° entre sí. El par de fotones de alta energía generado por la aniquilación de positrones-electrones, emitidos a 180°, puede detectarse externamente. Un anillo de detectores de cristales en el explorador PET detecta la presencia de dos fotones generados simultáneamente y registra datos para los dos pares de detectores que detectaron los dos fotones, permitiendo la localización de la actividad. Esto generalmente se hace millones de veces durante el transcurso de una exploración PET. Se generan imágenes 3D subsecuencialmente usando técnicas de reconstrucción tomográficas. La naturaleza de PET es intrínsecamente cuantitativa, por lo tanto, la distribución tridimensional del agente radiofarmacéutico puede expresarse en unidades de Bq/ml o nM usando la actividad específica (SA) del agente radiofarmacéutico.

Medición de la Ocupación del Receptor In Vivo con PET

La ocupación del receptor por un compuesto de ensayo no radiomarcado ("candidato de fármaco") puede medirse indirectamente midiendo la reducción de la unión específica del radioligando como consecuencia de una unión competitiva (Figura 10). Como muestra la figura 10, la ocupación del candidato de fármaco puede medirse indirectamente por medio de la reducción en la unión específica del radioligando a receptores. B_A es la concentración de sitios receptores disponibles. Se indica cómo cambia B_A entre el momento inicial y 10 min, 2,5 horas y 6 horas después de la administración del compuesto de ensayo, como consecuencia de la presencia de diferentes concentraciones del candidato de fármaco en el tejido.

Se realiza una exploración basal donde al sujeto se le administra una pequeña masa del radioligando (en el intervalo de μg de tal forma que la auto-ocupación del radioligando sea mínima, < 10%). Usando curvas regionales de actividad en el tiempo a partir de una región diana y una región de referencia (área desprovista de sitios de unión específica) y un modelo matemático es posible estimar el potencial de unión, BP_{ND} , que es proporcional a la concentración de receptor B_A disponible de cada región diana. Después de la exploración basal, al sujeto se le administra el candidato de fármaco no marcado y se adquieren exploraciones posteriores en los puntos de tiempo de interés y se estiman los potenciales de unión. La ocupación del candidato de fármaco en diferentes puntos de tiempo se calcula como el porcentaje de cambio de las mediciones de potencial de unión con respecto al valor basal (J. Passchier, A. Gee, A. Willemsen, W. Vaalburg y A. van Waarde, "Measuring drug-related receptor occupancy with positron emission tomography," *Methods*, 2002, vol. 27, páginas 278-286).

Estudios PET preclínicos en el Cerdo Yorkshire-Landrace

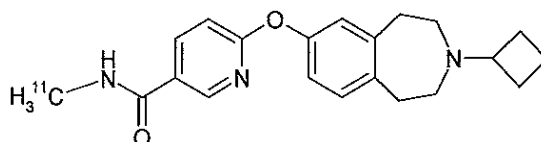
La evolución a lo largo del tiempo de la ocupación del receptor H3 (RO) de:

hidrocloruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina ("sal A", dentro de la presente invención), e

hidrocloruro de 1-(isopropil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]hexahidro-1H-1,4-diazepina ("sal B", un compuesto comparador)

se midió en el cerdo Yorkshire-Landrace usando el antagonista selectivo del receptor H3 [^{11}C]GSK189254 y PET.

[^{11}C]GSK189254 es [^{11}C -N-metil]-6-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)-nicotinamida, cuya estructura es



y/o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma. Véase en la página 5 línea 8 a la página 6 línea 11 del documento WO 2006/072596 A1 (Glaxo Group Limited), Ejemplo 1 (Compuesto A), la preparación de [^{11}C]GSK189254 por medio de la reacción de 6-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahydro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)-nicotinamida con [^{11}C]yoduro de metilo a 130°C en dimetilsulfóxido en presencia de fluoruro de tetrabutilamonio, seguido de purificación por HPLC. Véase, por ejemplo, en la página 7 línea 32 a la página 9 línea 2 del documento WO 2006/072596 A1 el uso de [^{11}C]GSK189254 en estudios de formación de imágenes por PET (cerdo).

Estudios de Cerdo-PET usando hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina ("sal A")

5 Se sometieron cerdos Yorkshire-Landrace (n = 3, peso del cerdo de aproximadamente 38±1 kg) a cuatro exploraciones PET en el mismo día, como se muestra en el protocolo de PET de cerdo ilustrado en la Figura 11, con anestesia (inducción con ketamina-midazolam + mantenimiento con isoflurano).

10 El radioligando [¹¹C]GSK189254 se sintetizó inmediatamente antes de cada exploración PET. El producto de reacción que contenía [¹¹C]GSK189254 bruto se sometió a purificación por HPLC usando una columna C₁₈ de fase inversa (Waters, X-terra® RP18, 19 x 100 mm, 5 mm) a un caudal de 10 ml/min con una fase móvil que consistía en 17% de acetonitrilo en una solución tampón acuosa 0,1 N de formiato amónico a un valor de pH de 4. La fracción de producto que contenía [¹¹C]GSK189254 recogida se concentró al vacío para retirar el acetonitrilo y se reformuló en solución acuosa de cloruro sódico al 0,9%.

15 Para cada exploración PET, el radioligando [¹¹C]GSK189254, en el vehículo mencionado anteriormente que era eficazmente una mezcla de tampón formiato amónico acuoso y solución salina, se administró por vía intravenosa (i.v.) durante aproximadamente 1 minuto como una inyección en embolada. Se inyectaron menos de 2 microgramos de masa total de [¹¹C]GSK189254, inyectándose una dosis total media menor de 53 ng/kg para un peso de cerdo de aproximadamente 38±1 kg. La cantidad de radiactividad inyectada en cada cerdo por medio de [¹¹C]GSK189254 fue generalmente de aproximadamente 250 a aproximadamente 400 MBq (idealmente aproximadamente 300 MBq). El volumen de [¹¹C]GSK189254 + vehículo inyectado por cerdo depende del rendimiento obtenido a partir de la última purificación por HPLC, pero generalmente variaba de aproximadamente 2 a aproximadamente 11 ml.

20 Se registraron los datos de concentración de actividad en sangre y tejidos durante 90 minutos.

25 Después de la exploración basal, se administró hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina ("sal A", 50 µg/kg, 50 microgramos/kg) (1 ml en un vehículo de solución salina acuosa) por vía intravenosa por inyección manual en embolada durante aproximadamente 1 minuto. Las posteriores adquisiciones de PET se iniciaron a 10, 150 y 360 minutos después de la administración de la sal A. En las muestras de sangre arterial se ensayó la actividad plasmática de [¹¹C]GSK189254 y las concentraciones plasmáticas de metabolitos y de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina.

Estudios de PET en cerdo usando hidrocloreto de 1-(isopropil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]hexahidro-1H-1,4-diazepina ("sal B")

30 Se repitió sustancialmente el mismo procedimiento experimental usando hidrocloreto de 1-(isopropil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]hexahidro-1H-1,4-diazepina ("sal B", 50 µg/kg, 50 microgramos/kg en un vehículo) en cerdos Yorkshire-Landrace (n = 3, peso de cerdo de aproximadamente 38±1 kg).

Mediciones de Unión Potencial y Ocupación

35 Se alinearon imágenes de PET en un atlas estereotáxico y se obtuvieron curvas regionales de actividad frente al tiempo para las regiones diana de interés (corteza frontal, hipocampo, putamen, núcleo caudado, diencéfalo, tálamo medio, tálamo lateral, vermis, puente, mesencéfalo y médula oblonga). Se ajustó el modelo de tejido de referencia simplificado (SRTM) (A.A. Lammertsma y S. P. Hume, "Simplified reference tissue model for PET receptor studies," *Neuroimage*, 1996, vol. 4, páginas 153-158) a cada curva regional de actividad frente al tiempo usando el cerebelo como región de referencia:

40
$$C_t(t) = R_1 C_r(t) + \left[k_2 - \frac{R_1 k_2}{1 + BP_{ND}} \right] C_r(t) \otimes e^{-\frac{k_2 t}{1 + BP_{ND}}}$$

45 donde $C_t(t)$ es la concentración de actividad en la región diana, $C_r(t)$ es la concentración de actividad en la región de referencia (cerebelo), R_1 es la relación de entrada (K_1) entre la región diana y la región de referencia, k_2 es la constante de velocidad de salida de tejido-plasma en la región diana, y BP_{ND} es el potencial de unión de la región diana. Además, el potencial de unión puede definirse como

$$BP_{ND} = f_{ND} \frac{B_A}{K_d}$$

5 donde f_{ND} es la fracción sin radioligando en tejido, B_A es la concentración disponible de sitios de unión y K_d es la constante de disociación en equilibrio del complejo de radioligando-receptor.

La ocupación del receptor puede calcularse como el porcentaje de cambio en BP_{ND} entre la exploración basal y la posterior a la administración de fármaco (J. Passchier, A. Gee, A. Wiliemsen, W. Vaalburg y A. van Waarde, "Measuring drug-related receptor occupancy with positron emission tomography," *Methods*, 2002, vol. 27, páginas 278-286):

10

$$Occ = \left[\frac{BP_{ND}^{basal} - BP_{ND}^{fármaco}}{BP_{ND}^{basal}} \right] \times 100$$

15 en el caso de [^{11}C]GSK189254, el cerebelo no es una verdadera región de referencia ya que existe una pequeña señal específica en esta región. Esto puede corregirse usando una estimación en la población del potencial de unión en cerebelo (BP_{ND}^{ref}) y la ecuación

$$Occ^{corregida} = Occ \cdot \left[\frac{1 + BP_{ND}^{ref}}{1 + BP_{ND}^{ref} Occ} \right]$$

Modelado del Perfil de Ocupación

20 El perfil de ocupación temporal a 10,150 y 360 minutos ($Occ(t)$) después de la administración del candidato de fármaco y la concentración plasmática del candidato del fármaco ($C_p(t)$) medidos a lo largo de toda la exploración PET se usaron para obtener estimaciones de parámetros del modelo PK/RO (farmacocinético/ocupación de receptor) (f_p , k_{on} y k_{off}) a partir de un modelo indirecto (modelo limitado k_{on} - k_{off})

25

$$\frac{dOcc(t)}{dt} = f_p k_{on} (1 - Occ(t)) C_p(t) - k_{off} Occ(t)$$

donde k_{on} y k_{off} son, respectivamente, las constantes de velocidad que definen la velocidad con la que el compuesto de ensayo se une o se separa del receptor H3, y f_p es la fracción sin proteína en el plasma del compuesto de ensayo (aquí, sal A o sal B).

