

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 443 538**

21 Número de solicitud: 201231137

51 Int. Cl.:

**C07D 403/04** (2006.01)

**A61K 31/4192** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

**19.07.2012**

43 Fecha de publicación de la solicitud:

**19.02.2014**

71 Solicitantes:

**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES  
CIENTÍFICAS (CSIC) (80.0%)**

**Serrano nº 117**

**28006 Madrid ES y**

**FUNDACIÓN DE LA COMUNIDAD VALENCIANA  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN PRÍNCIPE FELIPE  
(20.0%)**

72 Inventor/es:

**MESSEGUER PEYPOCH , Ángel;**

**ALFONSO RODRÍGUEZ, Ignacio;**

**CORREDOR SÁNCHEZ, Miriam;**

**PÉREZ PAYA , Enrique y**

**ORZAEZ CALATAYUD , Mar**

74 Agente/Representante:

**UNGRÍA LÓPEZ, Javier**

54 Título: **Compuestos beta-lactámicos inhibidores de APAF1**

57 Resumen:

La presente invención se refiere a compuestos para la prevención y/o tratamiento de trastornos causados por muerte celular por apoptosis o para la prevención de procesos degenerativos causados por la muerte celular por apoptosis, a través de la inhibición del factor de activación de la peptidasa apoptótica 1 (APAF1, Apoptotic Peptidase Activating Factor 1).

ES 2 443 538 A1

## DESCRIPCIÓN

Compuestos beta-lactámicos inhibidores de APAF1.

5 La presente invención se refiere a compuestos para la prevención y/o tratamiento de trastornos causados por muerte celular programada o apoptosis a través de la inhibición del factor de activación de la peptidasa apoptótica 1 (APAF1).

## ESTADO DE LA TÉCNICA ANTERIOR

10 La apoptosis, o muerte celular programada, es un fenómeno fisiológico complejo implicado en el mantenimiento de la homeostasis celular. La apoptosis está regulada por múltiples mecanismos celulares de control y muchas patologías tienen su base en una disfunción de la apoptosis. Así, un exceso de apoptosis conduce a procesos de necrosis tisular (p.e. muerte de cardiomiocitos en los casos de infarto de miocardio), mientras que una apoptosis excesivamente inhibida conlleva la supervivencia celular ilimitada (p.e. procesos neoplásicos). Los componentes celulares que regulan la apoptosis se encuentran en un constante equilibrio dinámico en una célula sana y su regulación depende tanto de estímulos celulares internos (por ejemplo, inducción de la replicación del DNA cuando la célula entra en división celular) como externos (por ejemplo, hormonas y factores de crecimiento). En algunas condiciones fisiopatológicas (por ejemplo, anoxia en células de órganos que deben ser transplantados, tratamiento con sustancias tóxicas) la apoptosis está incrementada y las células mueren en exceso, imposibilitando la funcionalidad del tejido afectado y comprometiendo en algunos casos su supervivencia.

25 Los mecanismos moleculares de inducción de la apoptosis inducen una cascada de señalización que activa una familia de cisteína aspartil proteasas denominadas caspasas, conocidas también como efectores de la apoptosis. Para que éstas puedan activarse es necesaria la formación de un complejo molecular denominado apoptosoma. El apoptosoma es un complejo multiproteico holoenzimático formado por el factor de activación de la proteasa apoptótica 1 (APAF1, Apoptotic Peptidase Activating Factor 1) activado por citocromo-c, dATP y la procaspasa-9. Se ha demostrado que la inhibición de APAF1 inhibe la formación del complejo apoptosoma y que ello provoca una inhibición de la apoptosis (medida a través de la activación de caspasas). En ensayos celulares en los que se ha inducido apoptosis mediante compuestos químicos o por hipoxia, se ha observado un incremento de la supervivencia de las células cuando éstas han sido previamente tratadas con inhibidores de apoptosis.

35 Se han descrito numerosos procesos patológicos en los que está implicada la apoptosis como pueden ser el daño cerebral producido tras una isquemia cerebral, traumatismos, daño en médula espinal, meningitis, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad de Kennedy, esclerosis múltiple, afecciones relacionadas con priones, infarto de miocardio, así como otras formas de enfermedades crónicas o agudas de corazón. También en el proceso de extracción y trasplante de un órgano, sus células están sometidas a una situación de hipoxia que puede desembocar en la muerte celular comprometiendo la viabilidad y funcionalidad del órgano. En el mercado existen soluciones de transporte de órganos que exclusivamente aportan entornos tamponados y estériles, pero no contienen moléculas activas que impidan la muerte celular por apoptosis. Por otra parte, una variedad de procesos inflamatorios tienen como consecuencia la mortalidad de células por vía apoptótica y entre el repertorio de soluciones terapéuticas para controlar esta pérdida de células no se encuentran compuestos específicos que actúen directamente como inhibidores de la apoptosis. También se ha constatado que numerosos procesos de neurodegeneración celular se producen con intervención decisiva de la vía apoptótica, sin que se hayan aplicado hasta el momento soluciones que tengan una acción protectora definida sobre esta vía de muerte celular programada. También se ha relacionado con estados patológicos relacionados con hepatitis alcohólica y otras posibles aplicaciones se pueden relacionar con tratamientos de alopecia.

50 La identificación de inhibidores del proceso de muerte celular por apoptosis puede ser de gran relevancia como alternativas terapéuticas en una amplia variedad de patologías y disfunciones de órganos. Así, se han diseñado inhibidores que actúan a distintos niveles de la cascada apoptótica como son factores de transcripción, quinasas, reguladores de la permeabilización de la membrana mitocondrial e inhibidores de la familia de las caspasas. Sin embargo, dado que la formación del apoptosoma es una etapa clave en el inicio la cascada apoptótica y la consecuente activación de las caspasas, la inhibición de la activación de APAF1 puede tener un mayor impacto sobre la inhibición de la activación de las caspasas y por tanto de la apoptosis.

60 Por otra parte, investigaciones recientes destacan el papel que APAF-1 puede tener en otros procesos implicados con la mitocondria, con las rutas de inflamación o con la propia regulación de mecanismos celulares distintos de la apoptosis.

65 Existen indicios en la literatura científica sobre las implicaciones terapéuticas de la inhibición de APAF1. Así, la transducción en un modelo animal de Parkinson de un dominante negativo de APAF1 mediante adenovirus, mostró ser más eficaz que los inhibidores de Caspasa-1 existentes en el mercado. Recientemente la sobreexpresión de la proteína específica inhibidora de APAF1 (specific APAF1 inhibitory protein – AIP) mostró actividad protectora frente daño cerebral inducido por isquemia (Gao et al Stroke 2010; 41)

Por otra parte, el documento WO2007060524 describe compuestos derivados de [1,4]diazepan-2,5-diona que actúan como inhibidores de la apoptosis, así como a los procesos para su preparación, composiciones farmacéuticas que los contienen y su uso médico. Mientras que el documento WO2011012746 describe compuestos derivados de 2,5-piperazinediona, capaces de inhibir APAF1, también se describe su uso como principios activos farmacéuticos para la prevención y/o el tratamiento de una condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis.

Por tanto, actualmente existe la necesidad de obtener nuevos compuestos inhibidores de APAF1 más potentes, para su uso en la prevención y/o tratamiento de una condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis.

