

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 396 574**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/5415** (2006.01)

**A61K 31/573** (2006.01)

**A61K 31/341** (2006.01)

**A61K 31/58** (2006.01)

**A61K 31/585** (2006.01)

**A61P 21/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.03.2007 E 07731089 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.10.2012 EP 1993555**

54 Título: **Composición que contiene derivados de amidina o de carboxamida y esteroides como medicamento**

30 Prioridad:

**07.03.2006 FR 0602000**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

**22.02.2013**

73 Titular/es:

**IPSEN PHARMA (100.0%)  
65 QUAI GEORGES GORSE  
92100 BOULOGNE-BILLANCOURT, FR**

72 Inventor/es:

**PIGNOL, BERNADETTE;  
AUVIN, SERGE;  
BIGG, DENNIS y  
CHABRIER DE LASSAUNIERE, PIERRE-ETIENNE**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 396 574 T3**

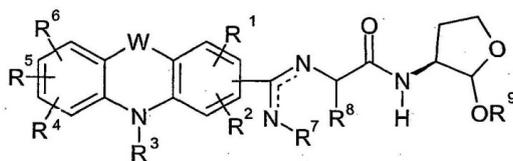
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Composición que contiene derivados de amidina o de carboxamida y esteroides como medicamento.

- 5 La presente invención tiene como objetivo una composición que contiene al menos un derivado de amidina o de carboxamida asociado con un compuesto elegido entre los esteroides, los corticoides o los corticosteroides. La invención se refiere igualmente a composiciones farmacéuticas que contienen esta composición y su utilización con fines terapéuticos, particularmente como inhibidores de las calpaínas y/o inhibidores de la peroxidación lipídica.
- 10 Teniendo en cuenta el papel potencial de las calpaínas y de los radicales libres en fisiopatología, las nuevas composiciones según la invención pueden producir efectos benéficos o favorables en el tratamiento de patologías en las que están implicadas estas enzimas (calpaínas) y las formas reactivas del oxígeno (radicales libres), y principalmente para tratar las enfermedades y los trastornos elegidos entre las enfermedades inflamatorias o inmunológicas, las enfermedades cardiovasculares, las enfermedades cerebrovasculares, los trastornos del sistema nervioso central o periférico, la caquexia, la sarcopenia, la pérdida de audición, la osteoporosis, las distrofias musculares, las enfermedades proliferativas cancerosas o no, la catarata, las reacciones de rechazo después de los trasplantes de órganos, las enfermedades autoinmunes, las enfermedades víricas, la nefrotoxicidad o el cáncer.
- 15 Los documentos WO 2005/056511 y Auvin *et al.*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 14, 2004, 3825-3828, presentan compuestos inhibidores de las calpaínas que se pueden usar en el tratamiento de la distrofia muscular. El documento Waller *et al.*, *Expert Opin. Investig. Drugs*, 10, 2001, 695-707 presenta corticosteroides en el tratamiento de la distrofia muscular.
- 20 Con el fin de responder a las exigencias de la industria, se ha hecho necesario encontrar nuevos medicamentos inhibidores de las calpaínas y/o inhibidores de la peroxidación lipídica.
- 25 Por lo tanto, el problema que se propone resolver la invención es el de suministrar nuevas composiciones capaces de inhibir las calpaínas y/o inhibir la peroxidación lipídica.
- 30 De forma inesperada, los inventores han demostrado que las composiciones que contienen al menos un compuesto de fórmula general (I) o (A) descritos a continuación, o sus sales, en forma racémica, de diastereoisómeros o cualquier combinación de estas formas y al menos un compuesto elegido entre los esteroides, los corticoides o los corticosteroides presentan una actividad capaz de tratar las enfermedades y los trastornos elegidos entre las enfermedades inflamatorias o inmunológicas, las enfermedades cardiovasculares, las enfermedades cerebrovasculares, los trastornos del sistema nervioso central o periférico, la caquexia, la sarcopenia, la pérdida de audición, la osteoporosis, las distrofias musculares, las enfermedades proliferativas cancerosas o no, la catarata, las reacciones de rechazo después de los trasplantes de órganos, las enfermedades autoinmunes, las enfermedades víricas, la nefrotoxicidad o el cáncer.
- 35 Ventajasamente, la composición según la invención puede producir efectos beneficiosos o favorables en el tratamiento de las siguientes patologías:
- 40
- las enfermedades inflamatorias e inmunológicas como por ejemplo la artritis reumatoide, la pancreatitis, la esclerosis en placas, las inflamaciones del sistema gastrointestinal (por ejemplo la colitis ulcerativa o no, o la enfermedad de Crohn),
  - las enfermedades cardiovasculares y/o cerebrovasculares que comprenden, por ejemplo, la hipertensión arterial, el choque séptico, los infartos cardiacos o cerebrales de origen isquémico o hemorrágico, las isquemias, así como los trastornos relacionados con la agregación plaquetaria,
  - los trastornos del sistema nervioso central o periférico, como por ejemplo las enfermedades neurodegenerativas entre las que se pueden citar principalmente los traumatismos cerebrales o de la médula espinal, la hemorragia subaracnoidea, la epilepsia, el envejecimiento, las enfermedades seniles, incluyendo la enfermedad de Alzheimer, la corea de Huntington, la enfermedad de Parkinson y las neuropatías periféricas,
  - la caquexia,
  - la sarcopenia,
  - la pérdida de audición, en particular la pérdida de audición provocada por la presbiacusia, por un traumatismo acústico o por la administración de un medicamento, tal como los antibióticos como por ejemplo la gentamicina, los compuestos anticancerosos como por ejemplo la cisplatina, los agentes anti-inflamatorios no esteroideos como por ejemplo los derivados del ácido salicílico o del ibuprofeno, los diuréticos tal como por ejemplo la furosemida, los antiulcerosos tal como por ejemplo la cimetidina o el omeprazol, los agentes anticonvulsivos tal como por ejemplo la carbamazepina o el ácido valproico,
- 45
- 50
- 55
- 60
- 65

- la osteoporosis,
  - las distrofias musculares, como por ejemplo en particular la distrofia muscular de Duchenne, la distrofia muscular de Becker, la distrofia muscular miotónica de Steiner, la distrofia muscular congénita, la distrofia muscular de cinturas y la distrofia muscular fascio-escápulo-humeral,
  - las enfermedades proliferativas no cancerosas, como por ejemplo la aterosclerosis o la restenosis,
  - la catarata,
  - los trasplantes de órganos,
  - las enfermedades autoinmunes o víricas, como por ejemplo el lupus, el sida, las infecciones parasitarias o víricas, la diabetes y sus complicaciones,
  - la nefrotoxicidad inducida por antibióticos, tales como entre otros los aminoglicósidos, como por ejemplo la gentamicina,
  - el cáncer y las enfermedades proliferativas cancerosas,
  - cualquier patología caracterizada por una activación de las calpainas,
  - cualquier patología caracterizada por una producción aumentada de radicales libres.
- 5
- 10
- 15
- 20
- 25
- Otra ventaja de la presente invención es que la asociación según la invención presenta una sinergia en comparación con los compuestos utilizados separadamente.
- Otra ventaja de la presente invención es que la asociación según la invención presenta una sinergia en comparación con los compuestos utilizados separadamente.
- 30
- Aún más ventajosamente, la composición según la invención puede permitir bloquear o ralentizar la degeneración de las células, en particular de las células musculares.
- 35
- La invención tiene igualmente como ventaja poder presentar un efecto protector de las células frente a la muerte celular.
- En el caso del tratamiento de la distrofia muscular, la invención tiene como ventaja proponer un tratamiento alternativo a los tratamientos usuales, y principalmente permitir reducir las dosis de corticoides usados actualmente bien aumentando la eficacia del tratamiento o bien sin perder la eficacia del tratamiento. Esto tiene como otra ventaja la de permitir reducir o retrasar los efectos secundarios debidos a los corticoides.
- 40
- La composición según la invención tiene como ventaja igualmente poder ser útil para tratar la pérdida de audición.
- 45
- La invención tiene como ventaja poder ser realizada en todas las industrias, principalmente en la industria farmacéutica, veterinaria, cosmética, alimentaria, así como en el campo de la agricultura.
- Las composiciones según la invención o sus sales presentan una solubilidad aumentada en los medios biológicos, particularmente en los medios acuosos.
- 50
- Otras ventajas y características de la invención serán evidentes mediante la lectura de la descripción y de los ejemplos que se dan de forma ilustrativa y no limitativa que se indican a continuación.
- 55
- La presente invención tiene en primer lugar como objetivo una composición que contiene al menos un compuesto elegido entre los esteroides, los corticoides o los corticosteroides o sus sales y que contiene al menos un compuesto elegido entre:
- a) bien los compuestos de fórmula general (I) o sus sales:



(I)

en forma racémica, de diastereoisómeros o cualquier combinación de estas formas en la que:

5  $R^1$ ,  $R^2$ ,  $R^4$ ,  $R^5$  y  $R^6$  representan, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, el grupo OH, un radical alquilo, alcoxi, ciano, nitro, amino, alquilamino o ácido carboxílico;

$R^3$  representa un átomo de hidrógeno, un radical alquilo o un grupo  $-COR^{10}$ ;

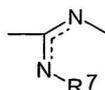
10  $R^{10}$  representa un átomo de hidrógeno o un radical alquilo, alcoxi, arilo o un radical heterocíclico;

$W$  representa un átomo de oxígeno o un átomo de azufre o bien  $-W-$  representa un enlace;

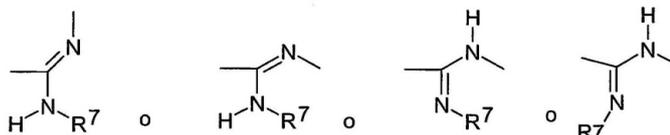
$R^7$  representa un átomo de hidrógeno o un radical alquilo;

15  $R^8$  representa un átomo de hidrógeno, un radical haloalquilo o alqueno, un radical cicloalquilo, un radical alquilo lineal o ramificado, sustituido o no, que cuando está sustituido lleva una función química tal como ácido carboxílico, amina, alcohol, guanidina, amidina, tiol, tioéter, tioéster, alcoxi, heterociclo o carboxamida;

20  $R^9$  representa un átomo de hidrógeno, un radical alquilo, arilo, arilalquilo, bisarilalquilo, un radical heterocíclico, un radical alquilo heterocíclico o un grupo  $-COR^{10}$ , entendiéndose que:

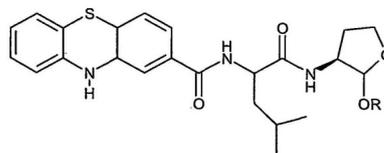


significa



25

b) o bien los compuestos de fórmula general (A) o sus sales:



(A)

30 en forma racémica, de diastereoisómeros o cualquier combinación de estas formas,

en la que R representa el átomo de hidrógeno o  $-C(O)R'$  en la que  $R'$  representa un radical alquilo.

