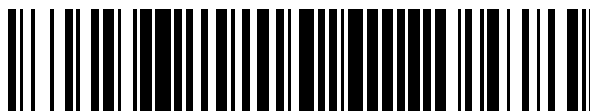


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 428 917**

51 Int. Cl.:

**C07D 401/12** (2006.01)

**A61K 31/415** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.10.2009 E 09736271 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.06.2013 EP 2350047**

54 Título: **Inhibidores de p38 MAP cinasa**

30 Prioridad:

**02.10.2008 GB 0818033**

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

**12.11.2013**

73 Titular/es:

**RESPIVERT LIMITED (100.0%)  
50-100 Holmers Farm Way  
High Wycombe Buckinghamshire HP12 4EG, GB**

72 Inventor/es:

**ITO, KAZUHIRO;  
STRONG, PETER;  
RAPEPORT, WILLIAM GARTH;  
KING-UNDERWOOD, JOHN;  
WILLIAMS, JONATHAN GARETH;  
ONIONS, STUART THOMAS;  
MURRAY, PETER JOHN y  
CHARRON, CATHERINE ELISABETH**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 428 917 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

Inhibidores de p38 MAP cinasa

Campo de la invención

5 La invención se refiere a compuestos que son inhibidores de enzimas p38 proteína cinasas activadas por mitógenos (denominados aquí como inhibidores de p38 MAP cinasas), particularmente los subtipos de cinasas alfa y gamma de las mismas, y a su uso en terapia, especialmente en el tratamiento de enfermedades inflamatorias, incluyendo enfermedades inflamatorias de los pulmones.

Antecedentes de la invención

10 Se han identificado cuatro isoformas de p38 MAPK (alfa, beta, gamma y delta, respectivamente), presentando cada una un patrón de expresión específico de tejidos. Las isoformas alfa y beta de p38 MAPK se expresan ubicuamente por todo el cuerpo, y se encuentran en muchos tipos celulares diferentes. Las isoformas alfa y beta de p38 MAPK son inhibidas por ciertos inhibidores conocidos de p38 MAPK de tipo pequeña molécula. Las generaciones más tempranas de compuestos fueron muy tóxicas debido al patrón de expresión ubicua de estas isoformas y a efectos fuera de diana de los compuestos. Los inhibidores más recientes están mejorados para ser muy selectivos para las isoformas alfa y beta de p38 MAPK, y tienen un margen de seguridad más amplio.

15 Se sabe menos sobre las isoformas gamma y delta de p38 MAPK. Estas isoformas se expresan en tejidos/células específicos (a diferencia de las isoformas p38 alfa y p38 beta). La isoforma p38 MAPK-delta se expresa más en el páncreas, testículos, pulmón, intestino delgado y riñón. También es abundante en macrófagos (Smith, S.J. (2006) Br. J. Pharmacol. 149:393-404) y es detectable en neutrófilos, células T CD4+ y células endoteliales (www.genecard.org, Karin, K. (1999) J. Immunol.). Se sabe muy poco sobre la expresión de p38 MAPK gamma, pero se expresa más en cerebro, músculo esquelético y corazón, así como en linfocitos y macrófagos (www.genecard.org).

20 Los inhibidores de tipo pequeña molécula selectivos de p38 MAPK-gamma y -delta no están actualmente disponibles, pero el único inhibidor existente tiene acciones inhibitoras panisoformas. BIRB 796 inhibe todas las isoformas, pero inhibe p38 gamma y p38 delta a concentraciones mayores que aquellas a las que inhibe p38 alfa y p38 beta (Kuma, Y. (2005) J. Biol. Chem. 280:19472-19479). BIRB 796 también altera la fosforilación de las p38 MAPKs o JNKs mediante la cinasa MKK6 o MKK4 aguas arriba. Los autores discutieron la posibilidad de que el cambio conformacional provocado por la unión del inhibidor a la MAPK puede afectar a la estructura de tanto su sitio de fosforilación como el sitio de amarre del activador aguas arriba, alterando por lo tanto la fosforilación de p38 MAPKs o JNKs.

25 Se cree que p38 MAP cinasa desempeña un papel crucial en muchas de las rutas de señalización que están implicadas en el inicio y el mantenimiento de inflamación crónica, persistente, en enfermedad humana, por ejemplo asma grave y COPD. Ahora hay abundante bibliografía que demuestra que la p38 MAP cinasa es activada por un abanico de citocinas proinflamatorias, y que su activación da como resultado la elaboración y liberación de otras citocinas proinflamatorias. De hecho, los datos procedentes de algunos estudios clínicos demuestran cambios beneficiosos en la actividad de la enfermedad en pacientes durante tratamiento con inhibidores de p38 MAP cinasa. Por ejemplo, Smith, S. J. (2006) Br. J. Pharmacol. 149:393-404 describen el efecto inhibitor de inhibidores de p38 MAP cinasa sobre la liberación de citocinas a partir de macrófagos humanos. Se propone el uso de inhibidores de p38 MAP cinasa en el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD). Los inhibidores de tipo pequeña molécula dirigidos a p38 MAPK  $\alpha/\beta$  han demostrado ser eficaces reduciendo diversos parámetros de inflamación en células y tejidos, obtenidos de pacientes con COPD que son generalmente insensibles a corticosteroides (Smith, S. J. (2006) Br. J. Pharmacol. 149:393-404) y modelos de animales *in vivo* (Underwood, D. C. et al. (2000) 279:895-902; Nath, P. et al. (2006) Eur. J. Pharmacol. 544:160-167). Irusen y colegas también sugieren la posibilidad de la implicación de p38 MAPK  $\alpha/\beta$  sobre la insensibilidad a corticosteroides vía la reducción de la afinidad de unión del receptor de glucocorticoides (GR) en núcleos (Irusen, E. et al., (2002) J. Allergy Clin. Immunol., 109:649-657). En Lee et al. (2005) Current Med. Chem. 12,:2979-2994 se describe una experiencia clínica con un abanico de inhibidores de p38 MAP cinasa, incluyendo AMG548, BIRB 796, VX702, SCIO469 y SCIO323. El documento US 6.525.046 B1 (Cirillo Pier Francesco et al) describe compuestos heterocíclicos aromáticos que inhiben la producción de citocinas implicadas en procesos inflamatorios y de este modo son útiles para tratar enfermedades y patologías que implican inflamación, tales como enfermedad inflamatoria crónica. El documento WO 03/072569 A1 (Boehringer Ingelheim Pharma) describe compuestos de urea benzocondensados 1,4-disustituidos que inhiben la producción de citocinas implicadas en procesos inflamatorios, y de este modo son útiles para tratar enfermedades y patologías que implican inflamación, tales como enfermedad inflamatoria crónica.

55 COPD es una afección en la que se ha dado a conocer que la inflamación subyacente es sustancialmente resistente a los efectos antiinflamatorios de corticosteroides inhalados. Consiguientemente, una estrategia eficaz para tratar COPD puede ser desarrollar una intervención que tenga tanto efectos antiinflamatorios inherentes como que sea capaz de incrementar la sensibilidad de tejidos pulmonares de pacientes con COPD a corticosteroides inhalados. La

publicación reciente de Mercado et al (2007; American Thoracic Society Abstract A56) demuestra que el silenciamiento de p38 gamma tiene el potencial para restaurar la sensibilidad a corticosteroides.

5 Sin embargo, el principal obstáculo que impide la definición y explotación de las utilidades potenciales de inhibidores de p38 MAP cinasa en el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas humanas ha sido la toxicidad observada en pacientes. Ésta ha sido suficientemente grave para dar como resultado la retirada del desarrollo clínico de muchos de los compuestos desarrollados.