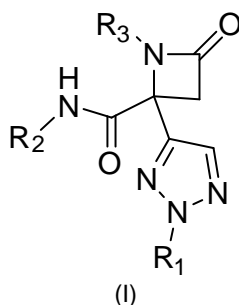
### BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una nueva familia de compuestos beta-lactámicos de fórmula general (I) y sales farmacéuticamente aceptables del mismo para uso en la prevención y/o tratamiento de una condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis, a través de la inhibición de APAF1.

### DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

La presente invención se refiere a una familia de compuestos de fórmula general (I) que poseen actividad como inhibidores de APAF1.

Así, un primer aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I)



y cualquiera de sus sales farmacéuticamente aceptables, donde:

R1, R2 y R3 se seleccionan independientemente entre H, (C1-C10)alquilo, (C2-C10)alquenilo, (C0-C3)alquilo-arilo, (C0-C3)alquilo-heteroarilo, (C0-C3)alquilo-cicloalquilo y (C0-C3)alquilo-heterociclo no aromático,

donde los grupos (C1-C10)alquilo, (C2-C10)alquenilo, (C0-C3)alquilo-arilo, (C0-C3)alquilo-heteroarilo, (C0-C3)alquilo-cicloalquilo y (C0-C3)alquilo-heterociclo no aromático pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, OH, OR4, OCF<sub>3</sub>, SH, SR4, N<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>, NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>, NHCOR<sub>4</sub>; COOH, COOR<sub>4</sub>, OCOR<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub>, CN, COR<sub>4</sub>, CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, NHSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, arilo, heteroarilo y heterociclo no aromático, donde R4 y R5 se seleccionan independientemente entre hidrogeno, (C1-C5)alquilo, (C2-C5)alquenilo, (C0-C3)alquilo-arilo, (C0-C3)alquilo-heteroarilo, (C0-C3)alquilo-cicloalquilo y (C0-C3)alquilo-heterociclo no aromático.

Los términos "(C1-C10)alquilo, (C1-C5)alquilo y (C0-C3)alquilo" se refieren, en la presente invención, a radicales de cadenas hidrocarbonadas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 10 átomos de carbono, de 1 a 5 o de 0 a 3, respectivamente, y que se unen al resto de la molécula mediante un enlace sencillo, por ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, tercbutilo, sec-butilo, n-pentilo, n-hexilo, etc.

El término "(C2-C10)alquenilo" se refiere a radicales de cadenas hidrocarbonadas no cíclicas, lineales o ramificadas, que tienen de 2 a 10 átomos de carbono y uno o más enlaces insaturados, y que están unidos al resto de la molécula por un enlace simple, por ejemplo, vinilo, 1-propenilo, alilo, isoprenilo, 2-butenilo o 1,3-butadienilo.

El término "cicloalquilo" se refiere, en la presente invención, a un radical estable monocíclico o bicíclico de 3 a 10 miembros, que está saturado o parcialmente saturado, y que solo consiste en átomos de carbono e hidrogeno. Son ejemplos de cicloalquilo los siguientes: ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, 1-ciclohexenilo, cicloheptilo.

El término "arilo" se refiere en la presente invención a un sistema de anillo aromático mono o policíclico que contiene átomos de anillo de carbono, que tienen de entre 5 a 10 eslabones. Los arilos preferidos son sistemas de anillo aromático monocíclicos o bicíclicos. Son ejemplos de arilo, pero sin limitarse, el fenilo, naftilo, indenilo, fenantrilo o

antracilo, preferiblemente fenilo. El término "(C0-C3)alquilo-arilo" se entiende que comprende: arilo, (C1-C3)alquilo-arilo, y aún más preferentemente (CH<sub>2</sub>)<sub>1-3</sub>-arilo y -(CH<sub>2</sub>)<sub>1-2</sub>-CH(arilo)<sub>2</sub>, donde el (C0-C3)alquilo-arilo está sustituido por un arilo en el grupo alquilo.

5 El término "heterociclo" se refiere, en la presente invención, a un radical estable monocíclico o bicíclico conteniendo de 3 a 10 miembros que puede estar saturado o parcialmente insaturado (referido como "heterociclo no aromático" en el ámbito de esta memoria) o puede ser aromático (referido como "heteroarilo" en el ámbito de esta memoria), y que consiste en átomos de carbono y al menos un heteroátomo seleccionado del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno o azufre. Preferiblemente tiene de 4 a 8 miembros con uno o más heteroátomos y más preferiblemente de 5  
10 a 6 miembros con uno o más heteroátomos. Para el propósito de esta invención el heterociclo puede ser un sistema monocíclico o bicíclico, que puede incluir anillos fusionados. Los átomos de nitrógeno, carbono y azufre del radical heterocíclico opcionalmente pueden estar oxidados. Ejemplos de heterociclos pueden ser, no limitativamente: morfolinilo, piperazinilo, piperidinilo, pirrolidilo, azepinilo, indolilo, imidazolilo, isotiazolilo, tiadiazolilo, furanilo, tetrahidrofuranilo, benzimidazolilo, benzotiazolilo, quinolilo y similares.

15 Algunos de los compuestos de fórmula (I) de la presente invención pueden tener uno o más centros estereogénicos. La presente invención abarca todos los posibles estereoisómeros no solo sus mezclas racémicas sino también sus isómeros óptimamente activos. La obtención de un único enantiómero puede conseguirse mediante alguno de los procedimientos comúnmente empleados, por ejemplo, por resolución de la mezcla racémica mediante técnicas de  
20 recristalización, síntesis quiral, resolución enzimática, biotransformación o resolución cromatográfica.

El término "sales farmacéuticamente aceptables" significa aquellas sales que conservan la eficacia y las propiedades biológicas de las bases libres o de los ácidos libres y que no son molestas en sentido biológico ni en ningún otro.

25 Las sales farmacéuticamente aceptables pueden incluir las sales de adición de ácidos, tales como mesilatos, fumaratos, clorhidratos, citratos, maleatos o tartratos. También pueden formarse sales fisiológicamente aceptables con ácidos inorgánicos como son los ácidos sulfúrico o fosfórico. Asimismo, pueden formarse sales de tipo básico de un metal alcalino, como por ejemplo el sodio, o de un metal alcalinotérreo, por ejemplo calcio o magnesio. Puede haber más de un catión o anión dependiendo del número de funciones con carga y de la valencia de los cationes y  
30 aniones.

En una realización particular de la invención, R1 es (C1-C3)alquilo-arilo.

En otra realización particular de la invención, R2 es (C1-C6)alquilo o (C1-C3)alquilo-arilo.

35 En otra realización particular de la invención, R3 es (C1-C3)alquilo-arilo, (C1-C3)alquilo-heteroarilo, CH<sub>2</sub>-CH(arilo)<sub>2</sub> o CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH(arilo)<sub>2</sub>.