35 La composición según la invención comprende como primer constituyente al menos un compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente o al menos un compuesto de fórmula general (A) descrito anteriormente o sus sales.

40 Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^1$  que es un átomo de hidrógeno.

Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^2$  que es un átomo de hidrógeno.

- Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^3$  que es un átomo de hidrógeno.
- 5 Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^4$  que es un átomo de hidrógeno.
- Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^5$  que es un átomo de hidrógeno.
- 10 Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^6$  que es un átomo de hidrógeno.
- Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^7$  que es un átomo de hidrógeno.
- 15 Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^8$  que es un radical isobutilo.
- 20 Preferentemente el átomo W del compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente es un átomo de azufre. Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^9$  que es un átomo de hidrógeno.
- Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^9$  que es un radical acetilo.
- 25 Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^9$  que es un radical metilo.
- 30 Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^9$  que es un radical bencilo.
- Preferentemente el compuesto de fórmula general (I) descrito anteriormente tiene un radical  $R^9$  que es un radical naftilmetilo.
- 35 Preferentemente el compuesto de fórmula general (A) descrito anteriormente tiene un radical R que es un radical –C(O)-CH<sub>3</sub>.
- 40 Por alquilo, cuando no se dan más precisiones, se entiende un radical alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 12 átomos de carbono, y preferentemente de 1 a 6 átomos de carbono, aún más preferentemente de 1 a 4 átomos de carbono. Por alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 6 átomos de carbono, se entiende en particular los radicales metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, isobutilo, sec-butilo y *terc*-butilo, pentilo, neopentilo, isopentilo, hexilo e isohexilo.
- 45 Por haloalquilo se entiende un radical alquilo en el que al menos uno de los átomos de hidrógeno está sustituido por un átomo de halógeno. Por haloalquilo se entiende un radical alquilo en el que al menos uno de los átomos de hidrógeno está sustituido con un átomo de halógeno. Por haloalquilo se entiende, por ejemplo, el radical –CF<sub>3</sub>, –CHF<sub>2</sub> o –CH<sub>2</sub>Cl.
- 50 Por alqueno, cuando no se dan más precisiones, se entiende un radical alqueno lineal o ramificado que tiene al menos 1 insaturación y que tiene de 2 a 12 átomos de carbono, y preferentemente de 2 a 6 átomos de carbono.
- Por alcoxi, cuando no se dan más precisiones, se entiende un radical R-O- cuya cadena carbonada R es lineal o ramificada y tiene de 1 a 6 átomos de carbono.
- 55 Por cicloalquilo, cuando no se dan más precisiones, se entiende un radical carbocíclico saturado que tiene de 3 a 7 átomos de carbono. Por cicloalquilo que tiene de 3 a 7 átomos de carbono se entiende en particular un radical ciclohexilo.
- 60 Por arilo, cuando no se dan más precisiones, se entiende un radical carbocíclico aromático que tiene preferentemente de 1 a 3 ciclos condensados. Por arilo, se entiende principalmente los radicales fenilo, naftilo y fenantrilo, preferentemente los radicales fenilo y naftilo y más preferentemente el radical fenilo.
- 65 Por radicales arilalquilo se entienden los radicales arilalquilo en los que los radicales alquilo y arilo respectivos que los componen tienen los significados indicados anteriormente entendiéndose que el radical arilo está unido a la molécula (I) por medio de un radical alquilo.

Por bisaralquilo se entiende, en el marco de la presente invención, un radical carbocíclico aromático que comprende al menos 2 ciclos, de los que al menos uno es aromático, y que comprende como mucho 14 átomos de carbono, preferentemente como mucho 10 átomos de carbono, entendiéndose que el radical bisaralquilo está unido a la molécula (I) por medio de un radical alquilo.

Por heterociclo se entiende, en el marco de la presente invención, un radical cíclico, aromático o no, que comprende de 1 a 14 átomos, eligiéndose estos átomos entre el carbono, el nitrógeno, el oxígeno o el azufre, o una de sus combinaciones. Se entiende que el radical heterocíclico puede estar parcialmente insaturado. Por heterociclo se entiende, por ejemplo, un radical heteroarilo o un radical heterocicloalquilo.

Por alquilo heterocíclico se entiende, en el marco de la presente invención, un radical alquilo heterocíclico cuyos radicales heterocíclico y alquilo que los componen tienen los significados indicados precedentemente y cuyo radical heterocíclico está unido a la molécula (I) por medio de un radical alquilo.

Por átomo de halógeno se entiende un átomo que se elige entre los átomos de flúor, cloro, bromo o yodo.

Por amino se entiende, en el marco de la presente invención, un radical  $-NH_2$ .

Por alquiloamino se entiende, en el marco de la presente invención, un radical  $-NRH$  o  $-N(R'')_2$  siendo  $R''$  un radical alquilo tal como se ha indicado anteriormente.

Los siguientes ejemplos indican grupos protectores que pueden proteger las funciones llevadas por el radical  $R^8$ :

- los ésteres de metilo, de etilo, de *terc*-butilo o de bencilo pueden proteger las funciones ácidas;
- los carbamatos de *terc*-butilo, de bencilo o de fluorenilmetilo pueden proteger las funciones aminas;
- las acetamidas pueden proteger las funciones aminas; y
- los ésteres de *terc*-butilo, de bencilo, de tetrahidropirano o de sililo pueden proteger las funciones alcohol; y
- los acetilos pueden proteger las funciones alcohol; y
- los tioéteres de metilo o los tioésteres de metilo pueden proteger las funciones tiol.

En particular, la invención se refiere a una composición que comprende al menos un compuesto elegido entre los compuestos siguientes o sus sales:

$N^2$ -[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]- $N^1$ -[(3S)-2-metoxitetrahidrofuran-3-il]-L-leucinamida;

$N^1$ -[(3S)-2-(benciloxi)tetrahidrofuran-3-il]- $N^2$ -[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucinamida;

$N^2$ -[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]- $N^1$ -[(3S)-2-(2-naftilmetoxi)tetrahidrofuran-3-il]-L-leucinamida;

acetato de (3S)-{[N-[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucil]amino}tetrahidrofuran-2-ilo;

$N^1$ -[(3S)-2-hidroxitetrahidrofuran-3-il]- $N^2$ -[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucinamida;

N-[(1S)-1-({(2S)-2-hidroxitetrahidrofuran-3-il}amino)carbonil]-3-metilbutil]-10H-fenotiazina-2-carboxamida;

N-[(1S)-1-({(2R)-2-hidroxitetrahidrofuran-3-il}amino)carbonil]-3-metilbutil]-10H-fenotiazina-2-carboxamida;

N-[(1R)-1-({(2S)-2-hidroxitetrahidrofuran-3-il}amino)carbonil]-3-metilbutil]-10H-fenotiazina-2-carboxamida;

N-[(1R)-1-({(2R)-2-hidroxitetrahidrofuran-3-il}amino)carbonil]-3-metilbutil]-10H-fenotiazina-2-carboxamida;

acetato de (2R,3S)-3-{{[N-(10H-fenotiazin-2-ilcarbonil)-L-leucil]amino}tetrahidrofuran-2-ilo};

acetato de (2S,3S)-3-{{[N-(10H-fenotiazin-2-ilcarbonil)-L-leucil]amino}tetrahidrofuran-2-ilo};

acetato de (2R,3S)-3-{{[N-(10H-fenotiazin-2-ilcarbonil)-D-leucil]amino}tetrahidrofuran-2-ilo};

acetato de (2S,3S)-3-{{[N-(10H-fenotiazin-2-ilcarbonil)-D-leucil]amino}tetrahidrofuran-2-ilo};

acetato de (3S)-3-{{[N-(10H-fenotiazin-2-ilcarbonil)-L-leucil]amino}tetrahidrofuran-2-ilo}.

La terminología usada para la nomenclatura de los compuestos anteriores es la terminología de la IUPAC.

La composición según la invención comprende como segundo constituyente al menos un compuesto elegido entre los esteroides, los corticoides o los corticosteroides o sus sales.

5 Entre los esteroides adecuados según la invención se pueden citar la dexametasona cuya fórmula química es 9-alfa-fluoro-11 beta, 17 alfa, 21-trihidroxi-16 alfa-metil-pregna-1,4-dieno 21-isonicotinato, se puede también citar la oxandrolona cuya fórmula química es hidroxi-17 beta metil-17 oxo-3 oxa-2 5alfa-androstano.