10 Los compuestos desarrollados hasta la fecha se han destinado típicamente a la administración oral. Esta estrategia implica optimizar compuestos que logran su duración de acción mediante un perfil farmacocinético apropiado. Esto asegura que hay una concentración suficiente de fármaco establecida y mantenida después y entre dosis, para proporcionar un beneficio clínico. La consecuencia inevitable de este enfoque es que todos los tejidos corporales, especialmente el hígado y el intestino, probablemente se ven expuestos a concentraciones terapéuticamente activas del fármaco, tanto si se ven afectados de forma adversa o no por la enfermedad que se está tratando.

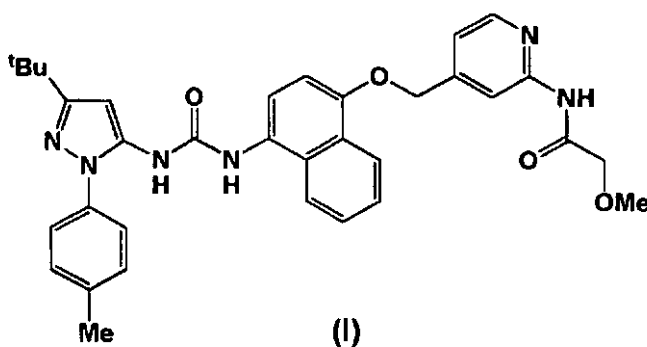
15 Una estrategia alternativa es diseñar enfoques de tratamiento en los que el fármaco se dosifica directamente al órgano inflamado (terapia tópica). Aunque este enfoque no es adecuado para tratar todas las enfermedades inflamatorias crónicas, se ha explotado ampliamente en enfermedades pulmonares (asma, COPD), enfermedades de la piel (dermatitis atópica y psoriasis), enfermedades nasales (rinitis alérgica) y enfermedades gastrointestinales (colitis ulcerosa).

20 En terapia tópica, la eficacia se puede lograr (i) asegurándose de que el fármaco tiene una duración de acción sostenida y es retenido en el órgano relevante para minimizar los riesgos de toxicidad sistemática, o (ii) produciendo una formulación que genera un "depósito" del fármaco activo que está disponible para sostener los efectos deseados del fármaco. El enfoque (i) se ejemplifica mediante el fármaco anticolinérgico tiotropio (Spiriva), que se administra tópicamente al pulmón como un tratamiento para COPD, y que tiene una afinidad excepcionalmente elevada por su receptor diana, dando como resultado una velocidad de disociación muy lenta y una duración de acción sostenida consiguiente.

25 Sigue existiendo la necesidad de identificar y desarrollar nuevos compuestos que son inhibidores de p38 MAP cinasa que tengan un potencial terapéutico mejorado, en particular que sean más eficaces, que actúen más tiempo y/o que sean menos tóxicos. Un objetivo de la presente invención es proporcionar compuestos que inhiban p38 MAP cinasa con cierta especificidad por el subtipo, que muestren buen potencial antiinflamatorio.

Sumario de la invención

30 Según la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I)



o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, incluyendo todos sus tautómeros.

Breve descripción de las figuras

35 La Figura 1 muestra el tiempo de predosificación frente al número de neutrófilos en BALF para el compuesto de fórmula (I) en el ensayo de acumulación de neutrófilos inducida por LPS.

La Figura 2 muestra el tiempo de predosificación frente al % de inhibición de neutrófilos para el compuesto de fórmula (I) en el ensayo de acumulación de neutrófilos inducida por LPS.

La Figura 3 muestra los efectos de la dosis para el compuesto de fórmula (I) sobre los números de macrófagos activados en el BAL de ratones expuestos a humo de cigarrillo.

40 La Figura 4 muestra los efectos de la dosis para el compuesto de fórmula (I) sobre los números de neutrófilos en el BAL de ratones expuestos a humo de cigarrillo.

La Figura 5 muestra el efecto para el compuesto de fórmula (I) sobre la función pulmonar de cobayas inoculados con el virus de para-influenza sensibilizados a ovoalbúmina, expuestos a ovoalbúmina.

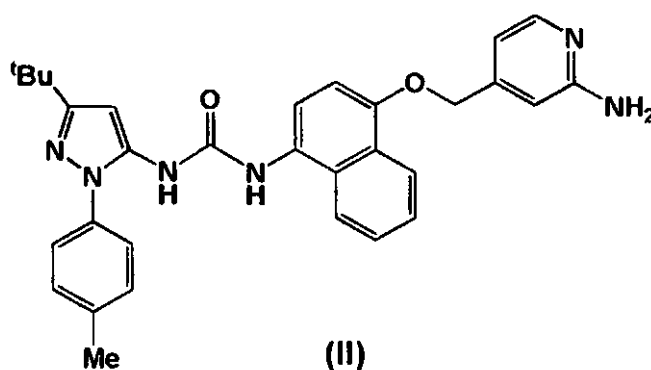
Descripción detallada de la invención

5 Los ejemplos de sales de compuesto (I) incluyen sales de adición de ácidos de ácidos minerales fuertes tales como sales de HCl y de HBr, y sales de adición de ácidos orgánicos fuertes, tales como una sal de ácido metanosulfónico.

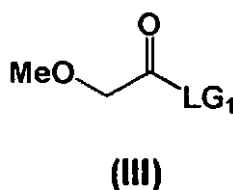
La descripción aquí también se extiende a solvatos de compuestos de fórmula (I). Los ejemplos de solvatos incluyen hidratos.

10 La descripción también se extiende a los compuestos de fórmula (I) en los que el átomo especificado en la fórmula es un isótopo de origen natural o de origen no natural. En una realización, el isótopo es un isótopo estable. De este modo, los compuestos de la descripción incluyen, por ejemplo, compuestos que contienen deuterio y similares.

Un procedimiento para preparar un compuesto de fórmula (I) comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II):

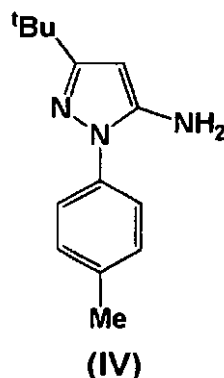


con un compuesto de fórmula (III):

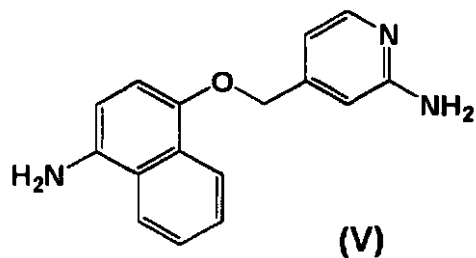


15 en la que  $LG_1$  representa un grupo saliente (por ejemplo cloro).  
La reacción se lleva a cabo adecuadamente en presencia de una base (por ejemplo diisopropiltilamina). La reacción se lleva a cabo adecuadamente en un disolvente aprótico o mezcla de disolventes, por ejemplo DCM y DMF.

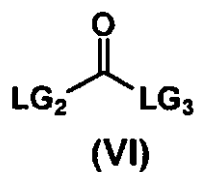
20 Un compuesto de fórmula (II) se puede preparar mediante reacción de un compuesto de fórmula (IV):



con un compuesto de fórmula (V):



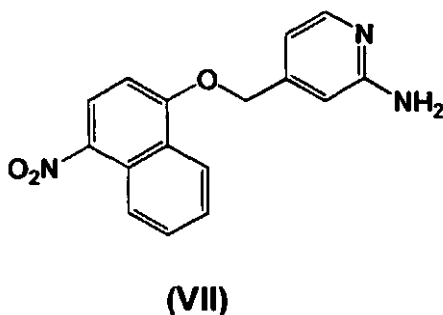
y un compuesto de fórmula (VI):



5 en la que LG<sub>2</sub> y LG<sub>3</sub> representan cada uno independientemente grupos salientes (por ejemplo, LG<sub>2</sub> y LG<sub>3</sub> representan ambos imidazolilo).