30 Este modelo asume que la etapa limitante de la velocidad es la asociación y disociación de receptor-ligando (k_{on} , k_{off}), mientras el intercambio plasma-tejido es suficientemente rápido como para considerarse en equilibrio instantáneo.

Resultados de estudios PET en cerdo

La figura 12, gráfico A, muestra la concentración plasmática promediada (media) a lo largo del tiempo de

hidrocloruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina ("sal A", dentro de la presente invención, círculos rellenos) e hidrocloruro de 1-(isopropil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]hexahidro-1H-1,4-diazepina ("sal B", un compuesto comparador, rombos rellenos).

5 La figura 12, gráfico B, muestra la evolución en el tiempo de la ocupación del receptor H3 medida promediada (media) en tres puntos de tiempo; y el modelo limitado de k_{on} - k_{off} ajustado al mismo para la "sal A" dentro de la presente invención (mediciones como círculos rellenos, y ajuste de modelo como una línea continua), y para la "sal B", un compuesto comparador (mediciones como rombos rellenos y ajuste de modelo como una línea de trazos).

10 La figura 13, partes A y B, son gráficos que muestran los datos de la figura 12 para la sal A sola, que muestran la concentración plasmática promediada (media) a lo largo del tiempo y la evolución en el tiempo de la ocupación del receptor H3 promediada (media), respectivamente, para la "sal A". La figura 13, partes C y D, son gráficos que muestran los datos de la figura 12 para la sal B sola, que muestran la concentración plasmática promediada (media) a lo largo del tiempo y la evolución en el tiempo de la ocupación del receptor H3 promediada (media), respectivamente, para la "sal B".

15 La figura 14 muestra las evoluciones a lo largo del tiempo de la concentración plasmática individual separada y la ocupación del receptor H3, para cada cerdo individual estudiado, para el hidrocloruro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina ("sal A", dentro de la presente invención, gráficos de la izquierda, n=3), y para el hidrocloruro de 1-(isopropil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]hexahidro-1H-1,4-diazepina ("sal B", un compuesto comparador, gráficos de la derecha, n=3).

20 La Tabla 1 muestra los parámetros estimados k_{on} , k_{off} , K_d (k_{off}/k_{on}), y la eliminación plasmática para cada estudio individual (es decir, para cada cerdo individual). La última fila de la Tabla 1 ("modelo promediado") muestra los parámetros estimados derivados de los datos plasmáticos medios y la ocupación media (Figuras 12,13); puede indicarse que estos parámetros de "modelo promediado" parecen estar de acuerdo en general con los parámetros promediados ("medios") estimados individualmente para cada exploración (segunda fila desde la parte inferior).

25 **Tabla 1:** Parámetros de modelo estimado para cada estudio individual (cada cerdo individual) y los parámetros derivados de los datos promediados.

Sal B								
	k_{on} (min^{-1})	k_{off} (min^{-1})	K_d (ng/ml)	Eliminación del plasma (l/h)	k_{on} (min^{-1})	k_{off} (min^{-1})	K_d (ng/ml)	Eliminación del plasma (l/h)
cerdo 1	0,0023	0,0038	1,65	2,9	0,0017	0,0033	1,94	3,6
cerdo 2	0,0033	0,0114	3,45	3,0	0,0024	0,0042	1,75	1,8
cerdo 3	0,0058	0,0286	4,93	1,8	0,0031	0,0039	1,25	2,8
media	0,0038	0,0146	3,35	2,5	0,0024	0,0038	1,65	2,8
modelo promediado	0,0027	0,0091	3,37	2,3	0,0025	0,0045	1,80	2,9

La Tabla 2 muestra la ocupación del receptor H3 medida en tres puntos de tiempo, en cada uno de tres estudios individuales realizados (en cada uno de los tres cerdos individuales estudiados), para cada compuesto de ensayo, sal A y sal B.

30 **Tabla 2:** Ocupación de receptor H3 medida (y ocupación media \pm desviación típica), a 10 minutos, 2,5 horas y 6 horas después de la administración del compuesto de ensayo, en los tres cerdos individuales, para cada compuesto de ensayo, sal A y sal B.

	Ocupación de sal A a			Ocupación de sal B a		
	10 min	2,5 h	6 h	10 min	2,5 h	6 h
cerdo 1	61%	43%	30 %	51%	19%	30 %
cerdo 2	54%	24%	7%	69%	49%	32%
cerdo 3	58%	22%	5 %	68%	43%	38%
Media	58%±4%	30%±11%	14%±14%	63%±10%	37%±16%	33%±4%

Conclusión de estudios PET en cerdo

5 Las mediciones preliminares obtenidas en el cerdo Yorkshire-Landrace (n = 3) por PET y [¹¹C]GSK189254 parecen
indicar una reducción generalmente más rápida de la ocupación del receptor H3 en cerebro de cerdo del hidrocloreto
de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina ("sal A", dentro de la presente invención),
en comparación con el hidrocloreto de 1-(isopropil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]hexahidro-1H-1,4-
diazepina ("sal B", un compuesto comparador), en las condiciones ensayadas (es decir, después de la
10 administración intravenosa de 50 microgramos/kg del compuesto de ensayo a los cerdos, y en las otras condiciones
indicadas).

La reducción aparentemente más rápida en la ocupación del receptor H3 de cerebro de cerdo por la sal A, dentro de
la presente invención, en comparación con el comparador, sal B, se ve en los estudios 2 y 3 (es decir, los cerdos 2 y
3) ensayados con la sal A, pero aparentemente no en el estudio 1 (es decir, el cerdo 1) ensayado con la sal A, como
se ilustra en la Tabla 2 mostrada anteriormente.

15 **Estudio de Toxicidad 1: Toxicidad de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina en un estudio de dosis orales repetidas de 7 días en ratas Sprague Dawley macho**

Diseño del Estudio de Toxicidad 1

20 El objetivo de este estudio fue determinar la toxicidad de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, y la toxicocinética del hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (medido como la base libre), en un estudio de dosis orales repetidas de 7 días en ratas Sprague Dawley.

25 Se formuló hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahidro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina como una suspensión en metilcelulosa acuosa al 1% (p/v) y se administró a ratas macho (cuatro por grupo), a dosis de 0 (vehículo, control), 30, 100 ó 300 mg/kg/día durante 7 días por medio de una sonda oral, a un volumen de dosificación de 10 ml/kg. Se añadieron tres ratas macho a cada nivel de dosificación no cero para la evaluación toxicocinética. Todas las dosis y concentraciones, incluyendo la concentración de analito en plasma, se expresan en términos del compuesto de "base libre" parental.

30 Se evaluaron los siguientes criterios de valoración/parámetros en los animales de toxicología: observaciones clínicas, pesos corporales, mediciones de consumo de alimento, resultados seleccionados de hematología y resultados de química clínica seleccionados, pesos de hígado, observaciones macroscópicas y microscópicas seleccionadas, y análisis de expresión de genes hepáticos seleccionados. Se realizó una evaluación toxicocinética (perfilado en serie) sobre muestras recogidas a partir de animales satélite los días 1 y 7. En las ratas a las que se les administraron 30 ó 100 mg/kg/día, sólo se realizaron observaciones histopatológicas en los riñones, mesenterio y ganglio linfático mandibular. En las ratas a las que se les administraron 0 mg/kg/día (control) y 300 mg/kg/día, se realizaron observaciones histopatológicas en las glándulas suprarrenales, cerebro, corazón, riñones, hígado, pulmón, ganglio linfático mandibular, mesenterio, estómago, testículos y timo (con la excepción de que las observaciones en los ganglios linfáticos mandibulares se realizaron sólo en las ratas a las que se administraron 0 mg/kg/día).

40

Sumario de resultados principales del Estudio de Toxicidad 1

- Se observaron una reducción del aumento del peso corporal (aprox. 0,38 x control) y del consumo de alimentos (aprox. 0,80 x pretratamiento) en ratas macho a dosis de 300 mg/kg/día.
- Se vio un aumento del peso corporal (aprox. 1,43 x control de media) en ratas macho a 100 mg/kg/día.
- 5 - Se detectó un infiltrado periarterial de células inflamatorias, de gravedad mínima, en la región hilar de los riñones de cuatro ratas macho tratadas con dosis de 300 mg/kg/día, y fue unilateral (2 de 4 rata) o bilateral (2 de 4 ratas). Este descubrimiento no se detectó en arterias mesentéricas, ni en ninguna de las otras arterias examinadas, y su significado está poco claro.
- Se examinaron los riñones de ratas macho dosificadas a 0 (vehículo), 30 y 100 mg/kg/día; no se encontró infiltrado alrededor de la arteria hilar renal de células inflamatorias a estas dosis.
- 10 - Las concentraciones de colesterol se redujeron ligeramente (aprox. 0,65 x control de media) en ratas macho a una dosificación de 300 mg/kg/día.
- En las ratas macho se observó un frotamiento del mentón con el suelo de la jaula, acompañado de movimientos de masticar, a todas las dosis no cero, predominantemente a la dosis de 300 mg/kg/día.
- 15 - Se detectaron ciertas observaciones distintas en ratas macho a dosis de 300 mg/kg/día o a dosis de 100 y 300 mg/kg/día, pero generalmente fueron esporádicas, transitorias y predominantemente ligeras.

En ratas Sprague Dawley macho, la dosificación oral repetida durante 7 días de 30 ó 100 mg/kg/día de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (medido como la base libre) parece tolerarse bien. En ratas Sprague Dawley macho, la dosificación oral repetida durante 7 días de 300 mg/kg/día de esta sal (medida como la base libre) parece tolerarse moderadamente bien.