10 Entre los corticoides adecuados según la invención se puede citar la cortisona.

Entre los corticosteroides adecuados según la invención se pueden citar:

- 15 - la prednisona: 11 $\beta$ , 17 $\alpha$ , 21-trihidroxipregna-1,4-dieno-3,20-diona corticosteroide;
- la prednisolona: 17 $\alpha$ , 21-dihidroxipregna-1,4-dieno-3,11,20-triona corticosteroide;
- la metilprednisolona;
- 20 - el deflazacort que es un derivado oxazolona de la prednisona.

La presente invención tiene igualmente como objetivo una composición tal como se ha definido anteriormente para su uso como sustancia terapéuticamente activa.

25 Además, más particularmente, la composición según la invención y tal como se ha definido anteriormente se puede usar como sustancia terapéuticamente activa para tratar las enfermedades y trastornos elegidos entre las enfermedades inflamatorias o inmunológicas, las enfermedades cardiovasculares, las enfermedades cerebrovasculares, los trastornos del sistemas nervioso central o periférico, la caquexia, la sarcopenia, la pérdida de audición, la osteoporosis, las distrofias musculares, las enfermedades proliferativas cancerosas o no, la catarata, las reacciones de rechazo después de los trasplantes de órganos, las enfermedades autoinmunes, las enfermedades víricas, la nefrotoxicidad o el cáncer.

35 Preferentemente, la invención tiene como objetivo una composición según la invención y tal como se ha definido anteriormente, para su uso como sustancia terapéuticamente activa para tratar la pérdida de la audición.

Preferentemente, la invención tiene como objetivo una composición según la invención y tal como se ha definido anteriormente para su utilización como sustancia terapéuticamente activa para tratar las distrofias musculares, en particular la distrofia muscular de Duchenne, la distrofia muscular de Becker, la distrofia muscular miotónica o enfermedad de Steiner, la distrofia muscular congénita, la distrofia muscular de cinturas y la distrofia muscular fascio-escápulo-humeral.

40 La presente invención tiene igualmente como objetivo un medicamento que comprende al menos una composición tal como se ha definido anteriormente o una de sus sales. Preferentemente se trata de sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos.

45 Como medicamento, la composición tal como se ha definido anteriormente o sus sales farmacéuticamente aceptables.

50 La invención se refiere igualmente a las composiciones farmacéuticas que contienen al menos una composición tal como se ha definido anteriormente, o al menos una sal farmacéuticamente aceptable de esta composición. Preferentemente, la composición farmacéutica comprende al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, la composición según la invención y tal como se ha definido anteriormente o su sal está contenida en la composición farmacéutica como principio activo.

55 Por sal farmacéuticamente aceptable se entiende principalmente las sales de adición de ácidos inorgánicos, tales como, por ejemplo, el hidrocloreto, hidrobromuro, hidroyoduro, sulfato, fosfato, difosfato o nitrato, o de ácidos orgánicos, tales como, por ejemplo, acetato, maleato, fumarato, tartrato, succinato, citrato, lactato, metanosulfonato, p-toluenosulfonato, bencenosulfonato, pamoato o estearato. Para otros ejemplos de las sales farmacéuticamente aceptables véase "Salt selection for basic drugs", *Int. J. Pharm.* (1986) 33, 201-217.

60 La composición según la invención o su sal utilizada según la invención pueden estar en forma de un sólido, por ejemplo polvos, gránulos, comprimidos, cápsulas, liposomas o supositorios. Los soportes sólidos apropiados pueden ser, por ejemplo, el fosfato de calcio, el estearato de magnesio, el talco, los azúcares, la lactosa, la dextrina, el almidón, la gelatina, la celulosa, la celulosa de metilo, la celulosa carboximetilo de sodio, la polivinilpirrolidina o la cera.

65

La composición según la invención o su sal usada según la invención pueden estar en forma semisólida, por ejemplo en forma de un gel, de una espuma o de una pomada.

5 La composición según la invención o su sal pueden también presentarse en forma líquida, por ejemplo disoluciones, emulsiones en sentido amplio, suspensiones, vaporizaciones o jarabes. Los soportes líquidos apropiados pueden ser, por ejemplo, el agua, los disolventes orgánicos tales como el glicerol o los glicoles, así como sus mezclas, en proporciones variadas, en el agua.

10 La invención se refiere además a la utilización de una composición según la invención y tal como se ha definido anteriormente, o de una sal farmacéuticamente aceptable de dicha composición, para preparar un medicamento destinado a tratar las enfermedades y trastornos elegidos entre las enfermedades inflamatorias o inmunológicas, las enfermedades cardiovasculares, las enfermedades cerebrovasculares, los trastornos del sistema nervioso central o periférico, la caquexia, la sarcopenia, la pérdida de audición, la osteoporosis, las distrofias musculares, las enfermedades proliferativas cancerosas o no, la catarata, las reacciones de rechazo después de los trasplantes de  
15 órganos, las enfermedades autoinmunes, las enfermedades víricas, la nefrotoxicidad o el cáncer.

La administración de una composición según la invención o su sal se podrá hacer por vía tópica, oral, parenteral, por inyección intravenosa, intramuscular, subcutánea, etc.

20 La dosis de la composición según la invención, prevista para el tratamiento de las enfermedades o trastornos mencionados anteriormente, varía según el modo de administración, la edad, el peso corporal del sujeto que se va a tratar, así como el estado de este último, y será decidida en definitiva por el médico o el veterinario que realiza el tratamiento. Dicha cantidad determinada por el médico o el veterinario que realiza el tratamiento se denomina en la presente memoria "cantidad terapéuticamente activa".

25 Según un modo de realización de las composiciones según la invención, la relación entre los constituyentes [primer constituyente/segundo constituyente] puede estar comprendida entre 1/99 y 99/1, ventajosamente entre 5/95 y 95/5 o entre 10/90 y 90/10.

30 Según una variante de la composición según la invención, la relación entre los constituyentes es de 50/50.

Según una variante de la composición según la invención, la relación entre los constituyentes es de 80/20.

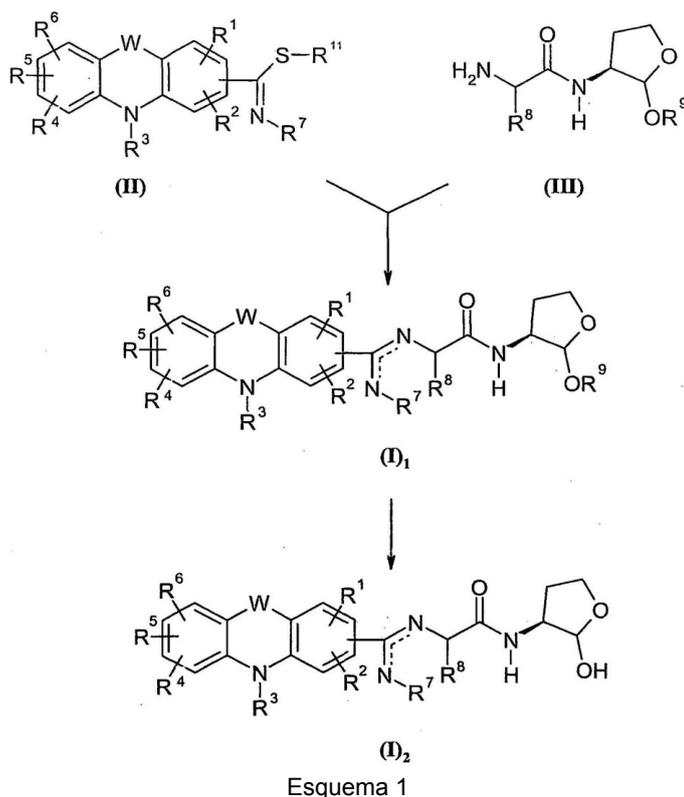
35 Según una variante de la composición según la invención, la relación entre los constituyentes es de 20/80.

Según otra variante de la composición según la invención, la relación entre los constituyentes [primer constituyente/segundo constituyente] está comprendida entre 30/70 y 1/99.

40 La invención tiene igualmente como objetivo la utilización de la composición según la invención o de su sal en la industria farmacéutica, veterinaria, química, cosmética, alimentaria, así como en el campo de la agricultura.