La reacción se lleva a cabo adecuadamente en un disolvente aprótico (por ejemplo diclorometano).

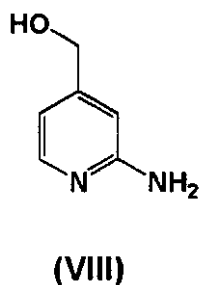
Un compuesto de fórmula (V) se puede preparar mediante reducción de un compuesto de fórmula (VII):



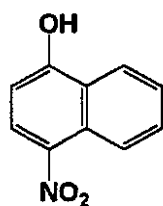
por ejemplo mediante hidrogenación en presencia de un catalizador tal como platino soportado sobre carbono.

10 La reacción se lleva a cabo adecuadamente en disolvente prótico polar (por ejemplo metanol y ácido acético, 1:1).

Un compuesto de fórmula (VII) se puede preparar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (VIII):



con un compuesto de fórmula (IX):

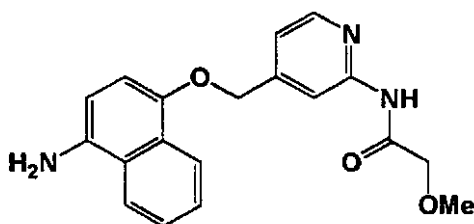


(IX)

en condiciones de Mitsunobu, tal como en presencia de trifenilfosfina y azodicarboxilato de diisopropilo.

La reacción se lleva a cabo adecuadamente en un disolvente aprótico polar (por ejemplo tetrahidrofurano).

Como alternativa, un compuesto de fórmula (I) se puede preparar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (X):

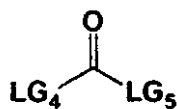


(X)

5

con un compuesto de fórmula (IV) como se define anteriormente

y un compuesto de fórmula (XI):

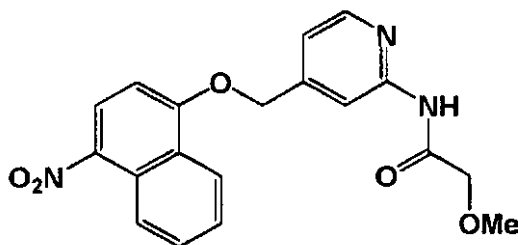


(XI)

10 en la que  $LG_4$  y  $LG_5$  representan cada uno independientemente grupos salientes (por ejemplo,  $LG_4$  y  $LG_5$  representan ambos imidazolilo).

La reacción se lleva a cabo adecuadamente en un disolvente aprótico polar.

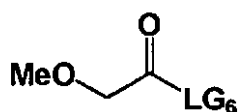
Un compuesto de fórmula (X) se puede preparar mediante reducción de un compuesto de fórmula (XII):



(XII)

por ejemplo mediante hidrogenación en presencia de un catalizador, tal como platino soportado sobre carbono.

15 Un compuesto de fórmula (XII) se puede preparar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (XIII):



(XIII)

en la que LG<sub>6</sub> representa un grupo saliente (por ejemplo cloro)

y un compuesto de fórmula (VII) definido anteriormente.

5 La reacción se lleva a cabo adecuadamente en presencia de una base (por ejemplo diisopropiletilamina). La reacción se lleva a cabo adecuadamente en un disolvente polar, por ejemplo una mezcla de DCM y DMF.

Los compuestos de fórmulas (III), (IV), (VI), (VIII), (IX), (XI) y (XIII) están comercialmente disponibles o son conocidos, y se pueden preparar mediante métodos convencionales. Véanse, por ejemplo, Regan, J. et al.; J. Med. Chem., 2003, 46, 4676-4686, documentos WO 00/043384, WO 2007/087448 y WO 2007/089512.

10 Si se desea o es necesario, los compuestos intermedios se pueden proteger mediante el uso de grupos protectores convencionales. Los grupos protectores y los medios para su eliminación se describen en "Protective Groups in Organic Synthesis", por Theodora W. Greene y Peter G.M. Wuts, publicado por John Wiley & Sons Inc; 4ª Edición Revisada, 2006, ISBN-10: 0471697540.

Los nuevos intermedios se reivindican como un aspecto de la invención.

15 Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) opcionalmente en combinación con uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.

Los diluyentes y vehículos pueden incluir aquellos adecuados para la administración parenteral, oral, tópica, mucosal y rectal.

20 Como se menciona anteriormente, tales composiciones se pueden preparar, por ejemplo, para administración parenteral, subcutánea, intramuscular, intravenosa, intraarticular o periarticular, particularmente en forma de disoluciones o suspensiones líquidas; para administración oral, particularmente en forma de comprimidos o cápsulas; para administración tópica, por ejemplo pulmonar o intranasal, particularmente en forma de polvos, gotas nasales o aerosoles, y administración transdérmica; para administración mucosal, por ejemplo a la mucosa bucal, sublingual o vaginal, y para administración rectal, por ejemplo en forma de un supositorio.

25 Las composiciones se pueden administrar convenientemente en una forma de dosis unitaria y se pueden preparar mediante cualquiera de los métodos bien conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo como se describe en Remington's Pharmaceutical Sciences, 17ª ed., Mack Publishing Company, Easton, PA., (1985). Las formulaciones para administración parenteral pueden contener como excipientes agua estéril o disolución salina, alquilenglicoles tales como propilenglicol, polialquilenglicoles tales como polietilenglicol, aceites de origen vegetal, naftalenos hidrogenados y similares. Las formulaciones para administración nasal pueden ser sólidas, y pueden contener excipientes, por ejemplo lactosa o dextrano, o pueden ser disoluciones acuosas u oleosas para uso en forma de gotas nasales o pulverización medida. Para la administración bucal, los excipientes típicos incluyen azúcares, estearato de calcio, estearato de magnesio, almidón pregelatinizado, y similares.

35 Las composiciones oralmente administrables pueden comprender uno o más vehículos y/o excipientes fisiológicamente compatibles, y pueden estar en forma sólida o líquida. Los comprimidos y cápsulas se pueden preparar con agentes aglutinantes, por ejemplo jarabe, goma arábiga, gelatina, sorbitol, goma de tragacanto, o polivinilpirrolidona; cargas, tales como lactosa, sacarosa, almidón de maíz, fosfato de calcio, sorbitol, o glicina; lubricantes, tales como estearato de magnesio, talco, polietilenglicol, o sílice; y tensioactivos, tales como laurilsulfato de sodio. Las composiciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, por ejemplo jarabe de sorbitol, metilcelulosa, jarabe de azúcar, gelatina, carboximetilcelulosa, o grasas comestibles; 40 agentes emulsionantes tales como lecitina, o goma arábiga; aceites vegetales tales como aceite de almendras, aceite de coco, aceite de hígado de bacalao, o aceite de cacahuete; conservantes tales como hidroxianisol butilado (BHA) e hidroxitolueno butilado (BHT). Las composiciones líquidas se pueden encapsular, por ejemplo, en gelatina para proporcionar una forma de dosificación unitaria.

45 Las formas de dosificación oral sólidas incluyen comprimidos, cápsulas de cubierta dura de dos piezas y cápsulas de gelatina elástica blanda (SEG).