Estudio de Toxicidad 2: Toxicidad de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina en un estudio de descubrimiento del intervalo de dosificación de 7 días en ratas Sprague Dawley

Se administró hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, formulado como una suspensión en metilcelulosa acuosa al 1% (p/v) a grupos de ratas Sprague Dawley a un volumen de dosificación de 10 ml/kg como se indica a continuación (todas las dosis y las concentraciones se expresan en términos del compuesto "base libre" parental):

- administrado a ratas macho (4 por grupo) a dosis de 0 (vehículo, control) o 600 mg/kg/día una vez al día durante hasta 7 días por medio de una sonda oral (sólo 2 días a 600 mg/kg/día);
- 30 - administrado a ratas hembra (4 por grupo) a dosis de 0 (vehículo, control) o 300 ó 600 mg/kg/día una vez al día durante hasta 7 días por medio de una sonda oral (sólo 2 días a 600 mg/kg/día);

Para la evaluación toxicocinética se añadieron tres ratas macho y tres ratas hembra al grupo de 600 mg/kg/día y se añadieron 3 ratas hembra al grupo de 300 mg/kg/día.

Se evaluaron los siguientes criterios de valoración/parámetros en los animales de toxicología: observaciones clínicas, pesos corporales, consumo de alimento, hematología seleccionada, química clínica seleccionada, pesos de hígado y observaciones macroscópicas y microscópicas seleccionadas. La evaluación toxicocinética se realizó en muestras recogidas el día 1 (dosificación de 300 y 600 mg/kg/día) y el día 7 (dosificación de 300 mg/kg/día solamente).

La dosis de 600 mg/kg/día no se toleró en las ratas Sprague Dawley macho o hembra.

40 Para la dosis de 300 mg/kg/día en ratas hembra:

- los signos clínicos incluyeron movimientos de masticación, frotamiento del mentón con el suelo de la jaula y ciertos signos clínicos distintos;
- aumentaron ciertos parámetros de hematología y otros parámetros de química clínica;

- se redujeron las concentraciones de urea y colesterol (urea aprox 0,81 x control o control de media, y colesterol aprox 0,52 x control o control de media); y

- el peso del hígado aumentó (aprox 1,24 x control o control de media), aunque no parecía haber observaciones macroscópicas o microscópicas relacionadas.

- 5 Se observó una dilatación glandular de la región fúndica del estómago, de gravedad mínima, en la mayoría de las ratas hembra que recibieron dosis de 300 mg/kg/día. Este cambio también estuvo presente en dos controles (un macho y una hembra) y su significado está poco claro en esta fase.

10 En ratas Sprague Dawley hembra, la dosificación oral repetida durante 7 días de 300 mg/kg/día de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina (medido como la base libre) parece tolerarse moderadamente bien.

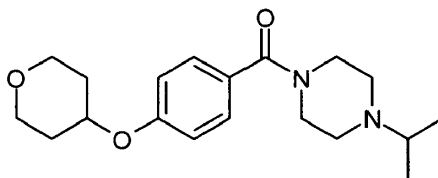
Conclusiones preliminares de los Estudios de Toxicidad 1 y 2

El hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina parece tolerarse bien o moderadamente bien en ratas Sprague Dawley macho y hembra después de 7 días de dosificación oral repetida a dosis de hasta 300 mg/kg/día (medida como la base libre).

15

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que es 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina



5 , o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto o sal de acuerdo con la reivindicación 1, que es hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina.

3. Forma 1 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, caracterizada por un espectro de difracción de rayos X en polvo que tiene cinco o más de los siguientes picos definidos como ángulos en grados dos-theta obtenidos con un difractómetro usando radiación X con cobre K-alfa:

6,4±0,1, 12,7±0,1, 15,4±0,1, 15,7 ± 0,1, 17,1 ± 0,1, 19,1 ± 0,1, 19,7±0,1, 21,9 ± 0,1, 25,5 ± 0,1, 27,0 ± 0,1, y 28,2 ± 0,1 grados dos-theta;

siempre que el espectro de difracción de rayos X de polvo tenga los dos siguientes picos:

15,7 ± 0,1 y 25,5 ± 0,1 grados dos-theta.

4. Forma 1 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, de acuerdo con la reivindicación 3, en la que el espectro de difracción de rayos X en polvo tiene ocho o más de los picos definidos en la reivindicación 3.

5. Forma 1 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, según la reivindicación 3 o 4, caracterizada por un espectro de difracción de rayos X en polvo que tiene los siguientes picos definidos como ángulos en grados dos-theta obtenidos con un difractómetro usando radiación X con cobre K-alfa:

6,4±0,1, 12,7±0,1, 15,4±0,1, 15,7 ± 0,1, 17,1 ± 0,1, 19,1 ± 0,1, 19,7 ± 0,1, 21,9 ± 0,1, 25,5 ± 0,1, 27,0 ± 0,1, y 28,2 ± 0,1 grados dos-theta.

6. Forma 1 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, caracterizada por un espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido de ¹³C que tiene los siguientes desplazamientos químicos para las resonancias: 18,5±0,3, 30,4±0,3, 31,8±0,3, 37,6±0,3, 45,8±0,3, 49,4±0,3, 52,3±0,3, 59,2±0,3, 63,6±0,3, 68,4±0,3, 110,3±0,3, 118,8±0,3, 128,4±0,3, 131,2±0,3, 133,9±0,3, 159,1±0,3 y 167,6±0,3 ppm.

7. Forma 2 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, caracterizada por un espectro de difracción de rayos X en polvo que tiene cinco o más de los siguientes picos definidos como ángulos en grados dos-theta obtenidos con un difractómetro usando radiación X con cobre K-alfa:

6,4±0,1, 12,8±0,1, 15,4±0,1, 19,2 ± 0,1, 19,7 ± 0,1, 20,0 ± 0,1, 21,8 ± 0,1, 21,9 ± 0,1, 23,5 ± 0,1, 24,65 ± 0,1 (o 24,7 ± 0,1), 25,8 ± 0,1, y 27,0 ± 0,1 grados dos-theta;

siempre que el espectro de difracción de rayos X en polvo tenga los dos siguientes picos:

20,0 ± 0,1 grados dos-theta,

y, o bien 24,65 ± 0,1 o 24,7 ± 0,1 grados dos-theta.

8. Forma 2 cristalina de hidrocloreto de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, de acuerdo con la reivindicación 7, en la que el espectro de difracción de polvo de rayos X tiene ocho o más de los picos definidos en la reivindicación 7.

9. Forma 2 cristalina de hidrocloreuro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, caracterizada por un espectro de difracción de rayos X de polvo que tiene los siguientes picos definidos como ángulos en grados dos-theta obtenidos con un difractorómetro usando radiación X con cobre K-alfa:
- 5 6,4 ± 0,1, 12,8 ± 0,1, 15,4±0,1, 19,2 ± 0,1, 19,7±0,1, 20,0±0,1, 21,8±0,1, 21,9 ± 0,1, 23,5 ± 0,1, 24,65 ± 0,1 (o 24,7 ± 0,1), 25,8 ± 0,1, y 27,0 ± 0,1 grados dos-theta.
10. Forma 2 cristalina de hidrocloreuro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina, caracterizada por un espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido de ¹³C que tiene los siguientes desplazamientos químicos para las resonancias: 18,8±0,3, 19,5±0,3, 32,4±0,3, 37,5±0,3, 45,7±0,3, 49,3±0,3, 52,7±0,3, 59,1±0,3, 66,3±0,3, 71,1±0,3, 109,4±0,3, 119,6±0,3, 128,4±0,3, 131,3±0,3, 134,3±0,3, 158,7±0,3 y 167,8±0,3 ppm.
- 10 11. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina.
12. Una composición farmacéutica que comprende 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.
- 15 13. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12, que es para administración oral, y que comprende hidrocloreuro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina.
14. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 12, que es para administración oral, y que comprende la forma 2 cristalina de hidrocloreuro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina como se ha definido en una o más de las reivindicaciones 7, 8, 9 ó 10.
- 20 15. Un compuesto, sal o forma cristalina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para uso en terapia.
16. Un compuesto, sal o forma cristalina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 para uso en el tratamiento o profilaxis de una enfermedad neurológica.
- 25 17. Un compuesto, sal o forma cristalina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de una enfermedad neurológica.
18. Un compuesto, sal o forma cristalina de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento o la profilaxis de deterioro cognitivo, fatiga o un trastorno del sueño en un mamífero.
- 30 19. Uso de acuerdo con la reivindicación 18, donde el medicamento es para uso en el tratamiento o profilaxis de deterioro cognitivo en un ser humano, y donde el deterioro cognitivo es una enfermedad de Alzheimer, demencia, deterioro cognitivo leve, o un trastorno neurodegenerativo relacionado, o donde el deterioro cognitivo es enfermedad de Parkinson, o donde el deterioro cognitivo es esquizofrenia.
- 35 20. El uso de acuerdo con la reivindicación 17, 18, o 19, donde la 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina o la sal farmacéuticamente aceptable de la misma es hidrocloreuro de 1-(1-metiletil)-4-[[4-(tetrahydro-2H-piran-4-iloxi)fenil]carbonil]piperazina.