#### **Preparación de los compuestos de fórmula general (I)**

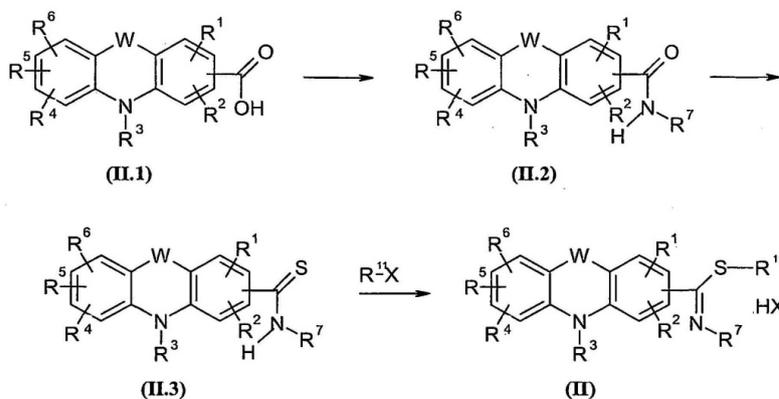
45 Los compuestos de fórmula general (I) según la invención pueden prepararse según la vía de síntesis representada en el esquema 1 siguiente. Los compuestos de fórmula general (I) en la que R<sup>9</sup> representa un radical alquilo, arilo, arilalquilo, bisarilalquilo, un radical heterocíclico, un radical heterociclo alquilo o un grupo -COR<sup>10</sup>, representando R<sup>10</sup> un átomo de hidrógeno o un radical alquilo, alcoxi, arilo o un radical heterocíclico, se denominan compuestos de fórmula general (I)<sub>1</sub>. Denominándose los compuestos de fórmula general (I) en la que R<sup>9</sup> representa un átomo de hidrógeno, compuestos de fórmula general (I)<sub>2</sub> en la parte siguiente de la exposición. En el esquema 1 siguiente, así  
50 como en el esquema 2, el significado de W, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup>, R<sup>7</sup>, R<sup>8</sup>, R<sup>9</sup>, R<sup>10</sup> y R<sup>11</sup> en los compuestos de fórmula general (II), (III), (I)<sub>1</sub> e (I)<sub>2</sub> son tal como se ha descrito anteriormente en la presente memoria:



5 Los compuestos de las fórmulas generales (I)<sub>1</sub> e (I)<sub>2</sub> se obtienen según el esquema 1 por condensación de los derivados tioimidatos de fórmula general (II) sobre los amino-lactoles de fórmula general (III), preferentemente por calentamiento entre 25 y 60°C, preferentemente en un disolvente polar, tales como por ejemplo isopropanol, DMF o bien THF, durante un periodo de 4 a 20 horas. La función hemiacetálica de los compuestos de fórmula general (I)<sub>1</sub> puede ser desprotegida a continuación para llevar a un compuesto de fórmula general (I)<sub>2</sub>, por ejemplo en medio ácido, con la ayuda de un ácido mineral tal como HCl o HBr, o bien de un ácido orgánico, tal como por ejemplo el ácido benenosulfónico, en disolución en un disolvente orgánico, tal como por ejemplo la acetona, el THF, el dioxano, el acetonitrilo o el etanol. La reacción se realiza generalmente a aproximadamente 20°C y durante un tiempo que puede variar de 4 a 20 horas según la naturaleza de R<sup>9</sup>.

15 **Preparación de los intermedios de fórmula general (II):**

Los tioimidatos de fórmula general (II) no comerciales, en los que W, R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>3</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup>, R<sup>6</sup> y R<sup>7</sup> son tales como se han descrito anteriormente en la memoria descriptiva, se pueden preparar según la vía sintética detallada en el esquema 2.

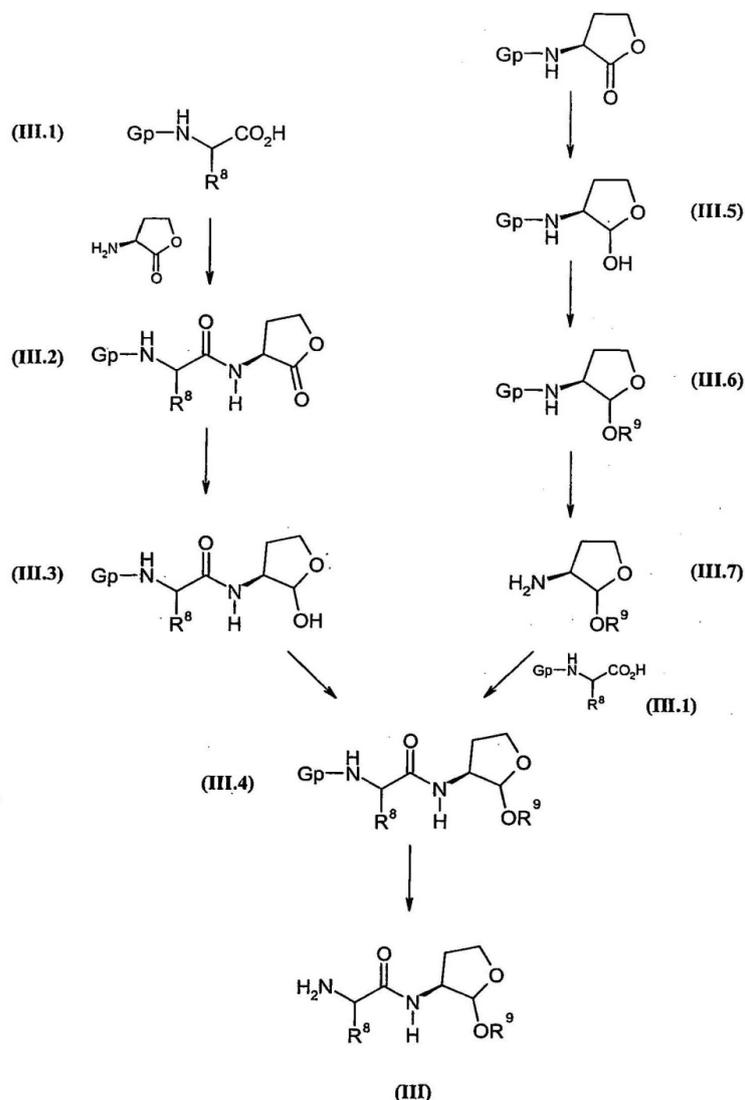


20 Los tioimidatos de fórmula general (II), derivados de al fenotiazina (W = S), de la fenoxazina (W = O) o del carbazol (-W- es un enlace) se pueden obtener en 3 etapas a partir de los ácidos carboxílicos de formula general (II.1) correspondientes. Estos ácidos carboxílicos son accesibles a partir de los métodos descritos en la bibliografía, tal

como por ejemplo en *Pharmazie* 1984, 39 (1), 22-3; *Bull. Soc. Chim.* 1968 (7), 2832-42; *Pharmazie* 1966, 21 (11) 645-9; *Synthesis* 1988 (3) 215-17; *J. Med. Chem.* 1992, 35 (4) 716-24; *J. Org. Chem.* (1960) 25, 747-53; *Heterocycles* (1994) 39 (2) 833-45; *J. Indian Chem. Soc.* (1985) 62 (7) 534-6; *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* (1985) (2) 86-7. La formación de carboxamidas de fórmula general (II.2) se realiza en presencia de una disolución acuosa concentrada de amoníaco ( $R^7 = H$ ) o bien de una amina ( $R^7 =$  alquilo) por medio de un reactivo de acoplamiento peptídico, tal como por ejemplo DCC o HBTU, en un disolvente tal como, por ejemplo, el DMF. Las tiocarboxamidas de fórmula general (II.3) se pueden obtener por acción de un reactivo de Lawesson en disolución en 1,4-dioxano. La alquilación de las tiocarboxamidas para generar los tioimidatos de fórmula general (II) se puede realizar con la ayuda de  $R^{11}-X$ , siendo X un grupo saliente tal como por ejemplo un átomo de halógeno, un grupo sulfato o triflato. La mezcla de reacción se agita, por ejemplo, en acetona durante 15 horas. Los tioimidatos (II) se obtienen en forma de sales, por ejemplo, hidroyoduro si se usa el yodometano ( $R^{11}-X$ ) y pueden ser eventualmente desalificados por medio de una base tal como, por ejemplo, el carbonato de sodio.

**Preparación de los intermedios de fórmula general (III):**

Los derivados amino-lactoles de fórmula general (III) en los que  $R^8$  y  $R^9$  son tales como se han descrito anteriormente, siendo Gp un grupo protector preferentemente de tipo carbamato, son accesibles usando por ejemplo las vías de preparación representadas en el esquema 3 siguiente.



Esquema 3

Los derivados de la amino-butirilactona de fórmula general (III.2) se pueden obtener por condensación de los aminoácidos protegidos de fórmula general (III.1) en la que  $R^8$  es un radical de aminoácido, tal como se ha definido anteriormente en la fórmula general (I) y Gp es un grupo protector, tal como por ejemplo un carbamato de bencilo, de *terc*-butilo o de fluorenilmetilo, sobre la (S)- $\alpha$ -aminobutirilactona en condiciones clásicas de la síntesis peptídica

para llevar a las carboxamidas intermedias de fórmula general (III.2). A continuación la lactona (III.2) se reduce a lactol por medio de un agente reductor, tal como por ejemplo el hidruro de diisobutilaluminio (DIBAL), en un disolvente inerte, tal como por ejemplo THF o  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , a una temperatura preferentemente inferior a  $-50^\circ\text{C}$ , por ejemplo a aproximadamente  $-78^\circ\text{C}$ . La función hemiacetal de los derivados lactoles de fórmula general (III.3) se protege a continuación bien en medio alcohólico, por ejemplo en metanol o alcohol bencílico, por medio de un ácido fuerte, tal como por ejemplo, el ácido trifluoroacético o el ácido canforsulfónico, bien en presencia de un anhídrido de ácido carboxílico, por ejemplo el anhídrido acético, en presencia de 4-dimetilaminopiridina en un disolvente inerte, tal como el diclorometano, para llevar a los acetales de fórmula general (III.4).

Alternativamente, los aminolactoles de fórmula general (III) se pueden preparar en 5 etapas a partir de (S)- $\alpha$ -aminobutirolactonas protegidas comerciales. Las etapas sucesivas de reducción de la lactona y de protección del hemiacetal para llevar a los intermedios (III.5) y (III.6) son idénticas a las descritas para la generación de los intermedios (III.3) y (III.4). La preparación de los intermedios (III.7) se realiza preferentemente por hidrogenolisis, en presencia de Pd/C, del grupo benciloxicarbonilo principalmente usado en esta estrategia. A continuación se pueden obtener los intermedios de fórmula general (III.4) por condensación peptídica en las condiciones descritas anteriormente para (III.2), entre los intermedios (III.7) y los aminoácidos de fórmula general (III.1). La función amina de los intermedios de fórmula general (III.4) se desprotege a continuación según los métodos descritos en la bibliografía (T. W. Greene y P. G. M. Wuts, Protective Groups in Organic Synthesis, segunda edición (Wiley-Interscience, 1991)).