De acuerdo con otro modo de realización preferente adicional, el compuesto de fórmula (I) tal como se ha definido anteriormente se selecciona de la lista que consiste en:

40 *N*-(2,4-Diclorofenetil)-2-(2-(2,4-diclorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(3,3-difenilpropil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida

*N*-Bencil-2-(2-bencil-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(4-fluorofenetil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida

45 2-(2-Bencil-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-*N*-(*tert*-butil)-1-(2,4-diclorofenetil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida

*N*-Bencil-2-(2-bencil-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-4-oxo-1-(2-tiofen-2-il)etilazetidina-2-carboxamida

*N*-Bencil-2-(2-(4-fluorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(4-metoxifenetil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida

50 *N*-(*Tert*-butil)-2-(2-(4-fluorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(4-metoxifenetil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida

*N*-(*Tert*-butil)-2-(2-(4-fluorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-4-oxo-1-(4-trifluorometoxi)bencilazetidina-2-carboxamida

*N*-Bencil-2-(2-(2,4-diclorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(3,3-difenilpropil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida

55 *N*-(*Tert*-butil)-1-(3,3-difenilpropil)-2-(2-(4-fluorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-4-oxoazetidina-2-carboxamida

*N*-(*Tert*-butil)-2-(2-(2,4-diclorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(3,3-difenilpropil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida

60 Otro aspecto de la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso como principio activo farmacéutico, en particular para uso en la prevención y/o tratamiento de una condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis donde la condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis se selecciona entre preservación de órganos o células, en particular trasplante o conservación; prevención de citotoxicidad, en particular citotoxicidad mediada por  
65 sustancias químicas, por agentes físicos tales como radiación, trauma acústico, quemados, o por agentes biológicos

tales como infección o hepatitis; patologías debidas a situaciones de hipoxia, tales como infarto cardíaco o infarto cerebral; patologías oculares, tales como lesiones ocasionadas por cirugía ocular, degeneración macular asociada a la edad, retinopatía diabética, retinitis pigmentosa o glaucoma; enfermedades neurodegenerativas, tales como Alzheimer, Huntington, Parkinson, enfermedad de Kennedy o esclerosis múltiple amiotrófica; diabetes, en particular preservación de islotes de Langerhans o citotoxicidad asociada a diabetes como, por ejemplo, nefrotoxicidad; osteoartritis; artritis; inflamación o inmunodeficiencias.

Otro aspecto de la presente invención se refiere al uso de un compuesto de fórmula (I) o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento destinado a la prevención y/o tratamiento de una condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis, en particular una de las condiciones mencionadas anteriormente.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método de prevención y/o tratamiento de un individuo u órgano que padece o es susceptible de padecer una condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis

Los compuestos de la presente invención pueden usarse solos o en combinación con uno o más compuestos que sean útiles para la prevención y/o tratamiento de una condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis, tal como preservación de órganos o células, en particular trasplante o conservación; prevención de citotoxicidad, en particular citotoxicidad mediada por sustancias químicas, por agentes físicos tales como radiación, trauma acústico, quemados, o por agentes biológicos tales como infección o hepatitis; patologías debidas a situaciones de hipoxia, tales como infarto cardíaco o infarto cerebral; patologías oculares, tales como lesiones ocasionadas por cirugía ocular, degeneración macular asociada a la edad, retinopatía diabética, retinitis pigmentosa o glaucoma; enfermedades neurodegenerativas, tales como Alzheimer, Huntington, Parkinson, enfermedad de Kennedy o esclerosis múltiple amiotrófica; diabetes, en particular preservación de islotes de Langerhans o citotoxicidad asociada a diabetes como, por ejemplo, nefrotoxicidad; osteoartritis; artritis; inflamación o inmunodeficiencias.

Un segundo aspecto de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende al menos una cantidad terapéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula general (I) o sus sales farmacéuticamente aceptables. Es asimismo objeto de la presente invención, el uso de un compuesto de fórmula general (I) para la preparación de una composición farmacéutica.

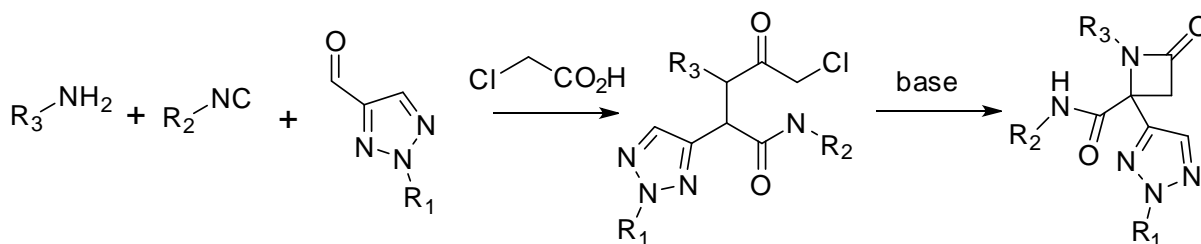
Según otra realización preferida, la composición farmacéutica se presenta en una forma adaptada a la administración parenteral, oral, sublingual, nasal, intratecal, bronquial, linfática, rectal, transdérmica o inhalada.

Según la invención, los compuestos de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables son útiles para la prevención y/o tratamiento de una condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis mediante su actividad como inhibidores de APAF1.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos aquí usados tienen el mismo significado a los comúnmente entendidos por una persona experta en el campo de la invención. Métodos y materiales similares o equivalentes a los aquí descritos pueden ser usados en la práctica de la presente invención.

Los compuestos de fórmula (I) pueden ser preparados siguiendo distintos métodos conocidos para cualquier persona experta en el campo de la síntesis orgánica, en particular por los procedimientos generales que se presentan en los esquemas siguientes. Los materiales de partida para los métodos preparativos están disponibles comercialmente o bien se pueden preparar mediante métodos de la literatura. A menos que se indique lo contrario, los grupos R1, R2 y R3, tienen el significado descrito en la fórmula general (I).

De manera general, los compuestos de fórmula (I) pueden obtenerse a partir de los métodos y esquemas descritos a continuación:



El método general para la obtención de los compuestos (I) comporta una reacción de tipo multicomponente de Ugi entre una amina primaria **2** (R3-NH2), un isonitrilo **3** (R2-NC), un aldehído triazólico **4** y el ácido cloroacético para dar lugar a un aducto intermedio **5** que contiene los tres puntos de diversidad incorporados y que por ciclación en medio

básico genera la familia de compuestos deseados **1** (I).

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra "comprende" y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes, pasos o estereoisómeros de los compuestos involucrados. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención.

## EJEMPLOS

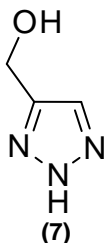
A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los investigadores que pone de manifiesto la efectividad de los compuestos de fórmula general (I) de la presente invención.

### Ejemplos de síntesis química

#### EJEMPLO 1. Síntesis de los compuestos de fórmula I

##### 1. Síntesis de los aldehídos 4.

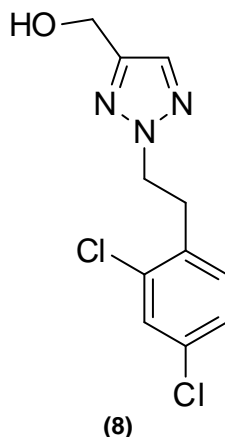
##### i) Preparación del 4-hidroximetil-2H-1,2,3-triazol (**7**)



Una mezcla de formaldehído al 37% en agua (3.8 mL, 50 mmol), ácido acético glacial (428  $\mu$ L, 7.5 mmol), y 1,4-dioxano (3.8 mL) se agitó durante 15 min a 20 °C. La mezcla se trató con azida sódica (488 mg, 7.5 mmol), seguido de la adición de alcohol propargílico (292  $\mu$ L, 5.0 mmol). En este punto el pH de la mezcla de reacción fue de 6.5. Tras agitar durante 10 min se añadió ascorbato sódico (176 mg, 1.0 mmol, 20mol %) y una solución de sulfato de cobre (II) (45 mg, 0.25 mmol, 5mol %) en 204  $\mu$ L de agua. La nueva mezcla de reacción se agitó durante 18 horas a 20 °C, se diluyó con agua (15 mL) y se lavó con diclorometano (3 x 10 mL). La fracción acuosa se concentró al vacío y el residuo se trató directamente con 20 mL de NaOH 2 M, agitando 20 horas a 20 °C. La mezcla de reacción se neutralizó con HCl 2M y se concentró a presión reducida para obtener un sólido de color azul que se extrajo con metanol. El residuo obtenido tras la eliminación del disolvente correspondió con el alcohol triazólico deseado, que se utilizó sin ninguna purificación ulterior

$^1\text{H-RMN}$  (MeOD, 500 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.74 (s, 1H, H1), 4.71 (s, 2H, H2).