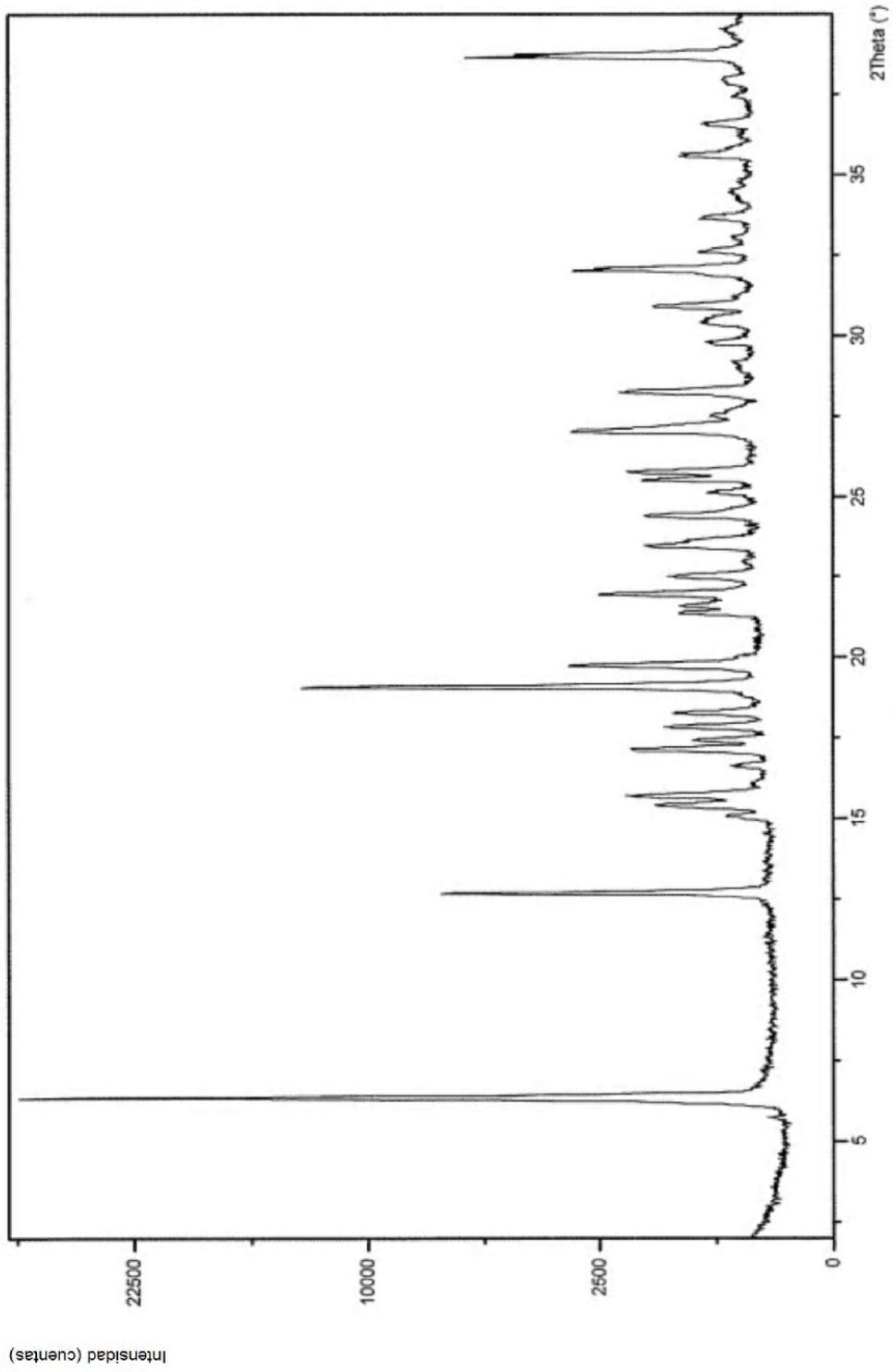


Figura 1

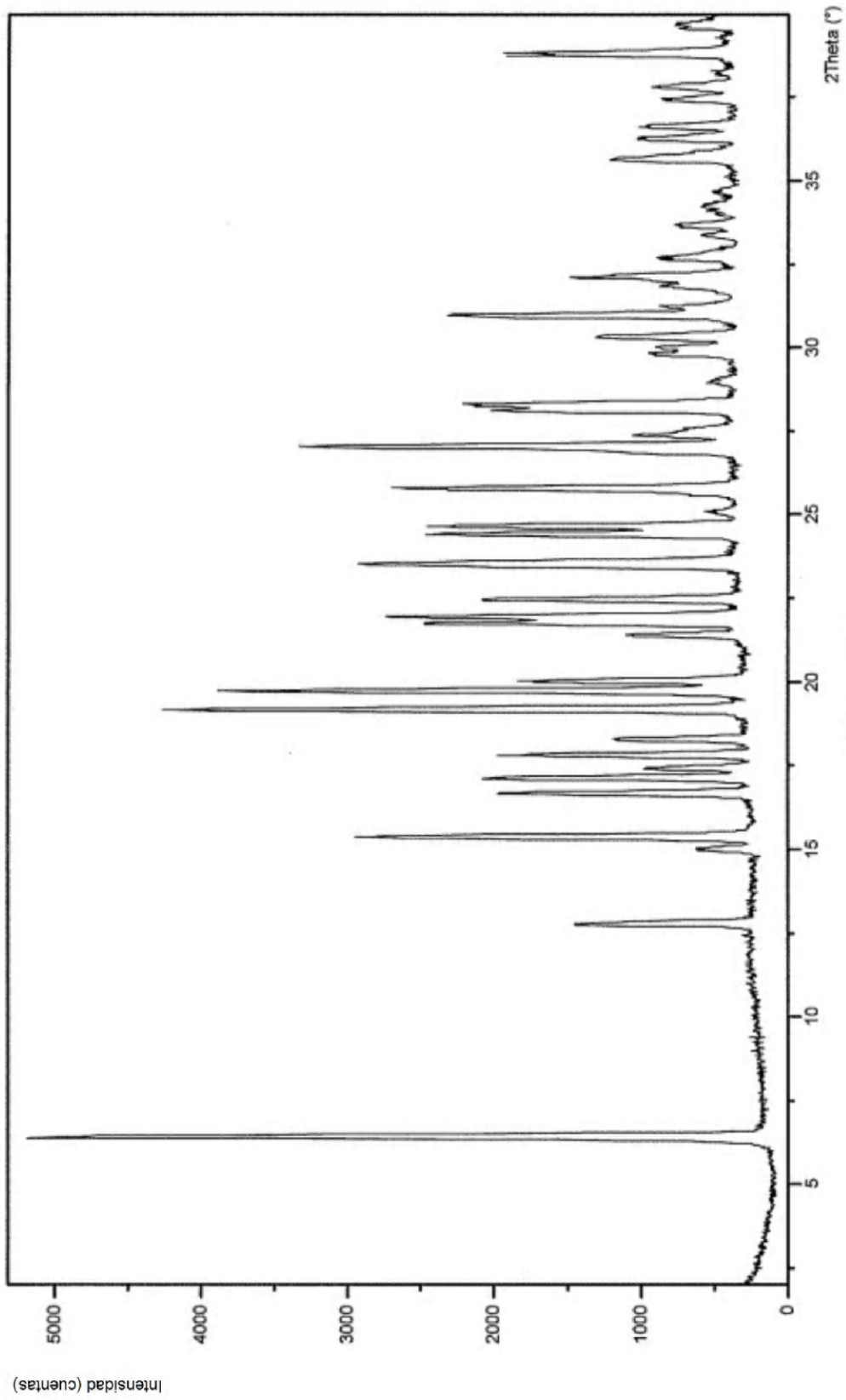


Figura 2

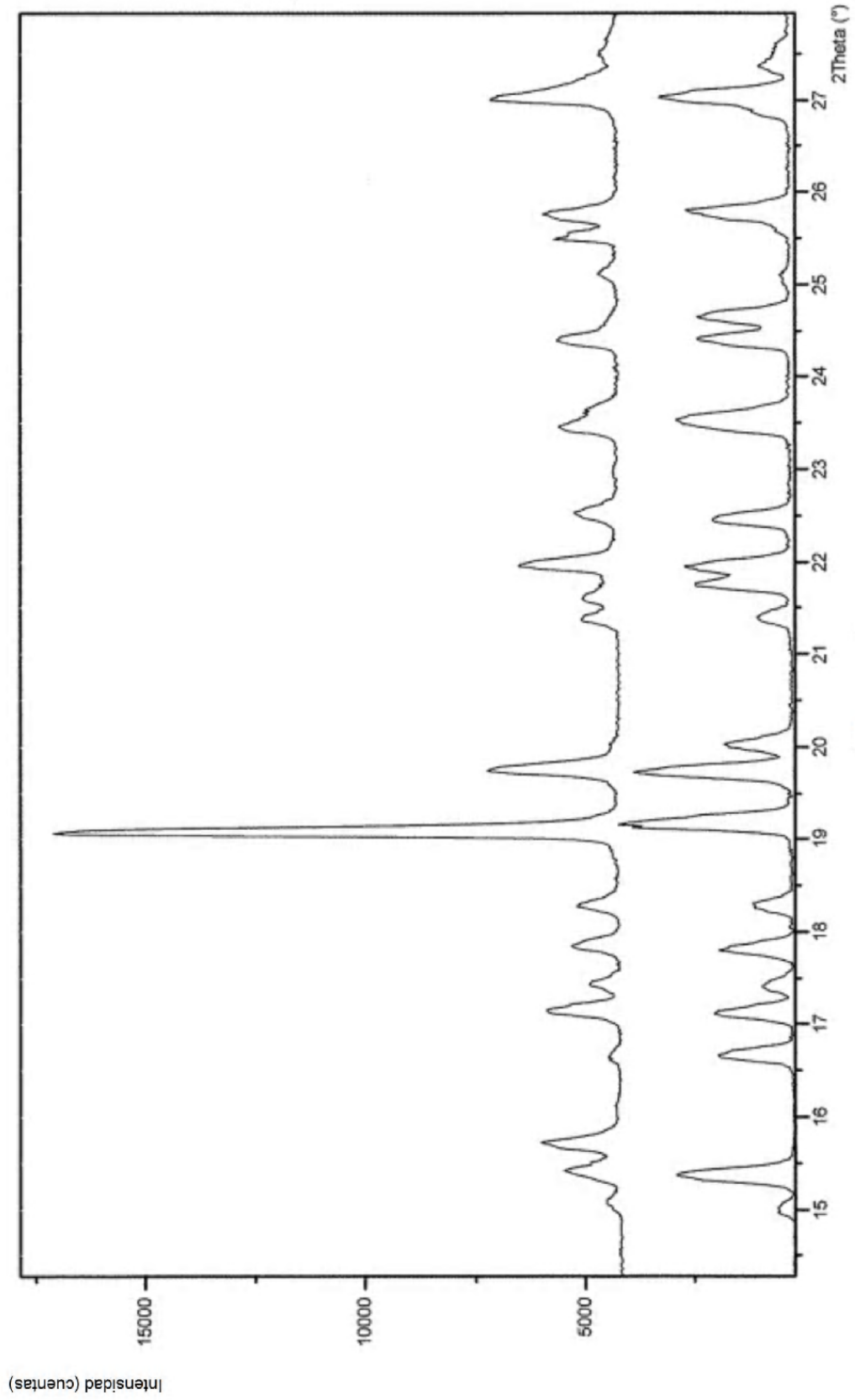


Figura 3