A menos que se defina de otra forma, todos los términos técnicos y científicos usados en la presente memoria tienen el mismo significado que el que comprende generalmente un experto en el campo al que pertenece esta invención. Igualmente, todas las publicaciones, solicitudes de patente, todas las patentes y cualquier otra referencia mencionada en la presente memoria se incorporan como referencia.

#### Preparación de los compuestos de fórmula general (A)

La preparación de los compuestos de fórmula general (A) está descrita en la solicitud de patente WO 01/32654.

Los siguientes ejemplos se presentan para ilustrar los procedimientos anteriores y no se deben considerar en ningún caso como un límite del alcance de la invención.

#### Ejemplos

La terminología usada para la nomenclatura de los ejemplos anteriores es la terminología inglesa de la IUPAC.

En los ejemplos siguientes, los puntos de fusión se han medido mediante un capilar por medio de un dispositivo de la marca Büchi, modelo B-545.

Ejemplo 1: Hidroyoduro de la  $\text{N}^2$ -[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]- $\text{N}^1$ -[(3S)-2-metoxitetrahidrofuran-3-il]-L-leucinamida:

##### 1.1) $\text{N}^2$ -[(benciloxi)carbonil]- $\text{N}^1$ -[(3S)-2-oxotetrahidrofuran-3-il]-L-leucinamida

Se disuelven en 60 ml de DMF anhidro, 3,51 g (13,25 mmoles) de Cbz-L-leucina, 2,41 g (1 equiv.) de hidrobromuro de (S)-2-amino-4-butirolactona, 1,97 g de HOBT (1,1 equiv.) y 5,59 g (2,2 equiv.) de hidrocloreuro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida (EDC) y después se añaden 7,64 ml (3,3 equiv.) de N,N-diisopropiletilamina. La mezcla de reacción se agita durante 15 horas a  $20^\circ\text{C}$  antes de verterla en 200 ml de una mezcla 1/1 de acetato de etilo/agua. Después de agitación y decantación, la disolución orgánica se lava sucesivamente con 100 ml de una disolución saturada de  $\text{NaHCO}_3$ , 50 ml de agua, 100 ml de una disolución 1M de ácido cítrico y finalmente 100 ml de una disolución de salmuera. La fase orgánica se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra a vacío hasta sequedad. El aceite obtenido se lava con isopentano y cristaliza a continuación en una mezcla de diclorometano/isopentano. Se obtiene un sólido blanco con un rendimiento de 68%. Punto de fusión:  $130-131^\circ\text{C}$ .

##### 1.2) $\text{N}^2$ -[(benciloxi)carbonil]- $\text{N}^1$ -[(3S)-2-hidroxitetrahidrofuran-3-il]-L-leucinamida

En un matraz de tres bocas que contiene 60 ml de diclorometano anhidro en atmósfera de argón, se disuelven 1,24 g (3,56 mmoles) del intermedio 1.1. El conjunto se enfría a  $-60^\circ\text{C}$  antes de la adición, gota a gota, de 10,7 ml (3 equiv.) de una disolución 1M de DIBAL en diclorometano. Al final de la adición, se retira el baño refrigerante y se mantiene la agitación durante 15 minutos suplementarios. El medio de reacción se vierte a continuación, con precaución, en 100 ml de una disolución de sal de Rochelle al 20%. Después de 2 horas de agitación vigorosa, se añaden 10 ml de diclorometano y el conjunto se vierte en un embudo de decantación. La fase orgánica se recupera y se lava con 50 ml de agua y 50 ml de salmuera. Después de secado sobre sulfato de sodio y filtración, se concentra la disolución orgánica a vacío hasta sequedad. El residuo de evaporación se purifica en una columna de sílice (eluyente: heptano/AcOEt: 1/1 hasta 2/8). Se obtiene un sólido blanco con un rendimiento de 72%. Punto de fusión:  $48-49^\circ\text{C}$ .

1.3)  $N^2$ -[(benciloxi)carbonil]- $N^1$ -[(3S)-2-metoxitetrahydrofuran-3-il]-L-leucinamida

Se añaden, gota a gota a 20°C, un exceso de ácido trifluoroacético (5 ml) a una disolución de 0,82 g (2,34 mmoles) del intermedio 1.2 en 50 ml de metanol. La agitación se mantiene durante 15 horas a 20°C. A continuación la mezcla de reacción se concentra parcialmente a vacío y se vuelve a disolver en 50 ml de diclorometano. La disolución orgánica se lava sucesivamente con 50 ml de una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>, 50 ml de agua y 50 ml de salmuera. Después de secado sobre sulfato de sodio, filtración y concentración a vacío, el residuo de evaporación se purifica sobre una columna de sílice (eluyente: heptano/AcOEt: 1/1 hasta 3/7). Se obtiene un sólido blanco con un rendimiento de 80%. Punto de fusión: 112-113°C.

1.4)  $N^1$ -[(3S)-2-metoxitetrahydrofuran-3-il]-L-leucinamida

En un reactor de acero inoxidable que contiene 60 ml de metanol se introducen 2 g (5,5 mmoles) del intermedio 1.3 y 600 mg de Pd/C al 10%. La mezcla se agita a 2 atm de presión de hidrógeno durante 1 hora. Después de filtración del catalizador, se evapora el metanol a vacío. El residuo aceitoso obtenido (1,20 g; 94%) se usa tal cual en la etapa siguiente.

1.5) 10H-fenotiazina-2-carbotioamida:

Se calienta a 110°C durante 1 hora 30 minutos una mezcla de reacción compuesta por 3,4 g (14 mmoles) de 10H-fenotiazina-2-carboxamida (*J. Org. Chem.* 1961, 26, 1138-1143) y de 3,4 g (8,4 mmoles) de reactivo de Lawesson en disolución en 40 ml de 1,4-dioxano al que se le han añadido 20 ml de piridina. La disolución de color castaño se concentra a continuación a vacío y el residuo se diluye en 200 ml de AcOEt y 100 ml de H<sub>2</sub>O. Después de agitación y decantación, se lava la fase sucesivamente con 100 ml de una disolución acuosa 1N de HCl y 100 ml de salmuera. Después de secado sobre sulfato de sodio, filtración y evaporación del disolvente a vacío se obtiene un polvo de color naranja. Este polvo se lava con Et<sub>2</sub>O, se elimina el filtrado y se extrae con acetona. El filtrado acetónico se concentra a continuación a vacío y el residuo de evaporación se purifica a continuación en una columna de sílice (eluyente: heptano/AcOEt: 1/1 hasta 4/6). Polvo naranja. Punto de fusión: 208-209°C.

1.6) Hidroyoduro de 10H-fenotiazina-2-carbimidatoato de metilo:

A una disolución de 1,05 g (4,1 mmoles) del intermedio 1.5 en 10 ml de acetona, se le añaden 0,3 ml (1,2 equiv.) de yodometano a 23°C. La mezcla de reacción se agita durante 15 horas. El precipitado formado se filtra y se lava sucesivamente con acetona e isopentano. Se obtiene un sólido de color castaño violáceo con un rendimiento de 85%. Punto de fusión: 207-208°C.

1.7) Hidroyoduro de  $N^2$ -[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]- $N^1$ -[(3S)-2-metoxitetrahydrofuran-3-il]-L-leucinamida:

A una disolución de 0,68 g (2,95 mmoles) del intermedio 1.4 en 20 ml de isopropanol, se le añaden 1,18 g (1 equiv.) del intermedio 1.6. La mezcla de reacción se agita a 60°C durante 15 horas. El metanotol liberado durante la reacción se recoge sucesivamente por medio de una disolución de sosa y una disolución de permanganato de potasio. El sólido formado se aísla por filtración y se lava con Et<sub>2</sub>O antes de ser purificado en una columna de sílice (eluyente: heptano/AcOEt: 1/1 a 0/1). Se obtiene un sólido de color naranja con un rendimiento de 70%. Punto de fusión: 155-165°C.

Ejemplo 2: Hidroyoduro de  $N^1$ -[(3S)-2-(benciloxi)tetrahydrofuran-3-il]- $N^2$ -[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucinamida:

2.1)  $N^2$ -[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]- $N^1$ -[(3S)-2-oxotetrahydrofuran-3-il]-L-leucinamida:

El protocolo experimental usado es el mismo que el descrito para la síntesis del intermedio 1.1, pero reemplazando la Fmoc-L-leucina a la Cbz-L-leucina. Se obtiene por cristalización en AcOEt, 3,15 g de un sólido blanco con un rendimiento del 72%. Punto de fusión: 175-176°C.

2.2)  $N^2$ -[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]- $N^1$ -[(3S)-2-hidroxitetrahydrofuran-3-il]-L-leucinamida:

El protocolo experimental es el mismo que el usado para la síntesis del intermedio 1.2, reemplazando el intermedio 2.1 al intermedio 1.1. Después de purificación en columna de sílice (heptano/AcOEt: 1/1), se obtienen 2,16 g de un sólido blanco con un rendimiento del 68%. Punto de fusión: 155-156°C

2.3)  $N^1$ -[(3S)-2-(benciloxi)tetrahydrofuran-3-il]- $N^2$ -[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]-L-leucinamida:

Se añaden 0,41 ml (1,1 equiv.) de alcohol bencílico y 0,11 g (0,13 equiv.) de ácido canforsulfónico a una suspensión de 1,57 g (3,58 mmoles) del intermedio 2.2 en 7 ml de diclorometano. A medida que avanza la reacción, el medio de reacción se vuelve homogéneo. Después de 24 horas de agitación, el conjunto se diluye con 25 ml de agua y 25 ml

de diclorometano, se agita y se decanta. La disolución orgánica se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra a sequedad. El residuo se purifica en una columna de sílice (heptano/AcOEt: 1/0 hasta 1/1). Se obtienen, después de evaporación, 1,43 g de un sólido blanco con un rendimiento de 76%. Punto de fusión: 116-117°C.