##### ii) Obtención de 2-(2,4-diclorofenil)-4-hidroximetil-2H-1,2,3-triazol (**8**)

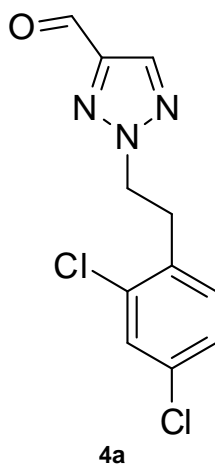


El triazol **7** (2 mmol), disuelto en 10 ml de *N,N*-dimetilformamida (DMF), se calentó a 60 °C y se trató con una solución de tosilato de *O*-(2,4-diclorofenilo) (863 mg, 2.5 mmol) en acetonitrilo anhidro (10 mL) y carbonato sódico (212 mg, 2 mmol) y la mezcla se agitó durante 24 horas a 60 °C. El crudo de reacción se diluyó con acetato de etilo (20 mL) y la solución se lava con agua (2 x 15 mL). Los extractos orgánicos se lavaron con una solución saturada de

cloruro sódico (2 x 15 mL) y se secaron sobre sulfato de magnesio. El residuo obtenido tras la evaporación del disolvente orgánico rindió una mezcla de compuestos. Esta mezcla se purificó por cromatografía en columna sobre silicagel eluyendo con una mezcla hexano/acetato para obtener 112 mg (0.41 mmol, 21%) del producto **8**.

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ (ppm): 7.56 (s, 1H, H3), 7.40 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H8), 7.12 (dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, 1H, H10), 6.99 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H11), 4.75 (s, 2H, H1), 4.65 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, H4), 3.36 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, H5), 2.2 (s, 1H, OH). HRMS para C<sub>11</sub>H<sub>11</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O: Calculado: 272.0357 (M+H)<sup>+</sup>; encontrado: 272.0350.

iii) **Obtención de 2-(2,4-diclorofenetil)-4-formil-2*H*-1,2,3-triazol (4a)**

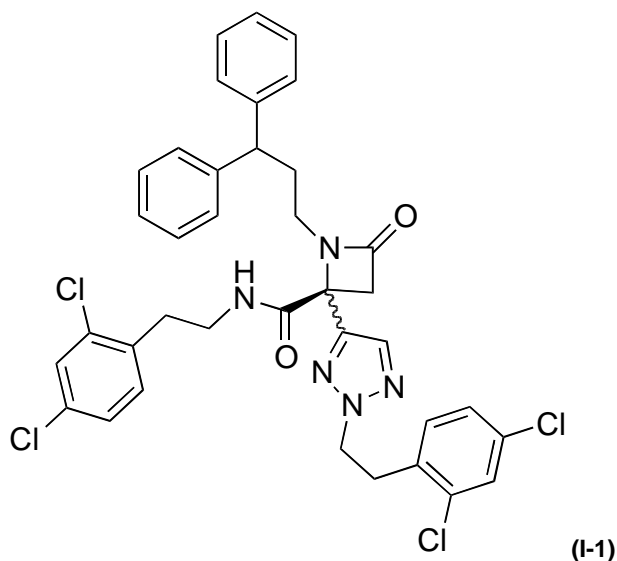


Una solución del triazol **8** (112.4 mg, 0.4 mmol) y ácido 2-iodoxibenzoico (173.5 mg, 0.6 mmol) en acetato de etilo (4 mL) se agitó durante 4 horas a reflujo. El crudo de reacción se enfrió obteniendo un sólido que se filtró y se lavó con acetato de etilo. El filtrado se lavó con bicarbonato sódico al 5% (2 x 10 mL) y con una solución saturada de cloruro sódico (2 x 10 mL). La fracción orgánica se secó sobre sulfato magnésico anhidro y se eliminó el disolvente a presión reducida para rendir el aldehído deseado **4a** como un sólido de color amarillo pálido (94 mg, 0.35 mmol, 85%).

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ (ppm) 10.09 (s, 1H, H1), 8.07 (s, 1H, H3), 7.43 (d, *J* = 2.0 Hz, 1H, H8), 7.14 (dd, *J* = 8.2, 2.0 Hz, 1H, H10), 6.98 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H, H11), 4.78 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, H4), 3.44 (t, *J* = 7.2 Hz, 2H, H5). HRMS para C<sub>11</sub>H<sub>9</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>3</sub>O: Calculada: 270.0201 (M+H)<sup>+</sup>; encontrada: 270.0203.

**2. Obtención de los compuestos de fórmula I**

**Ejemplo 1.1. N-(2,4-Diclorofenetil)-2-(2-(2,4-diclorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(3,3-difenilpropil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida (I-1)**

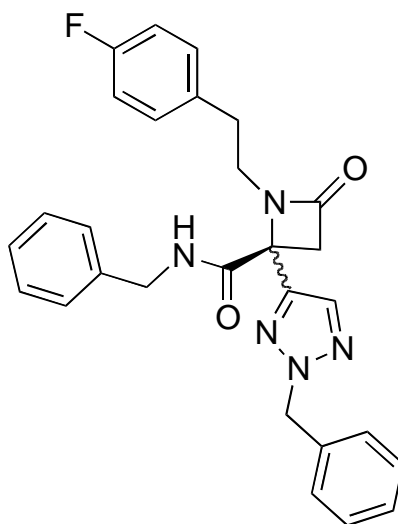


Una solución del triazol aldehídico **4a** (94 mg, 0.35 mmol) en metanol (0.1 mL) se trató con 3,3-difenilpropilamina (66  $\mu$ L, 0.14 mmol) y la mezcla se agitó 6 horas a 20 °C (control por  $^1\text{H-RMN}$ ). A continuación se añadió una solución de isocianuro de 2,4-diclorofenilo (69 mg, 0.35 mmol) en 0.1 mL de metanol y una solución de ácido cloroacético (33 mg, 0.35 mmol) en 0.1 mL de metanol, y la mezcla se agitó durante 48 horas a temperatura ambiente, bajo atmósfera de nitrógeno. El disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se trató, sin ninguna purificación intermedia, con una solución de hidróxido potásico (20 mg, 0.35 mmol) en 2 mL de metanol, agitando la mezcla durante 12 horas a temperatura ambiente. Tras eliminar el disolvente, el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna de silicagel eluyendo con mezclas de hexano:acetato de etilo, para obtener el compuesto **I-1** (48 mg, 0.07 mmol, 19%) en forma de sólido incoloro.