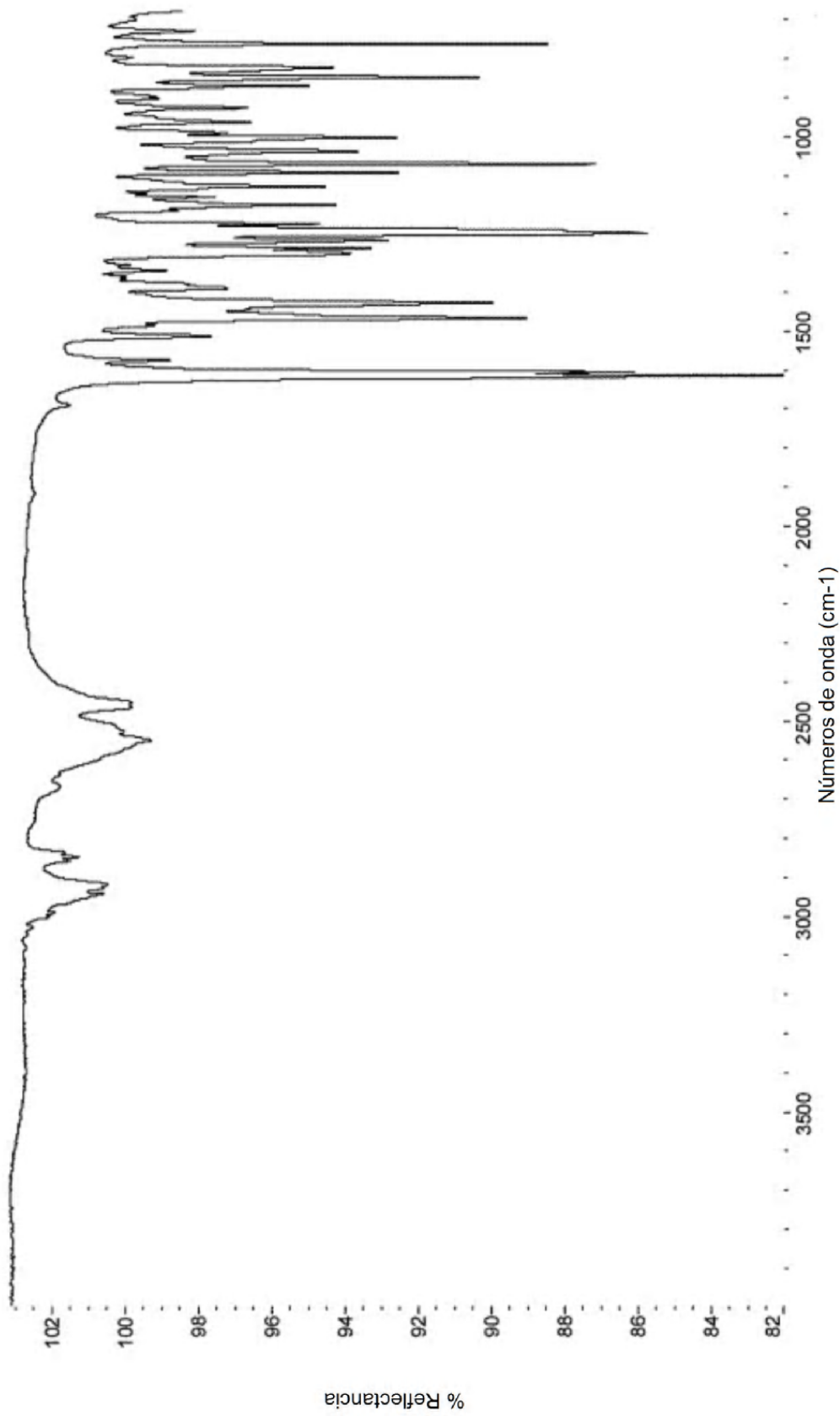


Figura 4

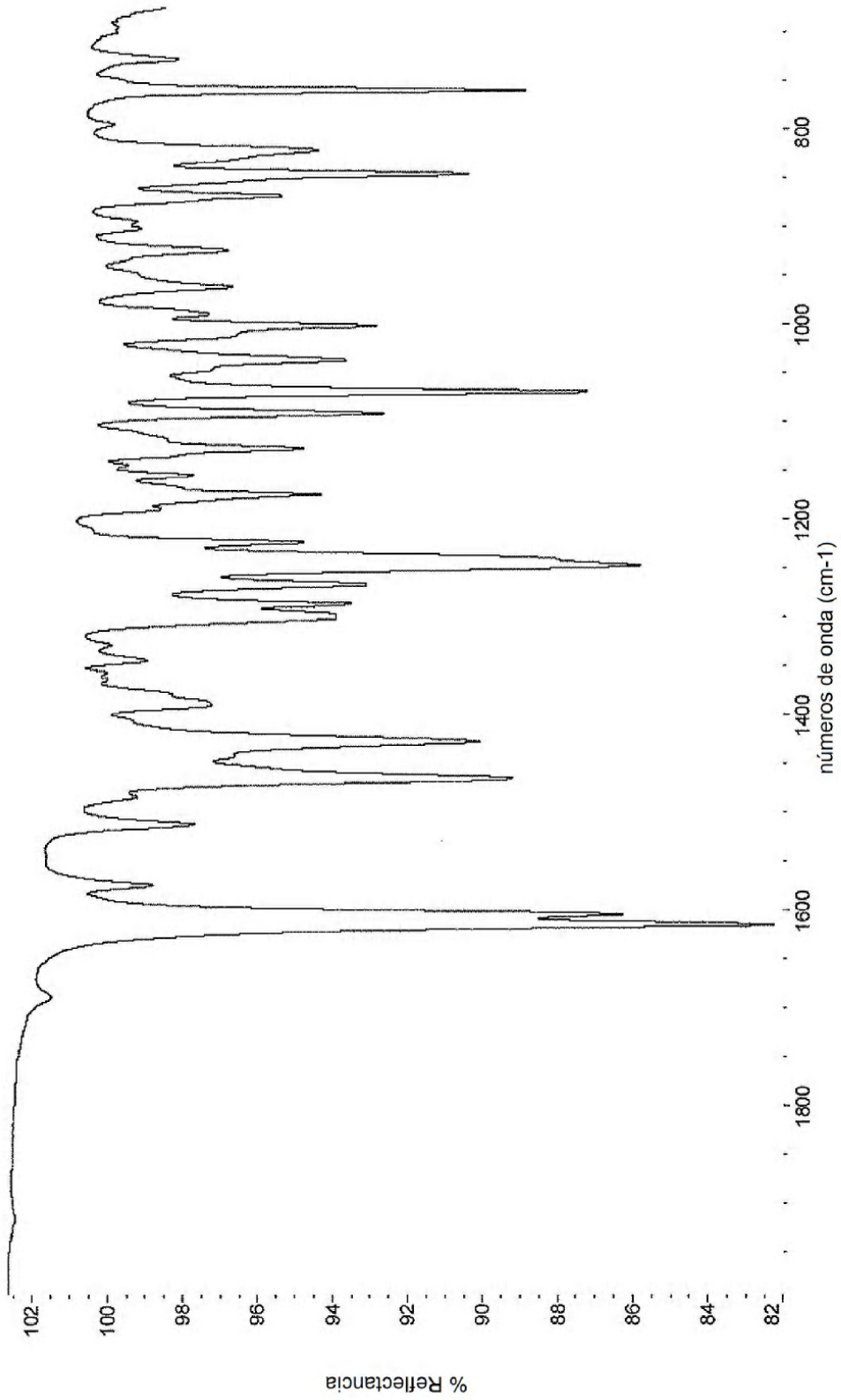


Figura 5

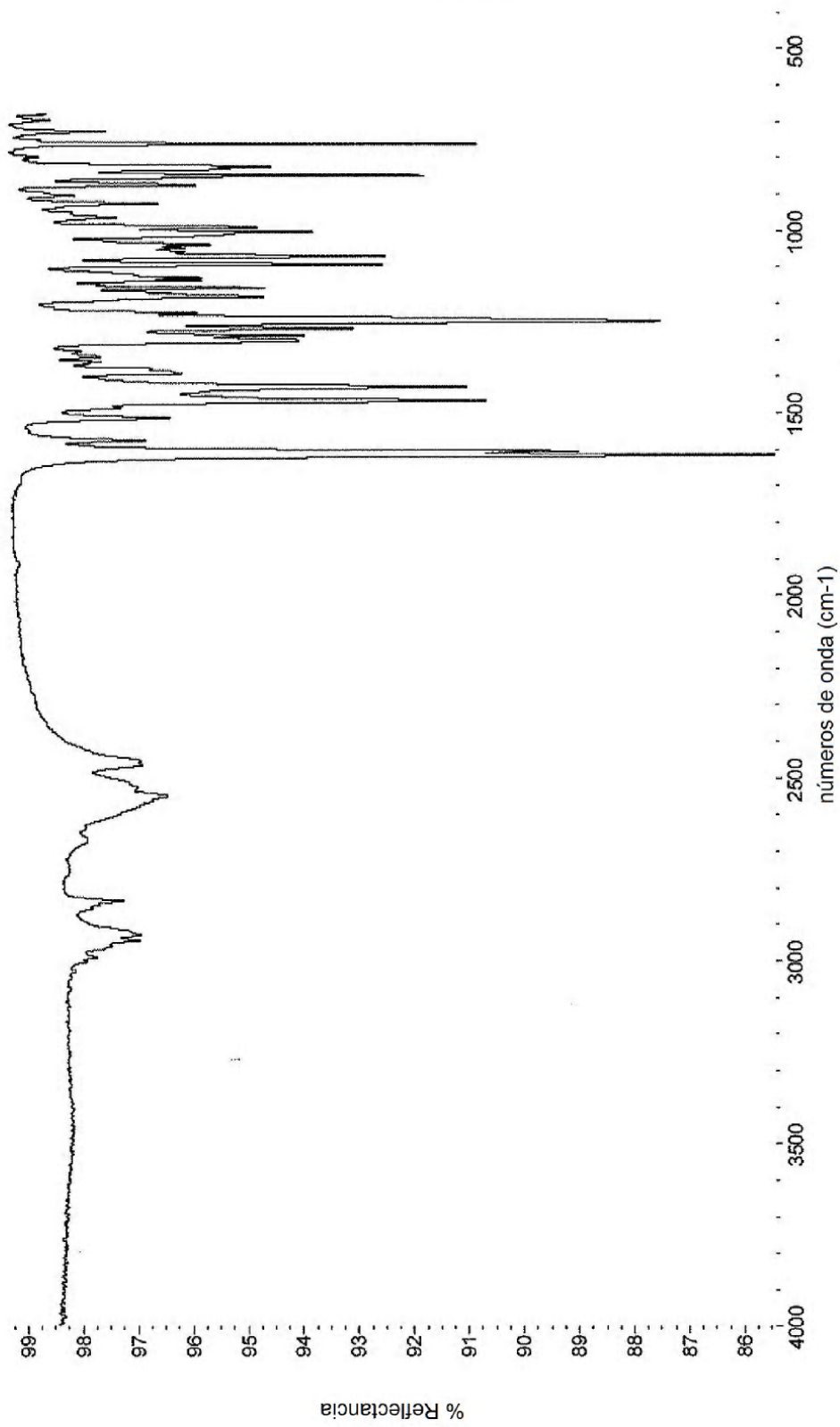


Figura 6