5 **2.4)  $N^1$ -[(3S)-2-(benciloxi)tetrahidrofuran-3-il]-L-leucinamida:**

10 A una disolución de 0,2 g (0,38 mmoles) del intermedio 2.3 en disolución en 3,5 ml de diclorometano, se le añaden gota a gota 0,2 ml (5 equiv.) de dietilamina. La mezcla de reacción se agita a 23°C durante 5 horas y 30 minutos antes de ser concentrada a vacío hasta sequedad. El residuo se redissuelve parcialmente en Et<sub>2</sub>O y se almacena a 4°C durante algunas horas. El precipitado blanco formado se elimina por filtración y el filtrado se concentra hasta sequedad. El residuo de evaporación se utiliza tal cual en la etapa siguiente.

15 **2.5) Hidroyoduro de  $N^1$ -[(3S)-2-(benciloxi)tetrahidrofuran-3-il]- $N^2$ -[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucinamida:**

15 El protocolo experimental usado es el mismo que el descrito para la síntesis del intermedio 1.7 por reacción del intermedio 1.6 con el intermedio 2.4 que se usa en lugar del intermedio 1.4. El producto de la reacción se purifica en columna de sílice (heptano/AcOEt: 1/1 hasta 0/1). Después de la evaporación de las fracciones más puras, el residuo se mezcla en isopentano/AcOEt para llevar a un precipitado de color naranja pálido. Se obtienen 430 mg del producto esperado con un rendimiento de 53%. Punto de fusión: 140-145°C.

20 Ejemplo 3: Hidroyoduro de  $N^2$ -[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]- $N^1$ -[(3S)-2-(2-neftilmetoxi)tetrahidrofuran-3-il]-L-leucinamida:

25 **3.1)  $N^2$ -[(9H-fluoren-9-ilmetoxi)carbonil]- $N^1$ -[(3S)-2-(2-naftilmetoxi)tetrahidrofuran-3-il]-L-leucinamida:**

25 El protocolo experimental usado es el mismo que el descrito para la síntesis del intermedio 2.3 a partir del intermedio 2.2 y del 2-hidroximetilnaftaleno usado en lugar del alcohol bencilico. Después de purificación en columna de sílice (heptano/AcOEt: 7/3) se obtienen 1,38 g de un sólido blanco con un rendimiento de 66%. Punto de fusión: 79-80°C.

30 **3.2)  $N^1$ -[(3S)-2-(2-naftilmetoxi)tetrahidrofuran-3-il]-L-leucinamida:**

30 El protocolo experimental usado es el mismo que el descrito para la síntesis del intermedio 2.4, remplazando el intermedio 3.1 al intermedio 2.3. El producto se obtiene después de la eliminación de los derivados dibencenofulvenos y se usa tal cual en la etapa siguiente.

35 **2.5) Hidroyoduro de  $N^2$ -[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]- $N^1$ -[(3S)-2-(2-naftilmetoxi)tetrahidrofuran-3-il]-L-leucinamida:**

40 El protocolo experimental usado es el mismo que el descrito para la síntesis del intermedio 1.7, a partir del intermedio 1.6 y del intermedio 3.2 usado en lugar del intermedio 1.4. El producto de la reacción de condensación se purifica en una columna de sílice (heptano/AcOEt: 1/1 hasta 0/1). Después de la evaporación de las fracciones más puras, el residuo se mezcla en isopentano/AcOEt para llevar a un precipitado de color naranja. Se obtienen 530 mg del producto esperado con un rendimiento de 64%. Punto de fusión: 145-148°C.

45 Ejemplo 4: Hidroyoduro del acetato de (3S)-3({N-[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucil}amino)tetrahidrofuran-2-ilo:

50 **4.1) Acetato de (3S)-3({N-[benciloxi]carbonil}-L-leucil}amino)tetrahidrofuran-2-ilo:**

50 En atmósfera de argón, se disuelven 2 g (5,73 mmoles) del intermedio 1.2 y 0,14 g (0,2 equiv.) de 4-dimetilaminopiridina en 13 ml de diclorometano anhidro. A esta disolución se le añaden, gota a gota, 5,4 ml (10 equiv.) de anhídrido acético. Después de 5 horas de agitación a 23°C, la mezcla de reacción se diluye con 50 ml de diclorometano y 50 ml de agua. La fase orgánica se lava a continuación sucesivamente con 50 ml de una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>, 50 ml de agua y finalmente salmuera. La disolución de diclorometano se seca sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtra y se concentra a vacío hasta sequedad. El residuo obtenido se mezcla con Et<sub>2</sub>O, se filtra y se lava con isopentano. Se obtienen 1,14 g de un sólido blanco con un rendimiento de 50%. Punto de fusión: 158-159°C.

55 **4.2) Acetato de (3S)-3-(L-leucilamino)tetrahidrofuran-2-ilo:**

60 En un reactor de acero inoxidable que contiene 30 ml de ácido acético, se introducen 1,14 g (2,89 mmoles) del intermedio 4.1 y 227 mg de Pd/C al 10%. La mezcla se agita a 2 atm de presión de hidrógeno durante 4 horas 30 minutos. Después de filtración del catalizador, se evapora el ácido acético a vacío. El residuo aceitoso obtenido se reparte entre 50 ml de diclorometano y 50 ml de una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub>. La agitación y decantación son seguidas por un lavado de la fase orgánica con agua y salmuera. Después de secado sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, filtración y concentración, el aceite incoloro obtenido cristaliza espontáneamente para llevar a 0,45 g de un sólido blanco con un rendimiento de 60%. Punto de fusión: 75-80°C.

65

4.3) *Hidroyoduro del acetato de (3S)-3-((N-[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucil)amino)tetrahidrofuran-2-ilo:*

El protocolo experimental usado es el mismo que el descrito para la síntesis del intermedio 1.7, a partir del intermedio 1.6 y del intermedio 4.2, excepto que el disolvente de la reacción es en este caso el THF y que el tiempo de calentamiento está limitado a 4 horas. La mezcla de reacción se adsorbe directamente sobre sílice y se deposita en el extremo superior de una columna de cromatografía (heptano/AcOEt: 3/7 hasta 0/1) para su purificación. Después de la recolección y evaporación de las fracciones puras, se obtienen 0,27 g de un sólido de color naranja con un rendimiento de 18%. Punto de fusión: 130-131°C:

10 Ejemplo 5: Hidroyoduro de N<sup>1</sup>-[(3S)-2-hidroxitetrahidrofuran-3-il]-N<sup>2</sup>-[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucinamida:

A una disolución de 0,42 g (0,69 mmoles) del intermedio 4.3 en 42 ml de THF, se le añaden, a 23°C, 12 mg (0,1 equiv.) de ácido bencenosulfónico. Después de 5 horas 30 minutos de agitación a 23°C, se añaden 137 ml de una disolución 0,5M de NaHCO<sub>3</sub> (0,1 equiv.). La agitación se mantiene durante 5 minutos suplementarios con filtración del precipitado formado. El filtrado se concentra hasta sequedad y el residuo se purifica sobre una columna de sílice (diclorometano/EtOH: 95/5 hasta 90/10). Las fracciones puras se recogen y se evaporan para llevar a 171 mg de un sólido de color naranja con un rendimiento del 43%. Punto de fusión: 148-150°C.

20 Ejemplo 6

6.1) *N-etil-10H-fenotiazina-2-carboxamida:*

A una disolución de 2,43 g (10 mmoles) del ácido 10H-fenotiazina-2-carboxílico, 1,79 g (2,2 equiv.) de hidrocloreto de etilamina y 4,17 g (1,1 equiv.) de HBTU en 50 ml de DMF, enfriada a 0°C, se le añaden gota a gota 5,8 ml (3,3 equiv.) de DIEA. La mezcla de reacción se agita durante 15 horas, a 23°C, y a continuación se vierte en una mezcla de 100 ml de una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y 100 ml de AcOEt. Después de algunos minutos de agitación, el precipitado formado se elimina por filtración y se decanta el filtrado. La fase orgánica se lava sucesivamente con agua, con una disolución 1M de ácido cítrico y con salmuera. La disolución orgánica se seca sobre sulfato de sodio, se filtra y se concentra a vacío hasta sequedad. El sólido obtenido se pone en suspensión en Et<sub>2</sub>O, se tritura y se filtra. Se obtiene un sólido de color beis con un rendimiento cuantitativo. Punto de fusión: 150-151°C.

6.2) *N-etil-10H-fenotiazina-2-carbotioamida:*

El protocolo experimental usado es el mismo que el descrito para el intermedio 1.5, remplazando el intermedio 6.1 a la 10H-fenotiazina-2-carboxamida. Se obtienen 2,17 g de un sólido amarillo con un rendimiento de 60%. Punto de fusión: 155-156°C.