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.54 (s, 1H), 7.38 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 7.36 (d,  $J = 2.1$  Hz, 1H), 7.29-7.26 (m, 4H), 7.20-7.16 (m, 6H), 7.13 (dd,  $J = 8.2, 2.1$  Hz, 1H), 7.08 (dd,  $J = 8.2, 2.1$  Hz, 1H), 7.06 (d,  $J = 8.4$  Hz, 1H), 6.89 (d,  $J = 8.2$  Hz, 1H), 6.51 (t,  $J = 5.9$  Hz, 1H, NH), 4.59 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.90 (t,  $J = 7.7$  Hz, 1H,  $\text{H}_3$ ), 3.54 (m, 2H), 3.34 (d,  $J = 14.4$  Hz, 1H), 3.27 (t,  $J = 7.1$  Hz, 2H), 3.27 (d,  $J = 14.4$  Hz, 1H), 3.07 (m, 2H), 2.90 (m, 2H), 2.42 (m, 1H), 2.29 (m, 1H). HRMS para  $\text{C}_{37}\text{H}_{34}\text{Cl}_4\text{N}_5\text{O}_2$ : Calculada: 720.1467 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ); encontrada: 720.1453.

Aplicando el mismo procedimiento general, se pueden obtener los siguientes análogos sustituyendo las correspondientes aminas, isocianato y triazol.

**Ejemplo 1.2. N-Bencil-2-(2-bencil-2H-1,2,3-triazol-4-il)-1-(4-fluorofenil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida (I-2)**

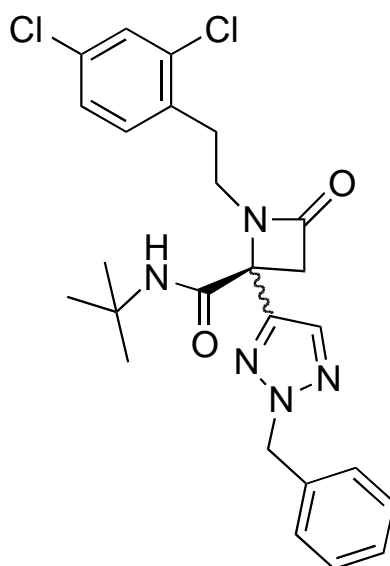


**(I-2)**

$^1\text{H-RMN}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.59 (s, 1H), 7.33-7.28 (m, 8H), 7.17 (m, 2H), 7.02 (dd,  $J = 8.5, 5.4$  Hz, 2H), 6.87 (t,  $J = 8.7$  Hz, 2H), 6.61 (s, 1H, NH), 5.54 (s, 2H), 4.42 (dd,  $J = 14.8, 6.0$  Hz, 1H), 4.30 (dd,  $J = 14.8, 6$  Hz, 1H), 3.42 (m, 1H), 3.0 (m, 1H), 2.85 (m, 1H). HRMS para  $\text{C}_{28}\text{H}_{27}\text{FN}_5\text{O}_2$ : Calculada: 484.2149 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ); encontrada: 484.2122.



**Ejemplo 1.3. 2-(2-Bencil-2H-1,2,3-triazol-4-il)-N-(tert-butil)-1-(2,4-diclorofenetil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida (I-3)**

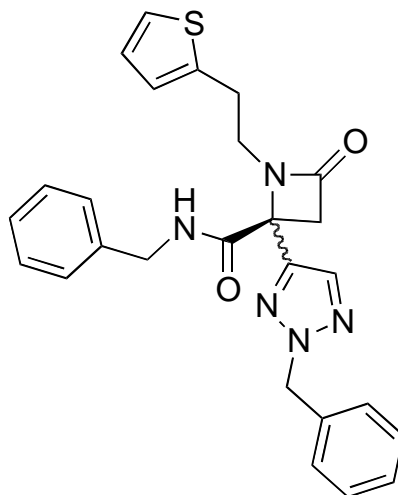


(I-3)

5  $^1\text{H-RMN}$ : ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.55 (s, 1H), 7.33-7.31 (m, 5H), 7.12 (d,  $J = 1.2$  Hz, 2H), 6.33 (s, 1H, NH), 5.55 (s, 1H), 3.42 (d,  $J = 14.2$  Hz, 1H), 3.40 (m, 2H), 3.30 (d,  $J = 14.2$  Hz, 1H), 3.01 (m, 2H), 1.28 (s, 9H). HRMS para  $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{Cl}_2\text{N}_5\text{O}_2$ : Calculada: 500.162 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ); encontrada: 500.1600.

10

**Ejemplo 1.4. N-Bencil-6-(2-bencil-2H-1,2,3-triazol-4-il)-4-oxo-1-(2-tiofen-2-il)etilazetidina-2-carboxamida (I-4)**

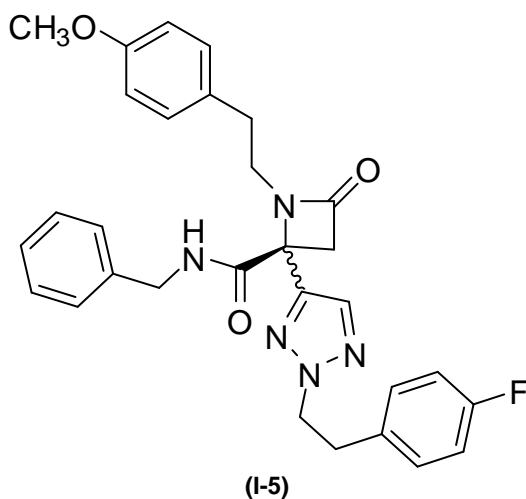


(I-4)

15

$^1\text{H-RMN}$ : ( $\text{CDCl}_3$ , 500 MHz):  $\delta$  (ppm) 7.60 (s, 1H), 7.32-7.30 (m, 4H), 7.28 (m, 3H), 7.18-7.15 (m, 3H), 7.08 (dd,  $J = 5$ , 1 Hz), 6.8 (dd,  $J = 5$ , 3.4 Hz), 6.79 (dd,  $J = 3.4$ , 1 Hz, 1H), 6.75 (t,  $J = 6$  Hz, 1H, NH), 5.54 (s, 1H), 4.44 (dd,  $J = 14.8$ , 6 Hz, 1H), 4.27 (dd,  $J = 14.8$ , 6 Hz, 1H), 3.52 (m, 1H), 3.37 (m, 2H), 3.32 (m, 1H), 3.27 (m, 1H), 3.11 (m, 1H). HRMS para  $\text{C}_{26}\text{H}_{26}\text{N}_5\text{O}_2\text{S}$ : Calculada: 472.1807 ( $\text{M}+\text{H}^+$ ); encontrada: 472.1794.

**Ejemplo 1.5. N-Bencil-2-(2-(4-fluorofenil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)-1-(4-metoxifenil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida (I-5)**



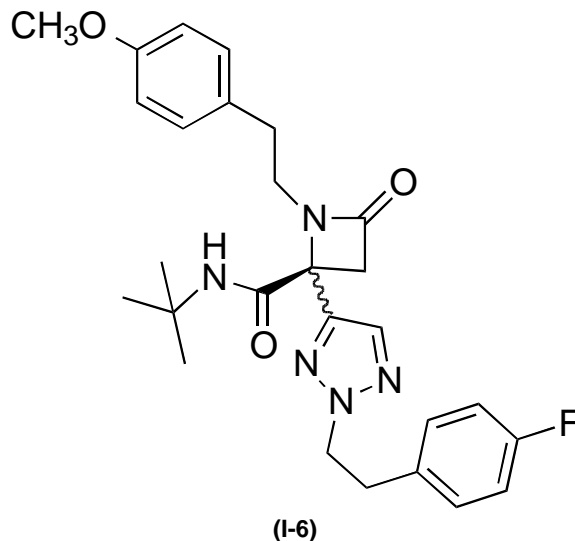
5

<sup>1</sup>H-RMN (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ (ppm): 7.62 (s, 1H, H8), 7.31 (m, 2H, H19), 7.29(m, 1H, H20), 7.14 (m, 2H, H18), 7.08 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H10), 7.03 (m, 2H, H14), 6.9 (m, 2H, H15), 6.76 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H, H11), 6.34 (m, 1H, NH), 4.61 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H, H5), 4.36 (dd, *J* = 14.9, 6.4 Hz, 1H, H7), 4.13 (dd, *J* = 14.9, 5.7 Hz, 1H, H7), 3.71 (s, 3H, Me), 3.41 (m, 1H, H4), 3.32 (s, 2H, H2), 3.20 (t, 2H, H6), 3.06 (m, 1H, H4), 2.99 (m, 1H, H3), 2.79 (m, 1H, H3). HRMS para C<sub>30</sub>H<sub>31</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: Calculada: 528.2411 (M+H)<sup>+</sup>; encontrada: 528.2410.