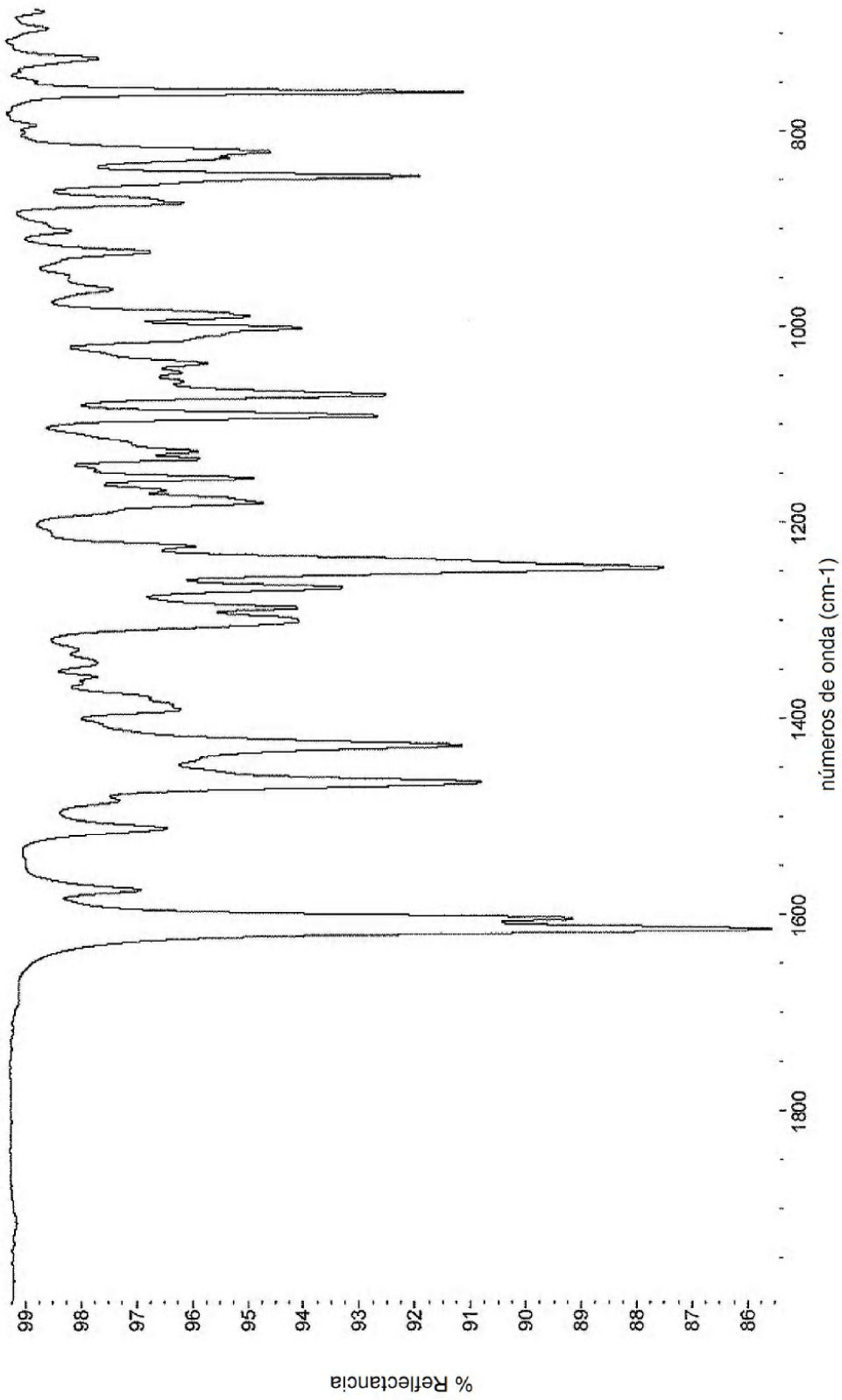


Figura 7

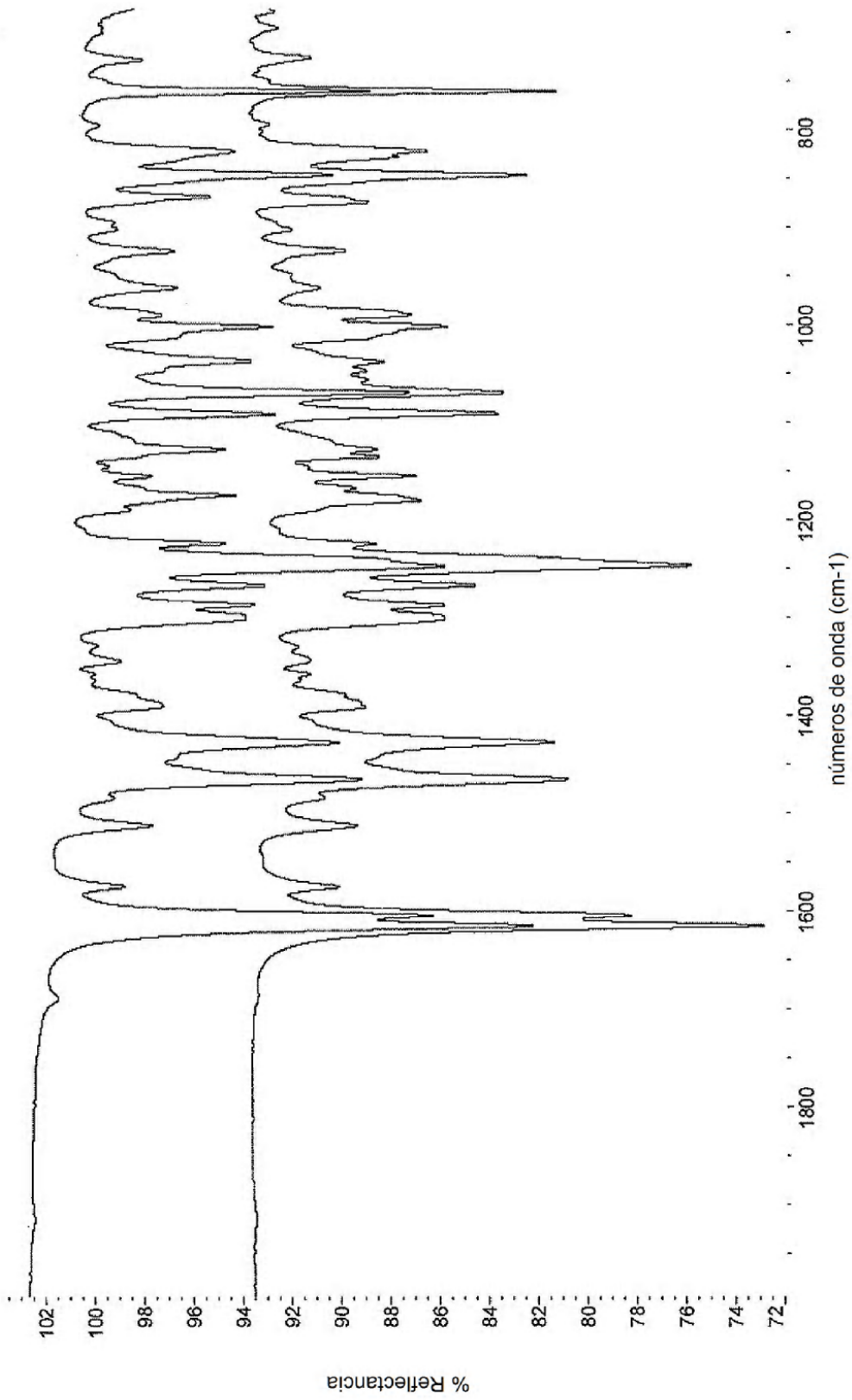


Figura 8

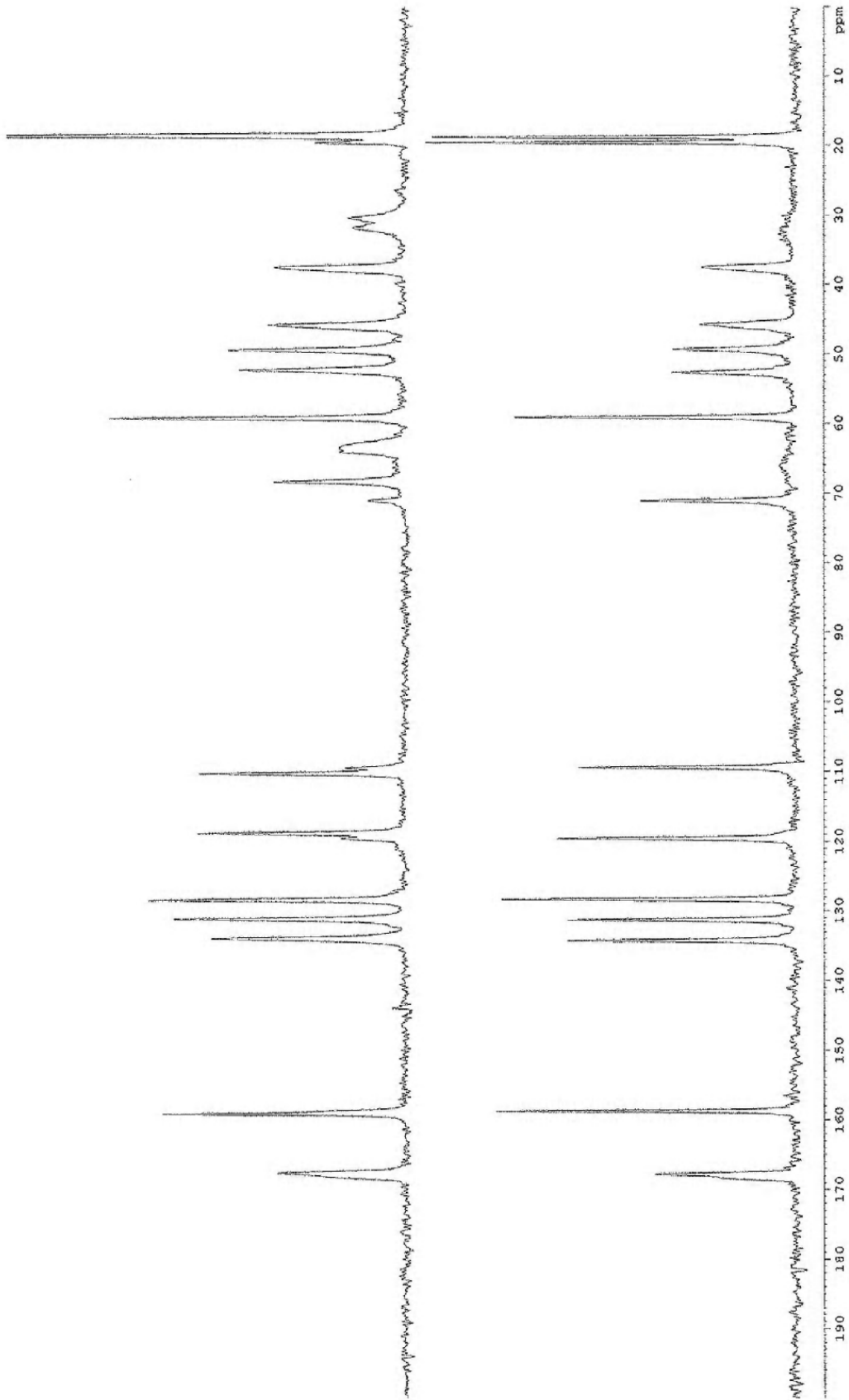


Figura 9