6.3) *Hidrocloreto de N-etil-10H-fenotiazina-2-carbimidotioato de metilo:*

El protocolo experimental utilizado es el mismo que el descrito para el intermedio 1,6 por medio de yodometano, remplazando el intermedio 6.2 al intermedio 1.5. El compuesto obtenido se salifica, en forma de hidroyoduro, y a continuación se reparte entre una disolución saturada de NaHCO<sub>3</sub> y AcOEt. Después de decantación, la fase orgánica se lava con agua y con salmuera, se seca sobre sulfato de sodio y se filtra. A esta disolución orgánica enfriada a 0°C se le añaden a continuación 1,1 equiv. de una disolución valorada 1N de HCl en Et<sub>2</sub>O anhidro. Después de una hora de agitación a 23°C, la mezcla de reacción se concentra hasta sequedad a vacío. El residuo de evaporación se pone finalmente en suspensión en Et<sub>2</sub>O y se filtra. Se obtiene un sólido de color rojo oscuro. Punto de fusión: 142-143°C.

50 Ejemplo 7: Hidrocloreto de N<sup>1</sup>-[(3S)-2-hidroxitetrahidrofuran-3-il]-N<sup>2</sup>-[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucinamida:

Una disolución de 2,5 g (4,4 mmoles) del compuesto del ejemplo 5 en 1 litro de agua destilada se deposita en la parte superior de una columna que contiene aproximadamente 10 equivalentes de una resina de intercambio Dowex-1X2 equilibrada previamente en forma de cloruro. El compuesto se eluye gota a gota de la columna mediante agua destilada. Las fracciones que contienen el compuesto esperado se recogen y se liofilizan. Se obtienen 1,55 g (rendimiento: 74%) de un sólido amarillo. Punto de fusión: 202-205°C.

**Estudio farmacológico de los compuestos de la invención:**

Las composiciones según la invención son las siguientes:

60 **Composición 1:** Hidroyoduro de N<sup>1</sup>-[(3S)-2-hidroxitetrahidrofuran-3-il]-N<sup>2</sup>-[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucinamida (ejemplo 5) +  $\alpha$ -metilprednisolona;

65 **Composición 2:** acetato de (3S)-3-[[N-(10H-fenotiazin-2-ilcarbonil)-L-leucil]amino]tetrahidrofuran-2-ilo;

**Composición 3:** hidrocloreto de  $N^1$ -[(3S)-2-hidroxitetrahydrofuran-3-il]- $N^2$ -[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucinamida.

5 Efecto protector de la composición según la invención sobre la muerte celular inducida por maitotoxina sobre las células esqueléticas humanas (SKM)

10 El principio del análisis es el siguiente: la maitotoxina es una toxina que provoca la apertura de los canales del calcio de las células. El flujo intracelular del calcio que resulta de ello es el origen de la muerte de la célula. En el transcurso de este proceso de muerte celular, se activa una proteasa dependiente de la cisteína, la calpaína, y se producen abundantemente radicales libres. El ensayo consiste en incubar las células en presencia de la composición que se va a ensayar con el fin de retrasar o de inactivar la muerte y así determinar el efecto protector.

15 Los mioblastos se siembran a razón de 2.500 células por pocillo en placas de 96 pocillos en un medio de cultivo DMEM con 10% de FBS (suero bovino fetal) suplementado con anfotericina B, factor de crecimiento epidérmico recombinante humano y dexametasona. Tres días después de la siembra, las células se adhieren al fondo de los pocillos, la diferenciación de las células en miotubos se induce por adición de 100  $\mu$ l de medio DMEM F12 que contiene 2% de suero de caballo. Después de tres días suplementarios, se depositan 100  $\mu$ l de la composición que se va a ensayar en el fondo de los pocillos. Después de una hora de incubación a 37°C en atmósfera de 5% de CO<sub>2</sub>, se añade la maitotoxina (MTX) (Wako, ref: 131-10731) para evaluar el efecto protector (efecto-concentración) del compuesto que se va a ensayar sobre la muerte celular.

20 Después de un tiempo de incubación de 24 horas, el medio de cultivo se reemplaza por un medio DMEM con 10% de FBS suplementado con 10% de WST-1. El WST-1 (Roche, referencia 1644807) es un reactivo colorante de las células metabólicamente activas, es decir de las células vivas. Las células se incuban durante 1 hora en presencia de WST-1. A continuación se determina el número de células vivas mediante un dispositivo Perkin Elmer Wallac Envision 2101 por lectura de la absorbancia a 450 nm. A continuación se calcula el efecto-concentración así como la tasa de supervivencia de las células.

25 La CE<sub>50</sub> (concentración de la composición de ensayo que protege el 50% de las células de la muerte celular) se calcula a partir de este efecto-concentración. La CE<sub>50</sub> se deduce a partir de una regresión lineal: concentración con respecto al porcentaje de protección. El método matemático usado es la aproximación por isoblograma descrito en "Drug synergism and dose-effect data analysis, Ronald J. Tallarida, Chapman & Hall/ CRC 2000".

35 Los resultados se presentan en la tabla 1 siguiente:

Compuesto		Proporción	Tasa de mortalidad celular inducida por la toxina	CE <sub>50</sub> μM después de 24 h de incubación con la toxina
Comp. del ejemplo 5	A	1	84%	6,26 μM
α-metilprednisolona	B	2		87,64 μM
<b>Composición 1</b>	<b>(B + A)</b>	<b>0,925 B + 0,075 A</b>		<b>28,12 μM</b>
Efecto aditivo teórico esperado para la composición 1	(B + A)	$0,925B + 0,075A Z_{añad.} = 0,925 \times 87,64 \mu\text{M} + 0,075 \times 6,26 \mu\text{M}$		81,53 μM
(3S)-3-([N-(10H-fenotiazin-2ilcarbonil) – L-leucil]amino} tetrahidrofuran-2-il-acetato	C	1	97%	29,10 μM
α-metilprednisolona	B	1		106,98 μM
<b>Composición 2</b>	<b>(B + C)</b>	<b>0,8B + 0,2C</b>		<b>50,51 μM</b>
Efecto aditivo teórico esperado para la composición 2	(B + C)	$0,8B + 0,2C Z_{añad.} = 0,8 \times 106,98 \mu\text{M} + 0,2 \times 29,10 \mu\text{M}$		91,40 μM
Compuesto del Ej. 7	D	1	96%	5,92 μM
α-metilprednisolona	B	1		169,27 μM
<b>Composición 3</b>	<b>(B + D)</b>	<b>0,952 B + 0,048 D</b>		<b>52,50 μM</b>
Efecto aditivo teórico esperado para la composición 3	(B + D)	$0,952 B + 0,048 D Z_{añad.} = 0,952 \times 169,27 \mu\text{M} + 0,048 \times 5,92 \mu\text{M}$		161,49 μM
<b>Composición 3</b>	<b>(B + D)'</b>	<b>0,909 B + 0,091 D</b>		<b>38,59 μM</b>
Efecto aditivo teórico esperado para la composición 3	(B + D)'	$0,909 B + 0,091 D Z_{añad.} = 0,909 \times 169,27 \mu\text{M} + 0,091 \times 5,92 \mu\text{M}$		154,42 μM
<b>Composición 3</b>	<b>(B + D)''</b>	<b>0,833 B + 0,167 D</b>		<b>27,86 μM</b>
Efecto aditivo teórico esperado para la composición 3	(B + D)''	$0,833 B + 0,167 D Z_{añad.} = 0,833 \times 169,27 \mu\text{M} + 0,167 \times 5,92 \mu\text{M}$		142,05 μM
<b>Composición 3</b>	<b>(B + D)'''</b>	<b>0,714 B + 0,286 D</b>	<b>12,83 μM</b>	
Efecto aditivo teórico esperado para la composición 3	(B + D)'''	$0,714 B + 0,286 D Z_{añad.} = 0,714 \times 169,27 \mu\text{M} + 0,286 \times 5,92 \mu\text{M}$	122,60 μM	

La composición 1 presenta, en este ensayo, una CE<sub>50</sub> de 28,12 μM después de 24 horas de incubación en presencia de la maitotoxina.

5 Se realiza un ensayo comparativo con la α-metilprednisolona que es un compuesto usado para el tratamiento de la distrofia muscular de Duchenne. En comparación, con el mismo ensayo y en las mismas condiciones, la α-metilprednisolona presenta una CE<sub>50</sub> de 87,64 μM después de 24 horas en presencia de maitotoxina.

10 El efecto de sinergia entre los compuestos se demuestra mediante un cálculo. En efecto, mediante el método del isoblograma se calcula que una simple adición del efecto de los constituyentes de la composición 1 habría demostrado una CE<sub>50</sub> de 81,53 μM. Ahora bien, se ha demostrado una CE<sub>50</sub> de 28,12 μM lo que indica claramente un efecto de sinergia entre los constituyentes.

15 La composición 2 presenta, en este ensayo, una CE<sub>50</sub> de 50,51 μM después de 24 horas de incubación en presencia de la maitotoxina.

20 Se realiza un ensayo comparativo con la α-metilprednisolona en condiciones más drásticas (97% de mortalidad inducida). En comparación, con el mismo ensayo y en las mismas condiciones, la α-metilprednisolona presenta una CE<sub>50</sub> de 106,98 μM después de 24 horas en presencia de maitotoxina.

25 El efecto de sinergia entre los compuestos se demuestra mediante un cálculo. En efecto, mediante el método del isoblograma se calcula que una simple adición del efecto de los constituyentes de la composición 2 habría demostrado una CE<sub>50</sub> de 91,40 μM. Ahora bien, se ha demostrado una CE<sub>50</sub> de 50,51 μM lo que indica claramente un efecto de sinergia entre los constituyentes.

La composición 3 presenta respectivamente, en este ensayo, valores de CE<sub>50</sub> de 52,50 μM; 38,59 μM; 27,86 μM y 12,83 μM en función de las diversas proporciones entre la α-metilprednisolona y el compuesto del ejemplo 7 usadas

(0,952/0,048; 0,909/0,091; 0,833/0,167 y 0,714/0,286, respectivamente) después de 24 horas de incubación en presencia de la maitotoxina.