Una formulación de cubierta seca comprende típicamente de alrededor de 40% a 60% de concentración de gelatina, alrededor de 20% a 30% de concentración de plastificante (tal como glicerina, sorbitol o propilenglicol) y alrededor de 30% a 40% de concentración de agua. También pueden estar presentes otros materiales tales como conservantes, colorantes, opacificantes y sabores. El material de relleno líquido comprende un fármaco sólido que

se ha disuelto, solubilizado o dispersado (con agentes de suspensión tales como cera de abeja, aceite de ricino hidrogenado o polietilenglicol 4000), o un fármaco líquido en vehículos o combinaciones de vehículos tales como aceite mineral, aceites vegetales, triglicéridos, glicoles, polioles y agentes tensioactivos.

5 Adecuadamente, el compuesto de fórmula (I) se administra tópicamente al pulmón. Por tanto, se proporciona según la invención una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) opcionalmente en combinación con uno o más diluyentes o vehículos tópicamente aceptables. La administración tópica al pulmón se puede lograr mediante el uso de una formulación de aerosol. Las formulaciones de aerosol comprenden típicamente el ingrediente activo suspendido o disuelto en un propelente de aerosol adecuado, tal como un clorofluorocarbono (CFC) o un hidrofluorocarbono (HFC). Los propelentes de CFC adecuados incluyen tricloromonofluorometano (propelente 11), diclorotetrafluorometano (propelente 114), y diclorodifluorometano (propelente 12). Los propelentes de HFC adecuados incluyen tetrafluoroetano (HFC-134a) y heptafluoropropano (HFC-227). El propelente comprende típicamente 40% a 99,5%, por ejemplo 40% a 90% en peso de la composición de inhalación total. La formulación puede comprender excipientes que incluyen codisolventes (por ejemplo etanol) y tensioactivos (por ejemplo lecitina, trioleato de sorbitán y similar). Las formulaciones de aerosol se envasan en botes, y se suministra una dosis adecuada por medio de una válvula medidora (por ejemplo como se suministra por Bepak, Valois o 3M).

La administración tópica al pulmón también se puede lograr mediante el uso de una formulación no a presión, tal como una disolución o suspensión acuosa. Ésta se puede administrar por medio de un nebulizador. La administración tópica al pulmón también se puede lograr mediante el uso de una formulación de polvo seco. Una formulación de polvo seco contendrá el compuesto de fórmula (I) en forma finamente dividida, típicamente con un diámetro medio másico (MMAD) de 1-10 micrómetros. La formulación contendrá típicamente un diluyente típicamente aceptable tal como lactosa, habitualmente de tamaño grande de partículas, por ejemplo un diámetro medio másico (MMAD) de 100 um o más. Los sistemas de suministro de polvo seco ejemplares incluyen SPINHALER, DISKHALER, TURBOHALER, DISKUS y CLICKHALER.

Se pretende que los compuestos de fórmula (I) tengan actividad terapéutica. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) para uso como medicamento.

Se espera que los compuestos de fórmula (I) sean útiles en el tratamiento de trastornos respiratorios, incluyendo COPD (incluyendo bronquitis crónica y enfisema), asma, asma pediátrica, fibrosis cística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis, especialmente asma, bronquitis crónica y COPD.

También se espera que los compuestos de fórmula (I) sean útiles en el tratamiento de ciertas afecciones que se pueden tratar mediante terapia tópica o local, incluyendo conjuntivitis alérgica, conjuntivitis, dermatitis alérgica, dermatitis de contacto, psoriasis, colitis ulcerosa, articulaciones inflamadas como consecuencia de artritis reumatoide u osteoartritis.

También se espera que los compuestos de fórmula (I) sean útiles en el tratamiento de otras ciertas afecciones que incluyen artritis reumatoide, pancreatitis, caquexia, inhibición del crecimiento y metástasis de tumores, incluyendo carcinoma pulmonar no microcítico, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, carcinomas colorrectales y melanoma maligno.

De este modo, en un aspecto adicional, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) para uso en el tratamiento de las afecciones mencionadas anteriormente, por ejemplo administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto a un paciente que lo necesite.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de las afecciones mencionadas anteriormente.

La descripción también se extiende al uso de composiciones/formulaciones farmacéuticas en el tratamiento de una o más de dichas afecciones.

La palabra "tratamiento" pretende abarcar profilaxis así como tratamiento terapéutico.

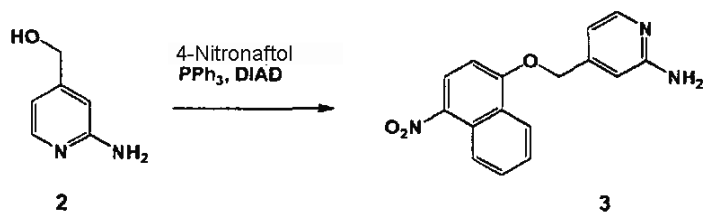
Un compuesto de fórmula (I) también se puede administrar en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales, por ejemplo ingredientes activos adecuados para tratar las afecciones mencionadas anteriormente. Por ejemplo, las posibles combinaciones para el tratamiento de trastornos respiratorios incluyen combinaciones con esteroides (por ejemplo budesonida, dipropionato de beclometasona, propionato de fluticasona, furoato de mometasona, furoato de fluticasona), beta-agonistas (por ejemplo terbutalina, salbutamol, salmeterol, formoterol) y/o xantinas (por ejemplo teofilina).

## Ejemplos

**Ejemplo 1:** *N*-[4-((4-[3-(3-*terc*-Butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido]naftalen-1-iloxi)metil)piridin-2-il]-2-metoxiacetamida (1)

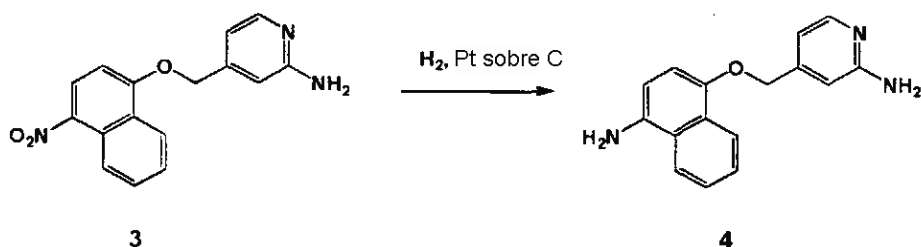
2-Amino-4-[(4-nitronaftalen-1-iloxi)metil]piridina (3)



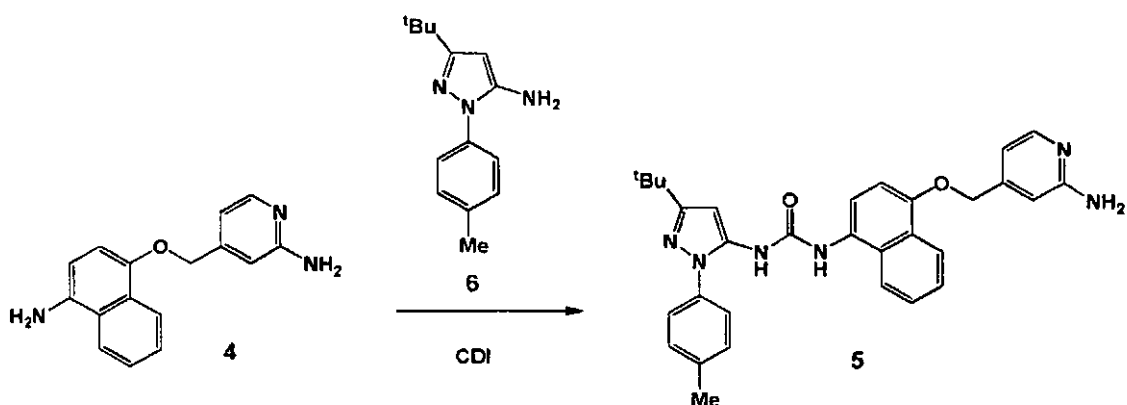


- 5 A una disolución de 4-nitronaftol (5,17 g, 27,3 mmoles), trifetilfosfina (10,75 g, 41,0 mmoles) y 2-aminopiridin-4-metanol (2) (5,09 g, 41,0 mmoles) en THF (50 ml), a  $-15^{\circ}\text{C}$ , se añadió gota a gota azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD) (8,07 ml, 41,0 mmoles). La mezcla se agitó toda la noche a RT, y los volátiles se eliminaron entonces a vacío. El producto bruto se trituró en EtOAc (150 ml), se eliminó por filtración y se lavó con EtOAc (100 ml). Una segunda trituración en MeOH (100 ml) dio 2-amino-4-[(4-nitronaftalen-1-iloxi)metil]piridina (3) (4,54 g, 56%) como un sólido amarillo:  $m/z$  296 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> ( $\text{ES}^+$ ).