10

**Ejemplo 1.6. N-(Tert-butil)-2-(2-(4-fluorofenil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)-1-(4-metoxifenil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida (I-6)**

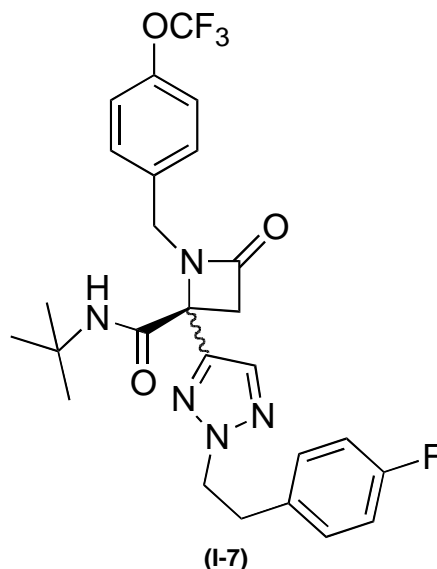
15



<sup>1</sup>H-RMN: (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ (ppm): 7.55 (s, 1H), 7.05 (m, 4H), 6.91 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.81 (d, *J* = 8.6 Hz, 2H), 6.29 (s, 1H, NH), 4.62 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 3.77 (s, 3H), 3.38 (m, 1H), 3.34 (q, *J* = 14.5 Hz, 2H), 3.23 (m, 1H), 3.23 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 2.86 (m, 2H). HRMS para C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: Calculada: 494.2567 (M+H)<sup>+</sup>; encontrada: 494.2561.

20

**Ejemplo 1.7. N-(Tert-butil)-2-(2-(4-fluorofenil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)-4-oxo-1-(4-trifluorometoxi)bencil)azetidina-2-carboxamida (I-7)**

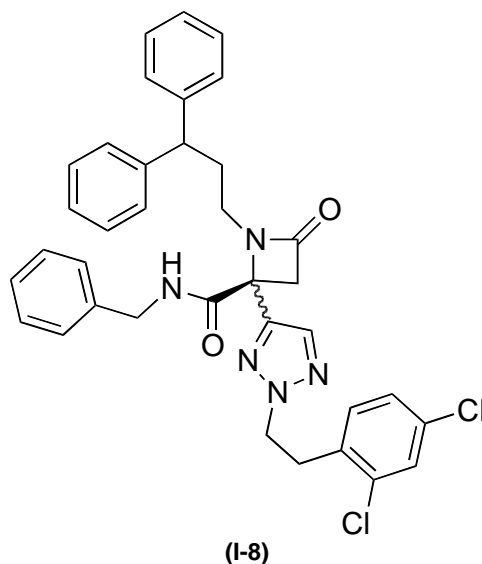


5

<sup>1</sup>H-RMN: (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ (ppm) 7.60 (s, 1H, H7), 7.27 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.17 (d, *J* = 8 Hz, 2H), 7.08 (dd, *J* = 8.5, 5.4 Hz, 2H), 6.94 (t, *J* = 8.6 Hz, 2H), 5.8 (s, 1H, NH), 4.63 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 4.58 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 3.88 (d, *J* = 15.5 Hz, 1H), 3.43 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 3.39 (d, *J* = 14.8 Hz, 1H), 3.23 (t, *J* = 7.3 Hz, 2H), 1.08 (s, 9H). HRMS para C<sub>26</sub>H<sub>28</sub>F<sub>4</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>: Calculada: 534.2128 (M+H)<sup>+</sup>; encontrada: 534.2111.

10

**Ejemplo 1.8. N-Bencil-2-(2-(2,4-diclorofenil)-2H-1,2,3-triazol-4-il)-1-(3,3-difenilpropil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida (I-8)**

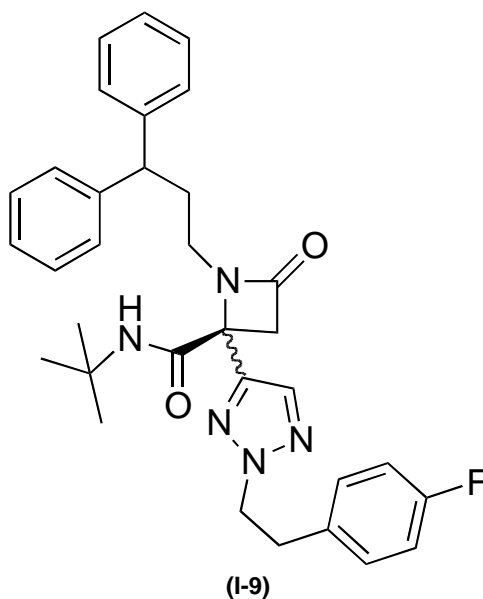


15

<sup>1</sup>H-RMN: (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ (ppm) 7.57 (s, 1H), 7.31 (d, *J* = 2.2 Hz, 1H), 7.3 (m, 4H), 7.28-7.19 (m, 5H), 7.17-7.13 (m, 6H), 7.01 (dd, *J* = 8.2 Hz, 2.1 Hz, 1H), 6.83 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.78 (t, *J* = 5.6 Hz, 1H, NH), 4.58 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 4.44 (dd, *J* = 5.7, 2.3 Hz, 2H), 3.86 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.44 (d, *J* = 14.4 Hz, 1H), 3.30 (d, *J* = 14.4 Hz, 1H), 3.24 (t, *J* = 7.1 Hz, 2H), 3.16 (m, 1H), 3.04 (m, 1H), 2.33 (m, 2H). HRMS para C<sub>36</sub>H<sub>34</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>: Calculada: 638.209 (M+H)<sup>+</sup>; encontrada: 638.2071.