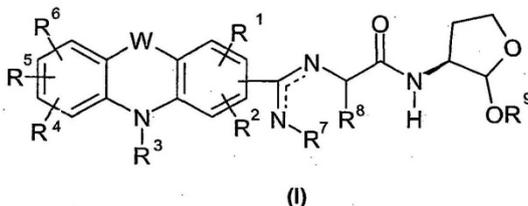
5 Se realiza un ensayo comparativo con la  $\alpha$ -metilprednisolona en las mismas condiciones drásticas (96% de mortalidad inducida). En comparación, con el mismo ensayo y en las mismas condiciones, la  $\alpha$ -metilprednisolona presenta una  $CE_{50}$  de 169,27  $\mu$ M después de 24 horas en presencia de maitotoxina.

10 El efecto de sinergia entre los compuestos se demuestra mediante un cálculo. En efecto, mediante el método del isoblograma se calcula que una simple adición del efecto de los constituyentes de la composición 3 habría demostrado una  $CE_{50}$  de 161,49  $\mu$ M, 154,42  $\mu$ M, 142,05  $\mu$ M y 122,60  $\mu$ M en función de las diferentes proporciones usadas de  $\alpha$ -metilprednisolona/compuesto del ejemplo 7, es decir: 0,952/0,048; 0,909/0,091; 0,833/0,167 y 0,714/0,286, respectivamente. Ahora bien, se han demostrado valores de  $CE_{50}$  de 52,50  $\mu$ M, 38,59  $\mu$ M, 27,86  $\mu$ M y 12,83  $\mu$ M respectivamente, lo que indica claramente un efecto de sinergia entre los constituyentes.

**REIVINDICACIONES**

1.- Composición que contiene al menos un compuesto elegido entre los esteroides, los corticoides o los corticosteroides, o sus sales, y que contiene al menos un compuesto elegido entre bien

5 a) los compuestos de fórmula general (I) o sus sales



en forma racémica, de diastereoisómeros o cualquier combinación de estas formas,

10 en la que:

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>4</sup>, R<sup>5</sup> y R<sup>6</sup> representan, independientemente, un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno, el grupo OH, un radical alquilo, alcoxi, ciano, nitro, amino, alquilamino o ácido carboxílico;

15 R<sup>3</sup> representa un átomo de hidrógeno, un radical alquilo o un grupo –COR<sup>10</sup>;

R<sup>10</sup> representa un átomo de hidrógeno o un radical alquilo, alcoxi, arilo o un radical heterocíclico;

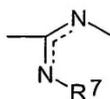
20 W representa un átomo de oxígeno o un átomo de azufre o bien –W- representa un enlace;

R<sup>7</sup> representa un átomo de hidrógeno o un radical alquilo;

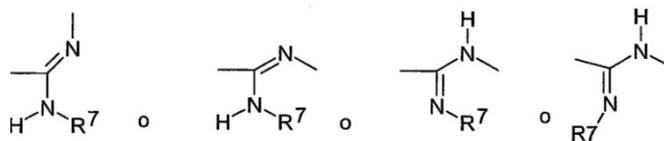
25 R<sup>8</sup> representa un átomo de hidrógeno, un radical haloalquilo o alquenoilo, un radical cicloalquilo, un radical alquilo lineal o ramificado, sustituido o no, que cuando está sustituido lleva una función química tal como ácido carboxílico, amina, alcohol, guanidina, amidina, tiol, tioéter, tioéster, alcoxi, heterociclo o carboxamida;

30 R<sup>9</sup> representa un átomo de hidrógeno, un radical alquilo, arilo, arilalquilo, bisarilalquilo, un radical heterocíclico, un radical heterocíclico alquilo o un grupo –COR<sup>10</sup>,

entendiéndose que:

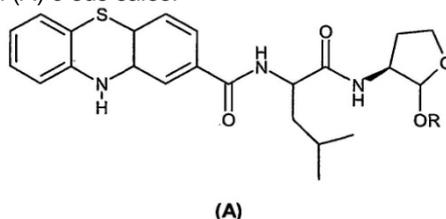


significa



35 o bien

b) los compuestos de fórmula general (A) o sus sales:



en forma racémica, de diastereoisómeros o cualquier combinación de estas formas,

40 en la que R representa el átomo de hidrógeno o –C(O)R' en la que R' representa un radical alquilo.

2.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>1</sup> es un átomo de hidrógeno.

- 3.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>2</sup> es un átomo de hidrógeno.
- 4.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>3</sup> es un átomo de hidrógeno.
- 5 5.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>4</sup> es un átomo de hidrógeno.
- 6.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>5</sup> es un átomo de hidrógeno.
- 7.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>6</sup> es un átomo de hidrógeno.
- 10 8.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>7</sup> es un átomo de hidrógeno.
- 9.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>8</sup> es un radical isobutilo.
- 15 10.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque W es un átomo de azufre.
- 11.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>9</sup> es un átomo de hidrógeno.
- 12.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>9</sup> es un radical acetilo.
- 20 13.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>9</sup> es un radical metilo.
- 14.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>9</sup> es un radical bencilo.
- 25 15.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R<sup>9</sup> es un radical naftilmetilo.
- 16.- Composición según la reivindicación 1, caracterizada porque R es un radical -C(O)-CH<sub>3</sub>.
- 17.- Composición según una de las reivindicaciones precedentes, caracterizada porque comprende al menos un compuesto elegido entre los compuestos siguientes o sus sales:
- 30 N<sup>2</sup>-[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-N<sup>1</sup>-[(3S)-2-metoxitetrahydrofuran-3-il]-L-leucinamida;
- N<sup>1</sup>-[(3S)-2-(benciloxi)tetrahydrofuran-3-il]-N<sup>2</sup>-[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucinamida;
- 35 N<sup>2</sup>-[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-N<sup>1</sup>-[(3S)-2-(2-naftilmetoxi)tetrahydrofuran-3-il]-L-leucinamida;
- acetato de (3S)-{(N-[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucil)amino}tetrahydrofuran-2-ilo;
- 40 N<sup>1</sup>-[(3S)-2-hidroxitetrahydrofuran-3-il]-N<sup>2</sup>-[imino(10H-fenotiazin-2-il)metil]-L-leucinamida;
- N-[(1S)-1-(((2S)-2-hidroxitetrahydrofuran-3-il)amino)carbonil]-3-metilbutil]-10H-fenotiazina-2-carboxamida;
- N-[(1S)-1-(((2R)-2-hidroxitetrahydrofuran-3-il)amino)carbonil]-3-metilbutil]-10H-fenotiazina-2-carboxamida;
- 45 N-[(1R)-1-(((2S)-2-hidroxitetrahydrofuran-3-il)amino)carbonil]-3-metilbutil]-10H-fenotiazina-2-carboxamida;
- N-[(1R)-1-(((2R)-2-hidroxitetrahydrofuran-3-il)amino)carbonil]-3-metilbutil]-10H-fenotiazina-2-carboxamida;
- 50 acetato de (2R,3S)-3-[[N-(10H-fenotiazin-2-ilcarbonil)-L-leucil]amino]tetrahydrofuran-2-ilo;
- acetato de (2S,3S)-3-[[N-(10H-fenotiazin-2-ilcarbonil)-L-leucil]amino]tetrahydrofuran-2-ilo;
- acetato de (2R,3S)-3-[[N-(10H-fenotiazin-2-ilcarbonil)-D-leucil]amino]tetrahydrofuran-2-ilo;
- 55 acetato de (2S,3S)-3-[[N-(10H-fenotiazin-2-ilcarbonil)-D-leucil]amino]tetrahydrofuran-2-ilo;
- acetato de (3S)-3-[[N-(10H-fenotiazin-2-ilcarbonil)-L-leucil]amino]tetrahydrofuran-2-ilo.
- 60 18.- Composición según una de las reivindicaciones 1 a 16, caracterizada porque el esteroide es la dexametasona o la oxandrolona.
- 19.- Composición según una de las reivindicaciones 1 a 16, caracterizada porque el corticoide es la cortisona.
- 65

20.- Composición según una de las reivindicaciones 1 a 16, caracterizada porque el corticosteroide es la prednisona o la prednisolona o la  $\alpha$ -metilprednisolona o el deflazacort.

5 21.- Composición según una de las reivindicaciones 1 a 20 para su uso como sustancia terapéuticamente activa para tratar las enfermedades y trastornos elegidos entre las enfermedades inflamatorias o inmunológicas, las enfermedades cardiovasculares, las enfermedades cerebrovasculares, los trastornos del sistema nervioso central o periférico, la caquexia, la sarcopenia, la pérdida de audición, la osteoporosis, las distrofias musculares, las enfermedades proliferativas cancerosas o no, la catarata, las reacciones de rechazo después de los trasplantes de órganos, las enfermedades autoinmunes, las enfermedades víricas, la nefrotoxicidad o el cáncer.

10 22.- Composición según una de las reivindicaciones 1 a 20 para su uso como sustancia terapéuticamente activa para tratar las distrofias musculares, en particular la distrofia muscular de Duchenne, la distrofia muscular de Becker, la distrofia muscular miotónica o enfermedad de Steiner, la distrofia muscular congénita, la distrofia muscular de cinturas y la distrofia muscular fascio-escápulo-humeral.

15 23.- Composición tal como se ha definido en las reivindicaciones 1 a 20 para su uso como medicamento.

20 24.- Composiciones farmacéuticas que contienen al menos una composición tal como se ha definido en las reivindicaciones 1 a 20, o al menos una sal farmacéuticamente aceptable de esta composición.