2-Amino-4-[(4-aminonaftalen-1-iloxi)metil]piridina (4)

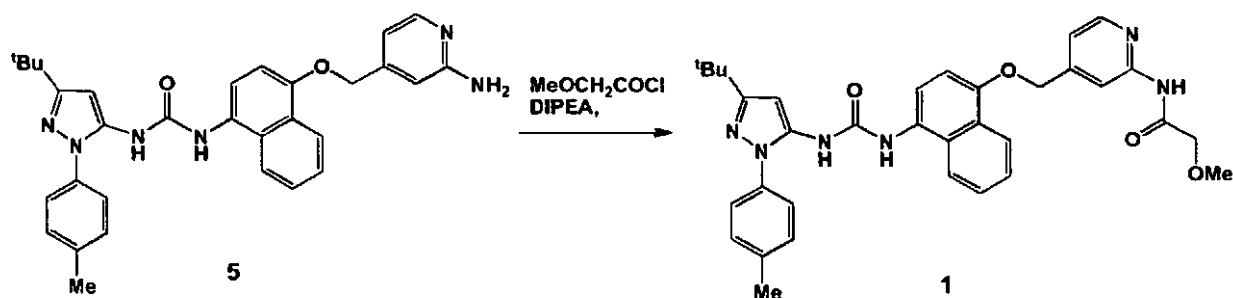


- 10 Una disolución de 2-amino-4-[(4-nitronaftalen-1-iloxi)metil]piridina (3) (4,50 g, 15,24 mmoles) en metanol (200 ml) y ácido acético glacial (200 ml) se hizo pasar a través de un reactor de flujo Thales "H-cube" (2 ml min<sup>-1</sup>, 40°C, 55 mm 10% de Pt/C Cat-Cart®, full H<sub>2</sub>) y los volátiles se eliminaron entonces a vacío. El producto bruto se sometió a captura SCX y liberación eluyendo con amoníaco al 1% en disolución de MeOH, y el disolvente se eliminó a vacío para dar 2-amino-4-[(4-aminonaftalen-1-iloxi)metil]piridina (4) (3,82g, 94%) como un sólido malva:  $m/z$  266 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> ( $\text{ES}^+$ ).
- 15 1-{4-[(2-Aminopiridin-4-il)metoxi]naftalen-1-il}-3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)urea (5)



- 20 A una disolución de 1,1'-carbodiimidazol (CDI) (4,18 g, 25,80 mmoles) en DCM (15 ml) se añadió gota a gota en nitrógeno una disolución de 3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-amina (6) (5,91 g, 25,80 mmoles) en DCM (15 ml) durante 40 min. La disolución resultante se agitó a RT durante 1 h, y después se añadió gota a gota en nitrógeno a una disolución de 2-amino-4-[(4-aminonaftalen-1-iloxi)metil]piridina (4) (3,80 g, 12,89 mmoles). La mezcla se agitó toda la noche, y los volátiles se eliminaron entonces a vacío. El material bruto se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (Biotage 120 g); eluyendo con 0 hasta 6% de MeOH en DCM para dar 1-{4-[(2-aminopiridin-4-il)metoxi]naftalen-1-il}-3-(3-*terc*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)urea (5) (4,27 g, 63%):  $m/z$  521 ( $\text{M}+\text{H}$ )<sup>+</sup> ( $\text{ES}^+$ ).

N-[4-({4-[3-(3-*terc*-Butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido]naftalen-1-iloxi)metil]piridin-2-il]-2-metoxiacetamida (1)



5 A una disolución agitada de 1-{4-[(2-aminopiridin-4-il)metoxi]naftalen-1-il}-3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)urea (5) (526 mg, 0,96 mmoles) y DIPEA (184  $\mu$ l, 1,06 mmoles) en mezcla de DCM y DMF (10:1, 11 ml) se añadió cloruro de metoxiacetilo (92  $\mu$ l, 1,01 mmoles). Después de 1 h a RT, se añadieron secuencialmente alícuotas adicionales de DIPEA (184  $\mu$ l, 1,06 mmoles) y cloruro de metoxiacetilo (92  $\mu$ l, 1,01 mmoles), y la agitación se continuó durante 1 h. Se añadió una disolución de amoníaco al 1% en MeOH (40 ml), y la mezcla se agitó durante 15 min., y después se concentró a vacío. El producto bruto se purificó mediante cromatografía en columna ultrarrápida (Biotage 40 g); eluyendo con 0 hasta 6% de MeOH en DCM para proporcionar *N*-[4-({4-[3-(3-*tert*-butil-1-*p*-tolil-1*H*-pirazol-5-il)ureido]naftalen-1-iloxilmetil]piridin-2-il]-2-metoxiacetamida (1) (286 mg, 49%):  $m/z$  593 (M+H)<sup>+</sup> (ES<sup>+</sup>). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$ : 1,27 (9 H, s), 2,39 (3 H, s), 3,32 (3 H, s), 4,08 (2H, s), 5,39 (2H, s), 6,36 (1H, s), 7,03 (1H, d), 7,28 (1H, dd), 7,36 (2H, m), 7,44 (2H, m), 7,56-7,64 (3H, m), 7,93 (1H, m), 8,30-8,35 (3H, m), 8,58 (1 H, s), 8,79 (1 H, s) y 10,02 (1H, s).

Ensayo Biológico

Ensayo in vitro

Enzima		Células U937 diferenciadas		Liberación de TNF $\alpha$ inducida por LPS por células THP1
IC <sub>50</sub> (nM)		Liberación de TNF $\alpha$ inducida por LPS IC <sub>50</sub> (nM)	Ensayo del MTT	IC <sub>50</sub> (nM)
Subtipo Alfa <sup>1</sup>	Subtipo gamma		4, 24 h (10 ug/ml)	
5,3	402	0,88	Negativo <sup>2</sup>	2,3
*1: ensayo celular de p38 MPAK alfa mediante detección de fosforilación de MAPKAP-K2				
*2: no se observó efecto tóxico significativo en el ensayo del MTT				

15

La descripción de estos ensayos es como sigue:

Ensayo de inhibición enzimática

20 La actividad inhibidora enzimática del compuesto se determinó mediante transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) usando péptidos sintéticos marcados tanto con fluoróforos dadores como aceptores (Z-LYTE, Invitrogen). De forma breve, se diluyó p38 MAPK gamma recombinante fosforilada (MAPK12: Millipore) en tampón HEPES, se mezcló con compuesto a las concentraciones finales deseadas y se incubó durante dos horas a temperatura ambiente. A continuación, se añadieron el péptido FRET (2  $\mu$ M) y ATP (100  $\mu$ M) a la mezcla de enzima/compuesto, y se incubó durante una hora. Se añadió un reactivo de desarrollo (proteasa) durante una hora antes de la detección en un lector de microplacas de fluorescencia. La proteasa específica del sitio sólo escinde péptido no fosforilado, y elimina la señal de FRET. Los niveles de fosforilación de cada reacción se calcularon usando la reacción de emisión de cumarina (dador) con respecto a la emisión de fluoresceína (aceptor), indicando relaciones elevadas una elevada fosforilación, y relaciones bajas niveles bajos de fosforilación. El porcentaje de inhibición de cada reacción se calculó con respecto al control no inhibido, y entonces se calculó la concentración inhibidora del 50% (valor de IC<sub>50</sub>) a partir de la curva de concentración frente a la respuesta.