20

**Ejemplo 1.9.** *N*-(Tert-butil)-1-(3,3-difenilpropil)-2-(2(4-fluorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-4-oxoazetidina-2-carboxamida (I-9)

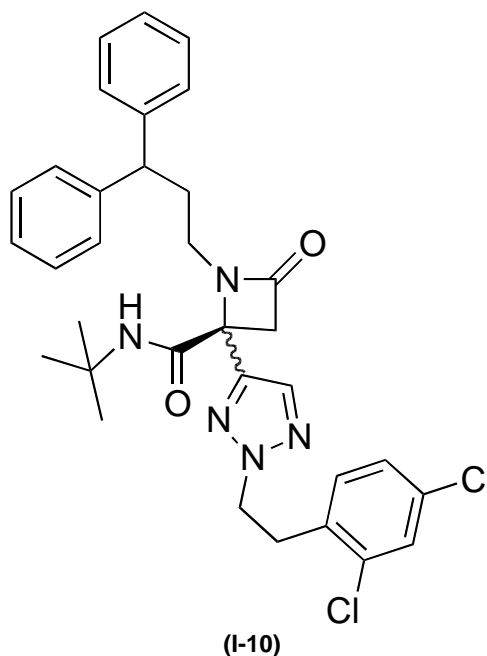


5

<sup>1</sup>H-RMN: (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ (ppm) 7.57 (s, 1H), 7.29-7.22 (m, 4H), 7.21-7.10 (m, 6H), 7.02 (dd, *J* = 8.5, 5.4 Hz, 2H), 6.92 (t, *J* = 8.5 Hz), 6.37 (s, 1H, NH), 4.55 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.87 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.38 (d, *J* = 14.4 Hz, 1H), 3.28 (d, *J* = 14.4 Hz, 1H), 3.19 (m, 1H), 3.16 (t, *J* = 7.4 Hz, 2H), 3.05 (m, 1H), 2.36 (m, 2H), 1.32 (s, 9H). HRMS para C<sub>33</sub>H<sub>37</sub>FN<sub>5</sub>O<sub>2</sub>: Calculada: 554.2931 (M+H)<sup>+</sup>; encontrada: 554.2910.

10

**Ejemplo 1.10.** *N*-(Tert-butil)-2-(2-(2,4-diclorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(3,3-difenilpropil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida (I-10)



15

<sup>1</sup>H-RMN: (CDCl<sub>3</sub>, 500 MHz): δ (ppm) 7.56 (s, 1H), 7.36 (d, *J* = 2.1 Hz, 1H), 7.29-7.22 (m, 4H), 7.21-7.10 (m, 6H), 7.06 (dd, *J* = 8.2, 2.1 Hz, 1H), 6.89 (d, *J* = 8.2 Hz, 1H), 6.43 (s, 1H, NH), 4.60 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.88 (t, *J* = 7.8 Hz, 1H), 3.38 (d, *J* = 14.3 Hz, 1H), 3.28 (t, *J* = 7.0 Hz, 2H), 3.25 (d, *J* = 14.3 Hz, 1H), 3.17 (m, 1H), 3.05 (m, 1H), 2.36 (m, 2H), 1.32 (s, 9H). HRMS para C<sub>33</sub>H<sub>36</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub>: Calculada: 604.2246 (M+H)<sup>+</sup>; encontrada: 604.2298.

20

**EJEMPLO 2. Ejemplos farmacológicos****Ejemplo 2.1. Ensayo *in vitro* de inhibición de la formación del apoptosoma: reconstitución del apoptosoma a partir de proteínas recombinantes.**

Se incubó Apaf-1 producido de forma recombinante en células de insecto (rApaf-1) en presencia (a una concentración 10 $\mu$ M) o ausencia (como control) de los compuestos a evaluar en el tampón de ensayo (20 mM Hepes-KOH pH 7,5, 10 mM KCl, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EDTA, 1 mM EGTA, 1 mM DTT, 0,1 mM PMSF) durante 15 minutos a 30 °C. La concentración final de rApaf-1 fue de 40 nM. A continuación se añadieron dATP/Mg (Sigma) y citocromo c purificado de caballo (Sigma) alcanzando concentraciones finales de 100  $\mu$ M y 0,1  $\mu$ M, respectivamente. Se incubó durante 60 minutos a 30 °C y a continuación se añadió procaspasa-9 recombinante producida en *E. coli* (rprocaspasa-9, concentración final 0,1  $\mu$ M) y se incubó durante 10 minutos a 30 °C antes de añadir el sustrato fluorogénico de caspasa-9 Ac-LEDH-afc (concentración final 50  $\mu$ M). El volumen total de ensayo fueron 200  $\mu$ L. La actividad caspasa se monitorizó de forma continua mediante la liberación de afc a 37 °C en una Wallac 1420 Workstation ( $\lambda_{exc}$  = 390 nm;  $\lambda_{em}$  = 510 nm).

En la tabla siguiente se indican los valores de actividad de algunos compuestos descritos en los ejemplos expresados como porcentaje de inhibición de APAF1 (Tabla I).

Tabla I

Ejemplo	% Inhibición APAF1	Dsvt
I.1	43.4	9.0
I.2	27.4	27.3
I.3	18.3	11.4
I.4	10.8	10.5
I.5	10.7	10.3
I.6	12.8	9.6
I.7	9.8	8.6
I.8	65.3	11.3
I.9	19.5	12.9
I.10	44.8	6.0

**Ejemplo 2.2. Ensayo *in vitro* de inhibición de la formación del apoptosoma: reconstitución del apoptosoma en extractos celulares mediante adición de APAF1 recombinante**

La reconstitución del apoptosoma en extractos celulares se llevó a cabo utilizando extractos citosólicos (S100) de células HEK 293 a los que previamente se les había eliminado Apaf-1 endógeno. Para ello, extractos citosólicos de 2 x10<sup>8</sup> células fueron fraccionados mediante cromatografía de intercambio iónico en una columna Mono Q (Amersham Pharmacia Biotech). La fracción no retenida en la columna (FT) contiene caspasa-3, caspasa-9 y citocromo c, de manera que la adición exógena de Apaf-1 recombinante y dATP permite la reconstitución del apoptosoma.

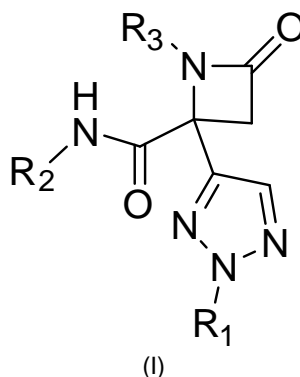
Los compuestos (10 $\mu$ M) se preincubaron en un volumen final de 100  $\mu$ L durante 30 minutos a 30°C en presencia de Apaf-1 recombinante (40 nM). Se adicionó el extracto citosólico de HEK 293 (10 $\mu$ g) y dATP (100nM) y tras 30 minutos de incubación a 37°C se adicionó el sustrato fluorogénico de caspasa-3 (afc-DEVD). La actividad caspasa se monitorizó de forma continua mediante el seguimiento de la liberación de afc a 37 °C en una Wallac 1420 Workstation ( $\lambda_{exc}$  = 390 nm;  $\lambda_{em}$  = 510 nm) (Tabla 2).

Tabla 2

Ejemplo	% Inhibición APAF1	Dsvt
I.1	64.0	18.3
I.2	35.5	28.0
I.3	36.3	14.7
I.4	15.4	14.5
I.5	26.2	24.6
I.6	3.3	0.9
I.7	18.1	0.3
I.8	21.9	10.2
I.9	48.8	43.5
I.10	62.8	15.5

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I



5 y sales farmacéuticamente aceptables del mismo, donde:

R1, R2 y R3 se seleccionan independientemente entre H, (C1-C10)alquilo, (C2-C10)alquenilo, (C0-C3)alquilo-arilo, (C0-C3)alquilo-heteroarilo, (C0-C3)alquilo-cicloalquilo y (C0-C3)alquilo-heterociclo no aromático,

10 donde los grupos (C1-C10)alquilo, (C2-C10)alquenilo, (C0-C3)alquilo-arilo, (C0-C3)alquilo-heteroarilo, (C0-C3)alquilo-cicloalquilo y (C0-C3)alquilo-heterociclo no aromático pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o varios sustituyentes seleccionados independientemente entre halógeno, OH, OR4, OCF<sub>3</sub>, SH, SR4, N<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>, NR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>, NHCOR<sub>4</sub>; COOH, COOR<sub>4</sub>, OCOR<sub>4</sub>, NO<sub>2</sub>, CN, COR<sub>4</sub>, CONR<sub>4</sub>R<sub>5</sub>, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>, NHSO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, arilo, heteroarilo y heterociclo no aromático, donde R4 y R5 se seleccionan independientemente entre hidrogeno, (C1-C5)alquilo, (C2-C5)alquenilo, (C0-C3)alquilo-arilo, (C0-C3)alquilo-heteroarilo, (C0-C3)alquilo-cicloalquilo y (C0-C3)alquilo-heterociclo no aromático.