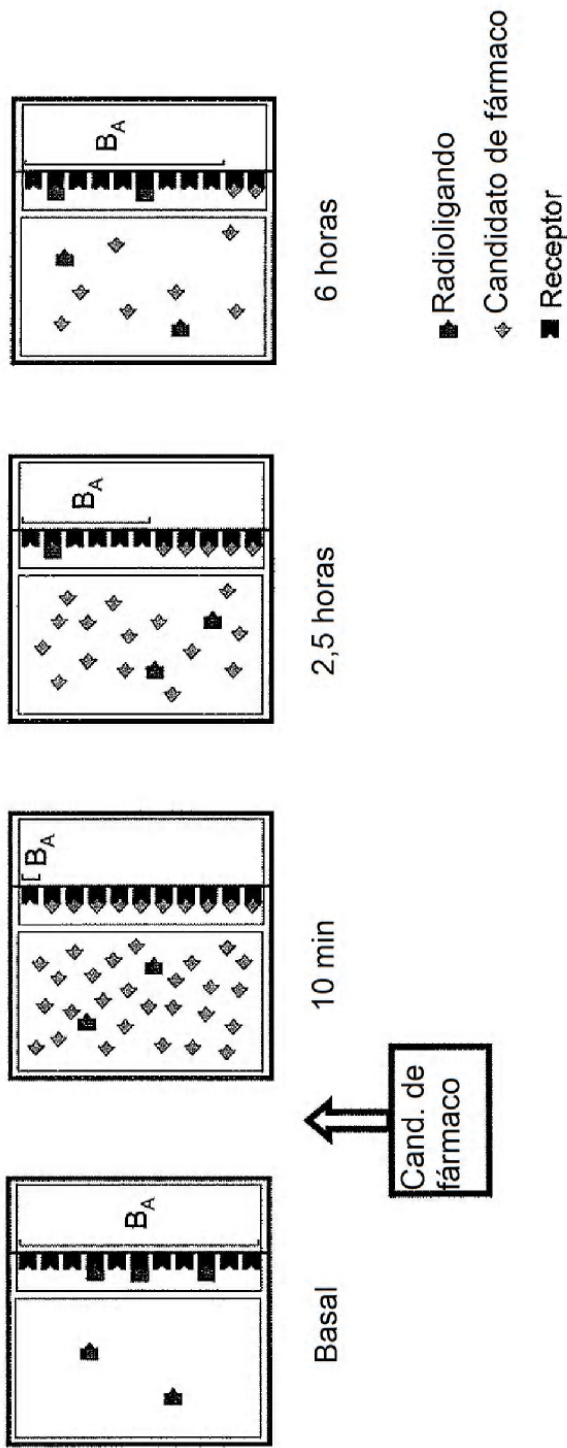


Figura 10

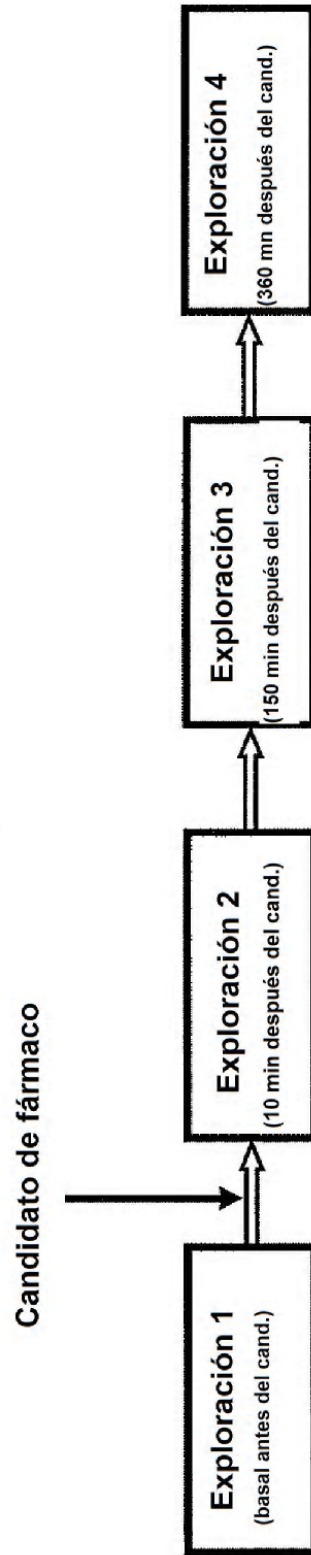


Figura 11

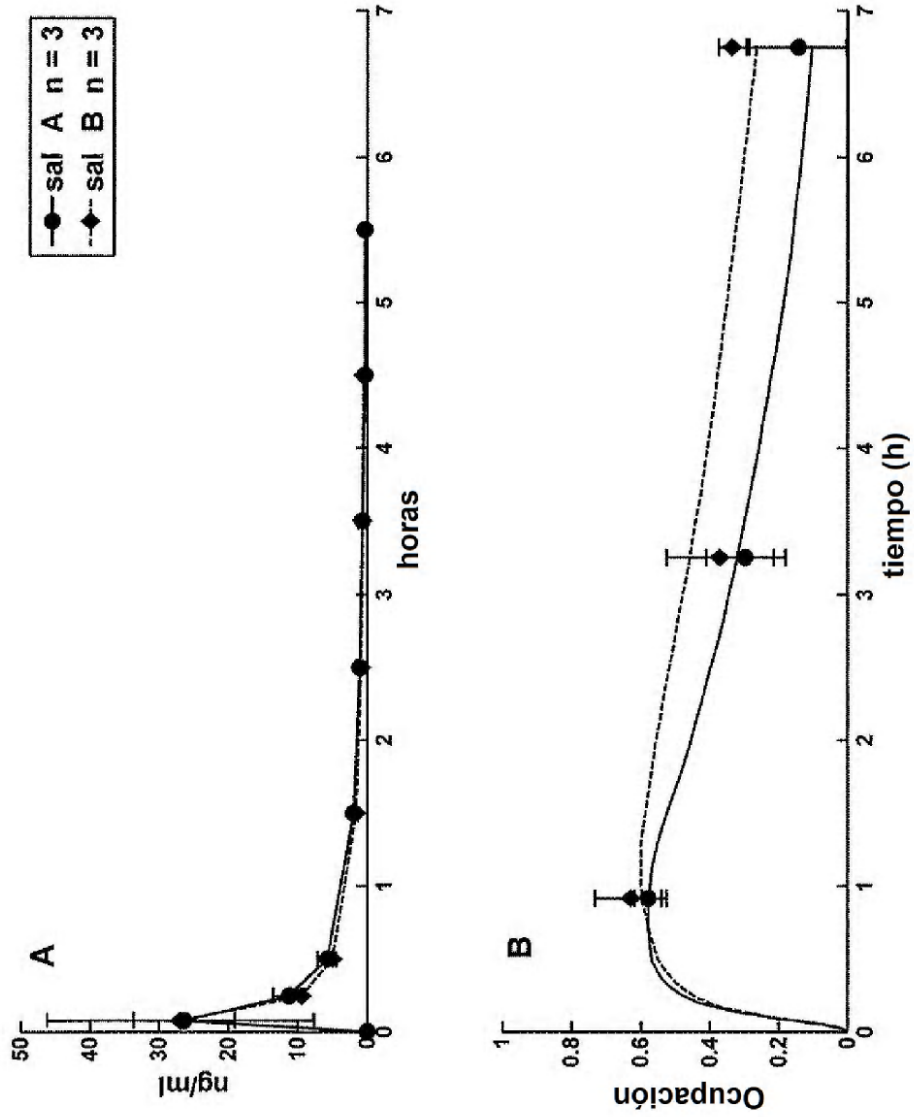


Figura 12