30 Para p38 MAPK alfa (MAPK14: Invitrogen), la actividad enzimática se evaluó indirectamente determinando la activación/fosforilación de la molécula aguas abajo, MAPKAP-K2. La proteína p38 MAPK  $\alpha$  se mezcló con su diana inactiva MAPKAP-K2 (Invitrogen) y compuesto durante dos horas a temperatura ambiente. El péptido FRET (2  $\mu$ M), que es una diana de fosforilación para MAPKAP-K2, y ATP (10  $\mu$ M) se añadieron entonces a la mezcla de

enzimas/compuesto, y se incubó durante una hora. Entonces se añadió reactivo de desarrollo, y la mezcla se incubó durante una hora antes de la detección mediante fluorescencia, completando el protocolo de ensayo.

#### Liberación de TNF alfa inducida por LPS:potencia

- 5 Célula U937, estirpe celular monocítica humana, se diferenciaron en células de tipo macrófago mediante incubación con miristato-acetato de formol (PMA; 100 ng/ml) durante 48 a 72 horas. Cuando fue apropiado, las células se incubaron previamente con concentraciones finales de compuesto durante 2 h. Las células se estimularon entonces con 0,1 ug/ml de LPS (de E. Coli: 0111:B4, Sigma) durante 4 h, y el sobrenadante se recogió para la determinación de la concentración de TNF  $\alpha$  mediante ELISA de sándwich (Duo-set, R&D systems). Para este ensayo, también se usó THP-1, estirpe celular monocítica humana. Las células THP-1 se estimularon con 1 ug/ml de LPS (de E. Coli:0111:B4, Sigma) durante 4 h, y el sobrenadante se recogió para la determinación de la concentración de TNF  $\alpha$ .  
10 El porcentaje de inhibición de la producción de TNF  $\alpha$  se calculó a cada concentración de compuesto de ensayo mediante comparación con un control de vehículo, y el valor de concentración inhibidora del 50% (IC<sub>50</sub>) se determinó a partir de la curva resultante de concentración frente a la respuesta.

#### Ensayo del MTT

- 15 Se preincubaron células U937 diferenciadas con compuesto durante 4 h en 5% de FCS o 10% de FCS durante 24 h y 72 h. El sobrenadante se repuso con 200 ul de nuevo medio, y se añadieron 10 ul de disolución madre de MTT (5 mg/ml) a cada pocillo. Después de 1 h de incubación, los medios se retiraron, se añadieron 200 ul de DMSO a cada pocillo, y las placas se agitaron ligeramente durante 1 hora antes de leer la absorbancia a 550 nm.  
20 El porcentaje de pérdida de viabilidad celular se calculó para cada pocillo con respecto al tratamiento con vehículo (0,5% de DMSO). Consiguientemente, un incremento aparente en la viabilidad celular para el tratamiento con fármaco con respecto al vehículo se tabula como un porcentaje negativo.

#### Ensayo in vivo

##### Neutrófilos inducidos por LPS en el ratón

- 25 A ratones sin ayunar se les dosificó mediante la ruta intratraqueal con vehículo o con la sustancia de ensayo en los puntos de tiempo ("predosis") indicados con respecto al comienzo del tratamiento con LPS. A T = 0, los ratones se colocaron en una cámara de exposición y se expusieron a LPS. 8 horas después de la exposición a LPS, los animales se anestesiaron, la tráquea se canuló, y el BALF se extrajo infundiendo y retirando 1 ml de PBS en los pulmones vía un catéter traqueal. Los recuentos de glóbulos blancos totales y diferenciales en las muestras de BALF se midieron usando un hemocitómetro de Neubaur. Se prepararon frotis de centrifugado celular de las muestras de  
30 BALF mediante centrifugación a 200 rpm durante 5 min. a temperatura ambiente, y se tiñeron usando un sistema de tinción DiffQuik (Dade Behring). Las células se contaron usando microscopía de inmersión en aceite.

Los resultados se muestran en las Figuras 1 y 2. Los datos para los números de neutrófilos se dan como número total y diferencial (sustancia de ensayo con respecto al vehículo) de células por ml de BALF, media  $\pm$  S.E.M. (n = 8).

##### Modelo de humo de cigarrillo

- 35 Ratones A/J (machos, 5 semanas) se expusieron a humo de cigarrillo (4% de humo de cigarrillo, diluido con aire comprimido) durante 30 min./día durante 11 días usando un sistema de experimento de inhalación de humo de tabaco para todos los animales (Modelo SIS-CS; Sibata Scientific Technology, Tokio, Japón). Las sustancias de ensayo se administraron intranasalmente (35  $\mu$ l de disolución en 50% de DMSO/PBS) y terapéuticamente dos veces al día durante 3 días tras la exposición final al humo de cigarrillo. Doce horas después de la última dosificación, los  
40 animales se anestesiaron, la tráquea se canuló y se recogió el fluido de lavado broncoalveolar (BALF). Los números de macrófagos alveolares y neutrófilos se determinaron mediante análisis FACS (EPICS® ALTRA II, Beckman Coulter, Inc., Fullerton, CA, USA) usando anticuerpo anti-MOMA2 de ratón (macrófago) o anticuerpo anti-7/4 de ratón (neutrófilo).

- 45 Los resultados se muestran en la Figura 3 para macrófagos alveolares activados, y en la Figura 4 para neutrófilos. Los datos para los números celulares se mostraron como la media  $\pm$  SEM. El modelo de humo de cigarrillo usado para este estudio se da a conocer como un sistema refractario a corticosteroides (Medicherla S. et al., (2008); J. Pharmacol. Exp. Ther. 324(3):921-9), y se confirmó que propionato de fluticasona no inhibió la acumulación ni de neutrófilos ni de macrófagos en las vías respiratorias a 50  $\mu$ g/ml (35  $\mu$ l, bid, in), la misma dosis que produjo una inhibición >80% de la acumulación de neutrófilos inducida por LPS.

- 50 En la Figura 3:

###Diferencia significativa entre exposición al aire y exposición a humo de cigarrillo.

\*\*\*P < 0,001 frente a control de humo de cigarrillo (CS) (ANNOVA, comparación múltiple de Dunnett), n = 6-11.

En la Figura 4:

###Diferencia significativa entre exposición al aire y exposición a humo de cigarrillo.

\* $P < 0,05$  o \*\*\* $P < 0,001$  frente a control de humo de cigarrillo (CS) (ANNOVA, comparación múltiple de Dunnett),  $n = 6-11$ .

#### 5 Exposición a ovoalbúmina/modelo de infección de parainfluenza

(modelo *in vivo* para resistencia a esteroides)

Cobayas macho Dunkin-Hartley (300-350 g,  $n = 6$ /grupo) se sensibilizaron con 100  $\mu\text{g}$  de ovoalbúmina (OVA) + 100 mg de  $\text{Al}_2(\text{OH})_3$  en 1 ml de disolución salina normal (i.p.) en los días 2 y 6. Se instiló nasalmente virus de parainfluenza (PIV-3;  $10^6$  unidades infecciosas) o medio sin virus en los días 11 y 12. Los animales se trataron con propionato de fluticasona nebulizado, a una dosis de 1,5 mg por día. Los estudios iniciales establecieron que esta dosis de propionato de fluticasona inhibió cambios de la función pulmonar mediados por ovoalbúmina en animales sensibilizados tratados con medio PIV3. Ejemplo 1 (4,5 mg por día) o el vehículo (DMSO:etanol:disolución salina, 30:30:40%) desde los días 10-15. Todos los animales se expusieron durante 1 h con OVA nebulizado (10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) en el día 15, y se realizaron mediciones repetidas de la conductancia específica de las vías respiratorias ( $sG_{aw}$ ) durante un período de 24 h usando pletismografía de cuerpo completo. Las medidas de  $sG_{aw}$  después de la exposición a OVA se representan gráficamente como % de cambio a partir del valor inicial. Véase la Figura 5.