20 2. El compuesto según la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R1 es (C1-C3)alquilo-arilo.

3. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R2 es (C1-C6)alquilo o (C1-C3)alquilo-arilo.

25 4. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde R3 es (C1-C3)alquilo-arilo, (C1-C3)alquilo-heteroarilo, CH<sub>2</sub>-CH(arilo)<sub>2</sub> o CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-CH(arilo)<sub>2</sub>.

30 5. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que consiste en: *N*-(2,4-diclorofenetil)-2-(2-(2,4-diclorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(3,3-difenilpropil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida, *N*-bencil-2-(2-bencil-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(4-fluorofenetil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida, 2-(2-bencil-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-*N*-(*tert*-butil)-1-(2,4-diclorofenetil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida, *N*-bencil-2-(2-bencil-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-4-oxo-1-(2-tiofen-2-il)etil)azetidina-2-carboxamida, *N*-bencil-2-(2-(4-fluorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(4-metoxifenetil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida, *N*-(*tert*-butil)-2-(2-(4-fluorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(4-metoxifenetil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida, *N*-(*tert*-butil)-2-(2-(4-fluorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-4-oxo-1-(4-trifluorometoxi)bencil)azetidina-2-carboxamida, *N*-bencil-2-(2-(2,4-diclorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(3,3-difenilpropil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida, *N*-(*tert*-butil)-1-(3,3-difenilpropil)-2-(2-(4-fluorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-4-oxoazetidina-2-carboxamida, *N*-(*tert*-butil)-2-(2-(2,4-diclorofenetil)-2*H*-1,2,3-triazol-4-il)-1-(3,3-difenilpropil)-4-oxoazetidina-2-carboxamida

40 6. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso como principio activo farmacéutico.

45 7. El compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la prevención y/o tratamiento de una condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis.

8. El compuesto según la reivindicación 7, donde la condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis se selecciona entre preservación de órganos o células, en particular trasplante o conservación; prevención de citotoxicidad, en particular citotoxicidad mediada por sustancias químicas, por agentes físicos tales como radiación, trauma acústico, quemados, o por agentes biológicos tales como infección por el virus de la hepatitis; patologías debidas a situaciones de hipoxia, tales como infarto cardíaco o infarto cerebral; patologías oculares, tales como lesiones ocasionadas por cirugía ocular, degeneración macular asociada a la edad, retinopatía diabética, retinitis pigmentosa o glaucoma; enfermedades neurodegenerativas, tales como Alzheimer, Huntington,

Parkinson, enfermedad de Kennedy o esclerosis múltiple amiotrófica; diabetes, en particular preservación de islotes de Langerhans o citotoxicidad asociada a diabetes como, por ejemplo, nefrotoxicidad; osteoartritis; artritis; inflamación o inmunodeficiencias.

- 5 9. Uso del compuesto definido en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento destinado a la prevención y/o tratamiento de una condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis.
- 10 10. Uso según la reivindicación 9 donde la condición patológica y/o fisiológica asociada a un incremento de la apoptosis se selecciona entre preservación de órganos o células, en particular trasplante o conservación; prevención de citotoxicidad, en particular citotoxicidad mediada por sustancias químicas, por agentes físicos tales como radiación, trauma acústico, quemados, o por agentes biológicos tales como infección o hepatitis; patologías debidas a situaciones de hipoxia, tales como infarto cardíaco o infarto cerebral; patologías oculares, tales como lesiones ocasionadas por cirugía ocular, degeneración macular asociada a la edad, retinopatía diabética, retinitis pigmentosa o glaucoma; enfermedades neurodegenerativas, tales como Alzheimer, Huntington, Parkinson, enfermedad de Kennedy o esclerosis múltiple amiotrófica; diabetes, en particular preservación de islotes de Langerhans o citotoxicidad asociada a diabetes como, por ejemplo, nefrotoxicidad; osteoartritis; artritis; inflamación o inmunodeficiencias.
- 15 11. Uso de un compuesto de fórmula general 1 o sus sales farmacéuticamente aceptables descritos en una de las reivindicaciones 1 a 8, en la preparación de una composición farmacéutica.
- 20 12. Una composición farmacéutica caracterizada porque comprende al menos una cantidad terapéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula general 1 o sus sales farmacéuticamente aceptables descritos en una de las reivindicaciones 1 a 8.
- 25 13. La composición farmacéutica según la reivindicación 12, caracterizada porque dicha composición farmacéutica se presenta en una forma adaptada a una administración seleccionada de entre el siguiente grupo que comprende: administración parenteral, oral, sublingual, nasal, intratecal, bronquial, linfática, rectal, transdérmica e inhalada
- 30





OFICINA ESPAÑOLA  
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

②<sup>1</sup> N.º solicitud: 201231137

②<sup>2</sup> Fecha de presentación de la solicitud: 19.07.2012

③<sup>2</sup> Fecha de prioridad:

### INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤<sup>1</sup> Int. Cl.: **C07D403/04** (2006.01)  
**A61K31/4192** (2006.01)

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑤ <sup>6</sup> Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
A	WO 2011012746 A2 (LABORATORIOS SALVAT SA) 03.02.2011, todo el documento.	1-13

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones n.º:

Fecha de realización del informe  
08.10.2013

Examinador  
M. Fernández Fernández

Página  
1/4

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07D, A61K

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, CAS, REGISTRY

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 08.10.2013

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-13	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP11/1986)</b>	Reivindicaciones 1-13	<b>SI</b>
	Reivindicaciones	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de aplicación industrial. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión.-**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como se publica.

**1. Documentos considerados.-**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	WO 2011012746 A2 (LABORATORIOS SALVAT SA)	03.02.2011

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de Patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

La solicitud se refiere a los compuestos de fórmula (I) de la reivindicación 1, que se concretan en las reivindicaciones 2-5 y su uso como principio activo farmacéutico (reivindicaciones 6-11) para la prevención y/o tratamiento de una patología asociada con un incremento de la apoptosis: en trasplantes, infecciones víricas, enfermedades neurodegenerativas..., así como la composición farmacéutica que contiene dichos compuestos (reivindicaciones 12 y 13).

El documento D1 se considera el más próximo del estado de la técnica, divulga derivados de 2,5-piperazindiona de fórmula (I), ver reivindicación 1, para la prevención y/o tratamiento de patologías relacionadas con un incremento de la apoptosis. Los derivados de 4-oxoazetidina-2-carboxamida de la solicitud se consideran nuevos ya que no se han encontrado divulgados y, en consecuencia, también es nuevo su uso como principio activo. Además la invención se considera inventiva pues un técnico en la materia no podría deducir, a partir de la información divulgada en D1, que los nuevos compuestos puedan inhibir los factores relacionados con un incremento de la apoptosis.

Por ello, se considera que las reivindicaciones 1-13 de la solicitud cumplen los requerimientos de novedad y actividad inventiva, según lo establecido en los Art. 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes 11/1986.