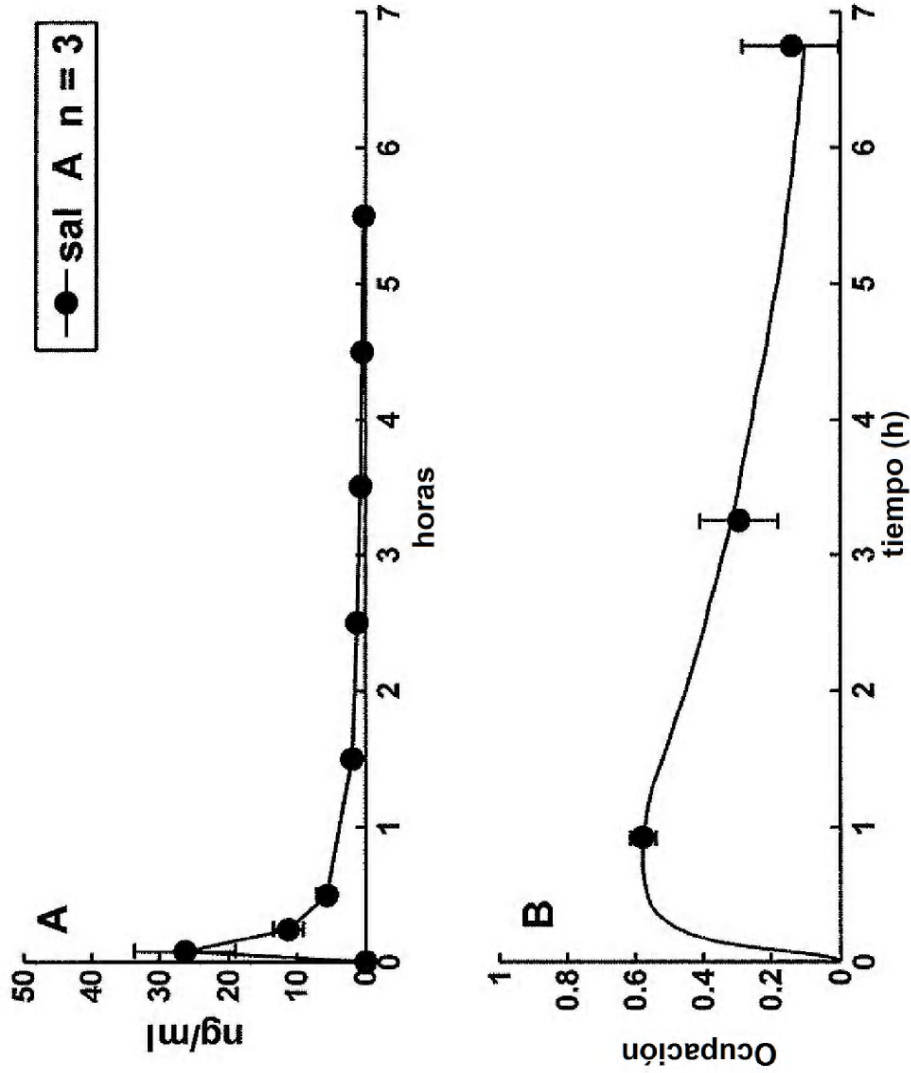
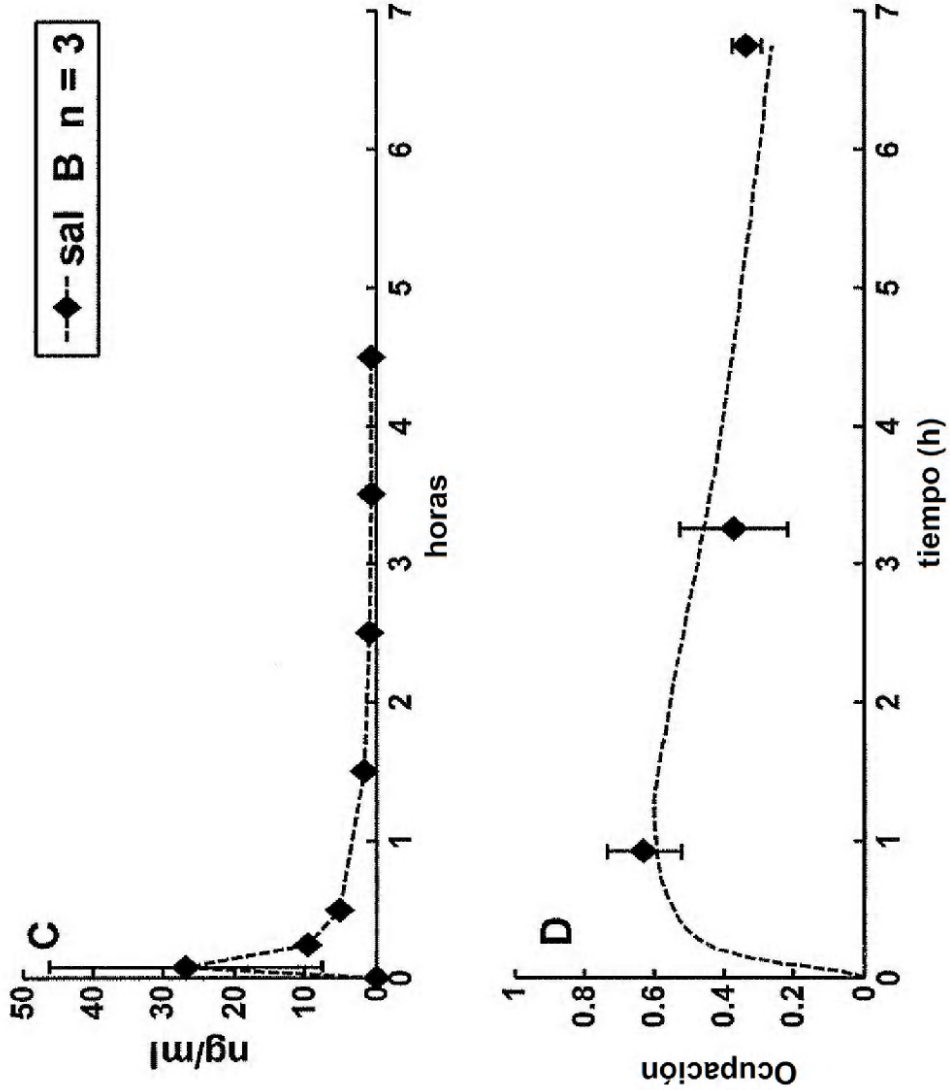


Figura 13, A y B



Figuras 13, C y D

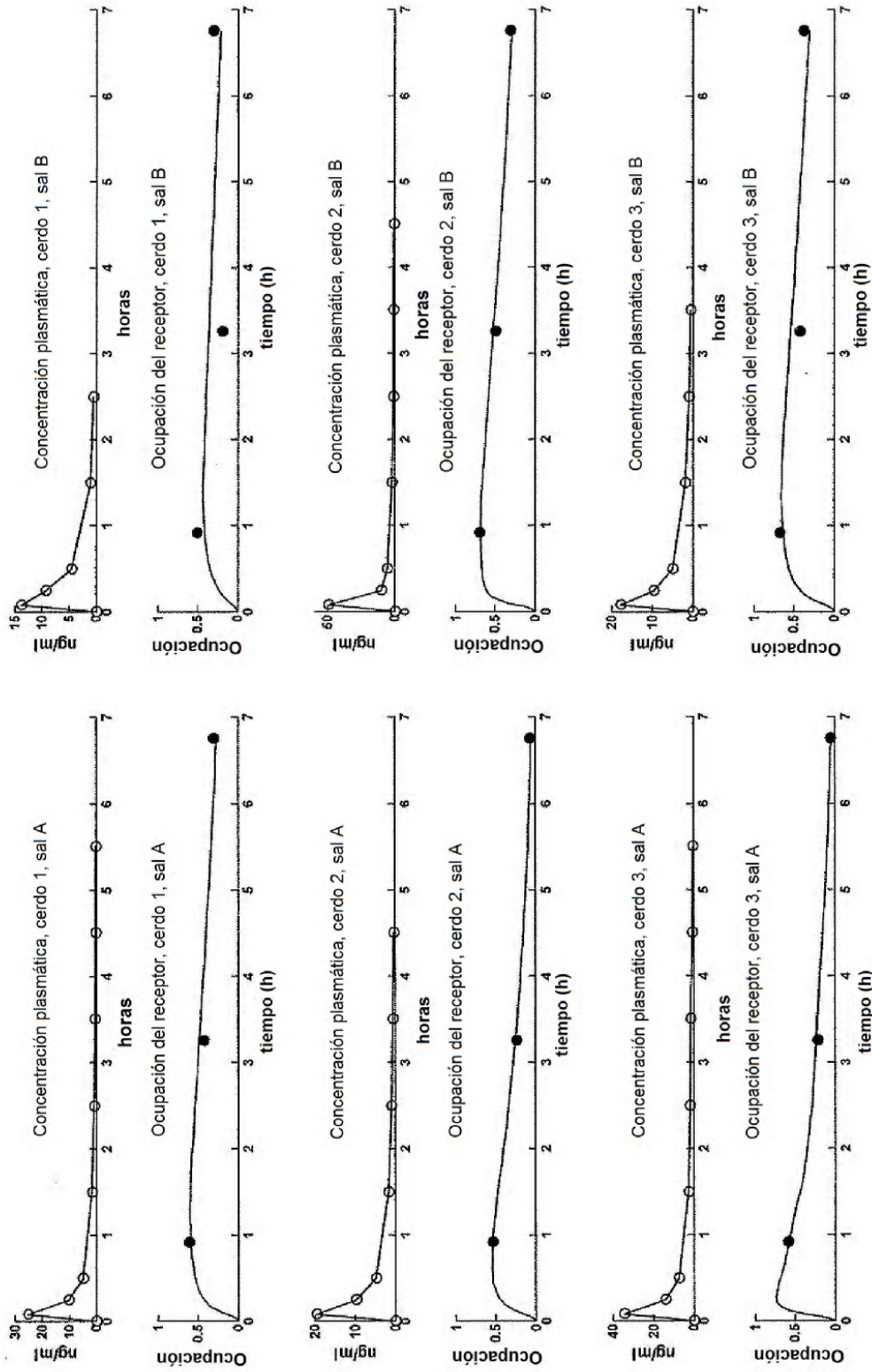


Figura 14