Figura 5 Los datos se muestran como la media de 6 observaciones; (●) tratamiento con PIV3 + vehículo; (■) tratamiento con PIV3 + propionato de fluticasona; (▲) tratamiento con PIV3 + Ejemplo 1.

#### Sumario

20 Los estudios biológicos *in vitro* muestran que el compuesto de fórmula (I) es un inhibidor potente de los subtipos alfa y gamma de p38 MAP cinasa con buena eficacia en un modelo *in vitro* de actividad antiinflamatoria (liberación de TNFalfa inducida por LPS a partir de células U937 diferenciadas y de células THP-1). A partir de los resultados de MTT, se puede concluir que el compuesto no muestra toxicidad celular manifiesta a las concentraciones usadas.

25 Los estudios biológicos *in vivo* muestran que el compuesto de fórmula (I) es eficaz inhibiendo la acumulación de neutrófilos inducida por LPS en un modelo de animal, con una duración prolongada del efecto como se muestra mediante la inhibición significativa incluso a 12 o más horas de predosificación. Además, se ha mostrado que el compuesto de fórmula (I) es eficaz en dos modelos *in vivo* de inflamación resistente a esteroides.

30 A lo largo de la memoria descriptiva y de las reivindicaciones que siguen, excepto que el contexto lo requiera de otro modo, la palabra "comprende", y variaciones tales como "que comprende" y "comprendiendo", se entenderá que implica la inclusión de un número entero, una etapa, grupo de números enteros o grupo de etapas señalados, pero no la exclusión de ningún otro número entero, etapa, grupo de números enteros o grupo de etapas.

35 La solicitud de la que esta descripción y las reivindicaciones forman parte se puede usar como base para la prioridad con respecto a cualquier solicitud subsiguiente. Las reivindicaciones de tal solicitud subsiguiente se pueden referir a cualquier rasgo o combinación de rasgos descritos aquí. Pueden tomar la forma de producto, composición, procedimiento, o reivindicaciones de uso, y pueden incluir, a título de ejemplo y sin limitación, las reivindicaciones.

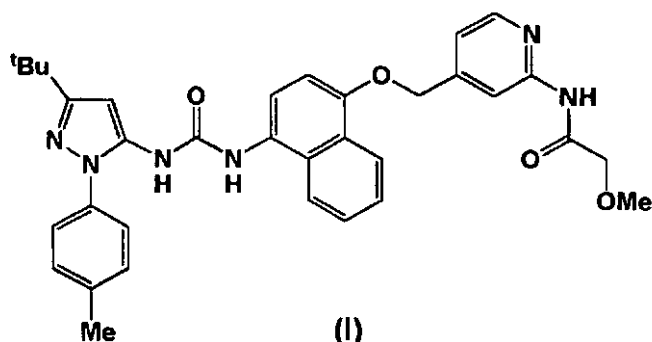
#### Abreviaturas

Ac	acilo
ATP	adenosina-5'-trifosfato
BALF	fluido de lavado broncoalveolar
40 BSA	seroalbúmina bovina
CatCart®	cartucho catalítico (nombre comercial)
CDI	carbonildiimidazol
DCM	diclorometano
DIAD	azodicarboxilato de diisopropilo
45 DMF	dimetilformamida
DMSO	dimetilsulfóxido
COPD	enfermedad pulmonar obstructiva crónica

	DIAD	azodicarboxilato de diisopropilo
	DIBAL-H	hidruro de diisobutilaluminio
	DIPEA	<i>N</i> -etil- <i>N</i> -isopropilpropan-2-amina
	Et	etilo
5	FCS	suero fetal de ternera
	h	hora(s)
	HRP	peroxidasa de rábano picante
	JNK	cinasa N-terminal c-Jun
	MAPK	proteína cinasa activada por mitógenos
10	Me	metilo
	PBS	disolución salina tamponada con fosfato
	PPh <sub>3</sub>	trifenilfosfina
	RT	temperatura ambiente
	SCX	intercambio catiónico soportado en sólido
15	SDS	dodecilsulfato de sodio
	TFA	ácido trifluoroacético
	THF	tetrahidrofurano
	TNF $\alpha$	factor alfa de necrosis tumoral
	TMB	3,3',5,5'-tetrametilbencidina
20	MTT	bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio

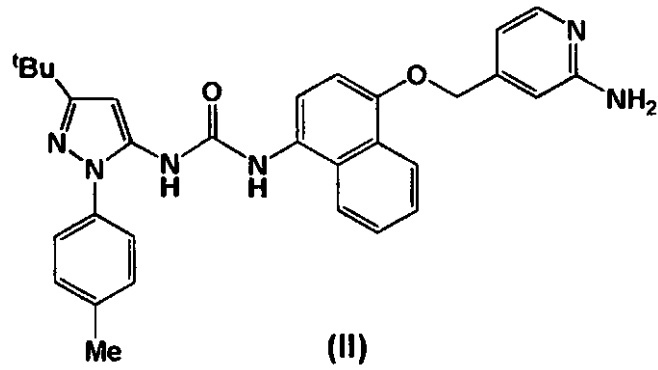
## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)

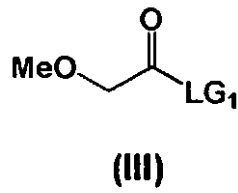


o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, incluyendo todos sus tautómeros.

- 5 2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1, en combinación con uno o más diluyentes o vehículos farmacéuticamente aceptables.
3. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, para uso como medicamento.
4. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, para uso en el tratamiento o prevención de una afección seleccionada de:
- 10 COPD (incluyendo bronquitis crónica y enfisema), asma, asma pediátrica, fibrosis cística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis,
- conjuntivitis alérgica, conjuntivitis, dermatitis alérgica, dermatitis de contacto, psoriasis, colitis ulcerosa, articulaciones inflamadas como consecuencia de artritis reumatoide u osteoartritis,
- 15 artritis reumatoide, pancreatitis, caquexia, inhibición del crecimiento y metástasis de tumores, incluyendo carcinoma pulmonar no microcítico, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, carcinomas colorrectales y melanoma maligno.
5. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, para uso en el tratamiento o prevención de un trastorno respiratorio.
6. Un compuesto de fórmula (I) para uso según la reivindicación 4 ó 5, en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales.
- 20 7. Un compuesto de fórmula (I) para uso según la reivindicación 5, en combinación con uno o más ingredientes activos adicionales seleccionados de esteroides, beta agonistas y xantinas.
8. Uso de un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de una afección seleccionada de COPD (incluyendo bronquitis crónica y enfisema), asma, asma pediátrica, fibrosis cística, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, rinitis alérgica, rinitis, sinusitis,
- 25 conjuntivitis alérgica, conjuntivitis, dermatitis alérgica, dermatitis de contacto, psoriasis, colitis ulcerosa, articulaciones inflamadas como consecuencia de artritis reumatoide u osteoartritis,
- artritis reumatoide, pancreatitis, caquexia, inhibición del crecimiento y metástasis de tumores, incluyendo carcinoma pulmonar no microcítico, carcinoma de mama, carcinoma gástrico, carcinomas colorrectales y melanoma maligno.
- 30 9. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, incluyendo todos sus tautómeros, que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II):

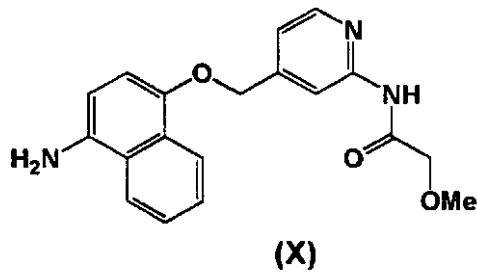


con un compuesto de fórmula (III):

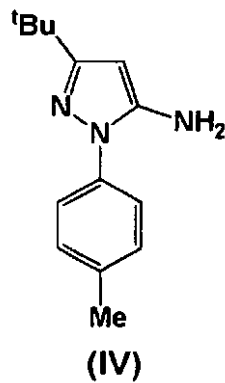


en la que LG<sub>1</sub> representa un grupo saliente.

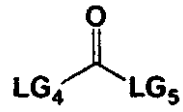
- 5 10. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable o solvato del mismo, incluyendo todos sus tautómeros, que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula (X):



con un compuesto de fórmula (IV):



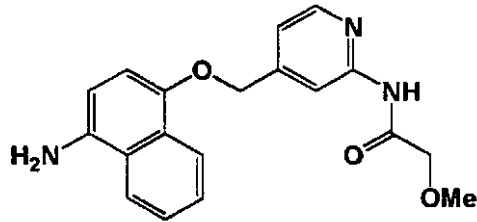
- 10 y un compuesto de fórmula (XI):



**(XI)**

en la que LG<sub>4</sub> y LG<sub>5</sub> representan cada uno independientemente grupos salientes.

11. Un compuesto de fórmula (X):



**(X)**

5 o una sal del mismo.



FIGURA 1. Efecto sobre la acumulación de neutrófilos inducida por LPS [número de neutrófilos en BAL]

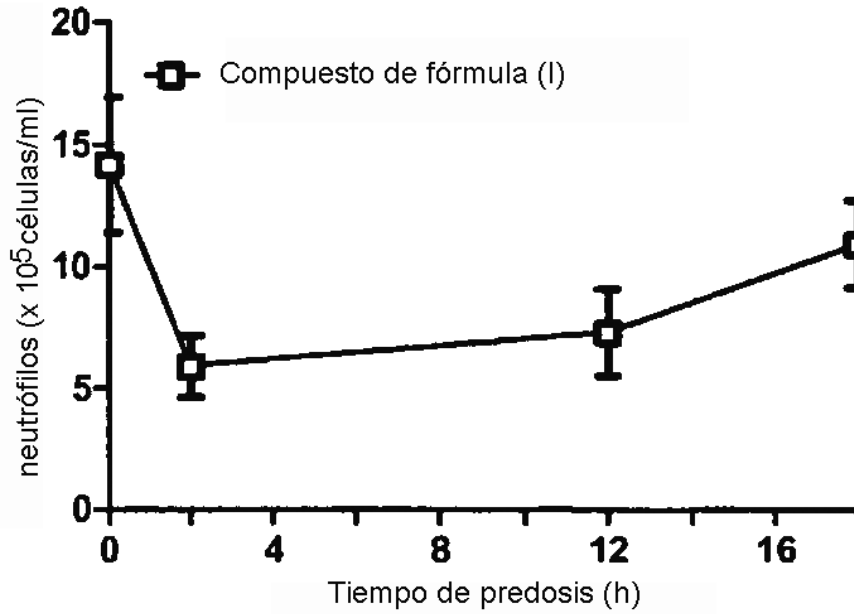


FIGURA 2. Efecto sobre la acumulación de neutrófilos inducida por LPS [% de inhibición]

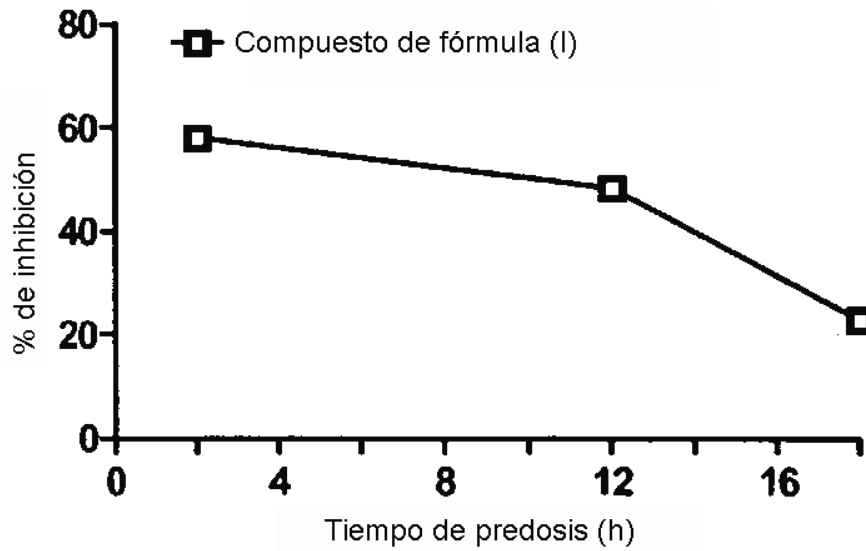


Figura 3: Acumulación de macrófagos MOMA2\* en BALF

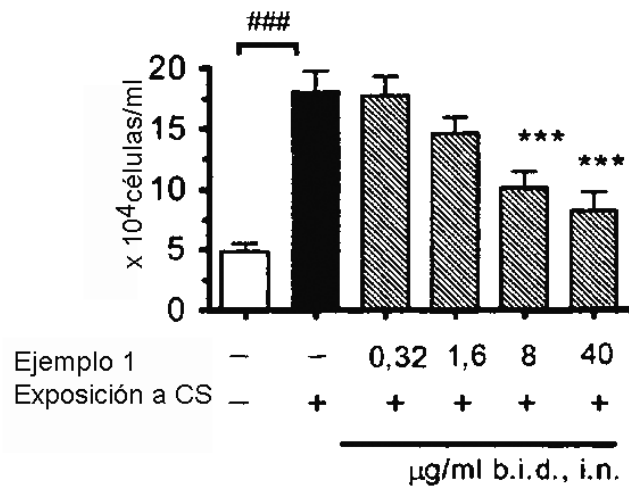


Figura 4: Acumulación de neutrófilos en BALF

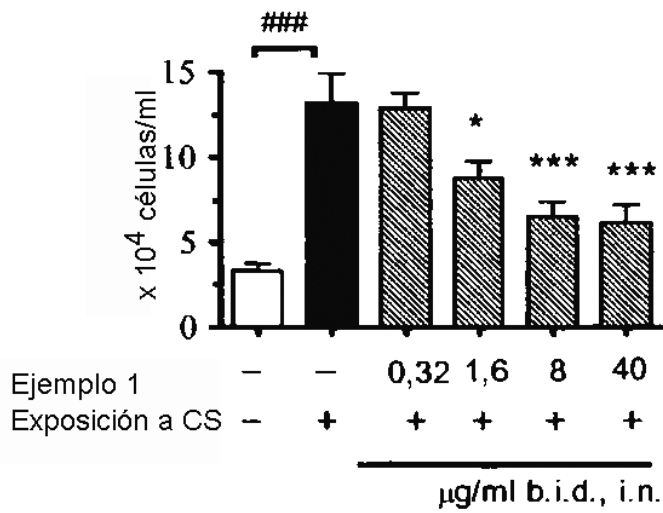


Figura 5

