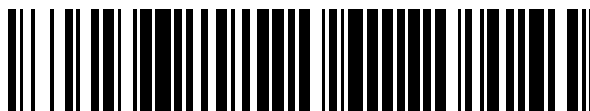


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 448 567**

51 Int. Cl.:

**C07D 495/14** (2006.01)

**A61K 31/551** (2006.01)

**A61P 9/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.10.2009 E 09740899 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.12.2013 EP 2362876**

54 Título: **Derivados de la tienotriazoldiazepina activos en apo A**

30 Prioridad:

**30.10.2008 EP 08167982**

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

**14.03.2014**

73 Titular/es:

**CIRCOMED LLC (100.0%)  
8, Sylvan Way  
Parsipanny, NJ 07054, US**

72 Inventor/es:

**KEMPEN, HERMAN;  
BELLUS, DANIEL y  
STAEHELIN, BARBARA**

74 Agente/Representante:

**TORNER LASALLE, Elisabet**

**ES 2 448 567 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

Derivados de la tienotriazoldiazepina activos en apo A.

Campo de la invención

5 La presente invención versa acerca de nuevos derivados y preparados farmacéuticos de la tienotriazoldiazepina útiles en el tratamiento de enfermedades coronarias y de la enfermedad de Alzheimer.

Antecedentes de la invención

En la patente estadounidense 4.155.913 se describen varias tienotriazoldiazepinas, su síntesis, sus composiciones farmacéuticas y su uso como antiepilépticos, sedantes y relajantes musculares, tranquilizantes y ansiolíticos.

10 La patente estadounidense 5.854.238 describe que una tienotriazoldiazepina de ese tipo, el compuesto 9-metil-4-fenil-6H-tieno[3,2-f]-s-triazol[4,3-a][1,4]-diazepina, es activa en el aumento de la apolipoproteína A1 (apo A1) en el plasma. La apo A1 es un constituyente proteínico fundamental de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) del plasma. Se sabe que los bajos niveles plasmáticos de HDL y de apo A1 están asociados con una mayor incidencia de infartos de miocardio, apoplejías e infartos de la pierna como consecuencia de una enfermedad arterial aterosclerótica. Por lo tanto, el mencionado compuesto es útil en el tratamiento y la prevención de tales enfermedades arteriales ateroscleróticas.

La patente estadounidense 6.444.664 describe que ciertos derivados de la benzo y la tienotriazoldiazepina con actividad antagonista conocida del factor de activación plaquetaria (PAF) también dan como resultado una síntesis mejorada de la apo A1 y resultan útiles en un procedimiento de tratamiento o prevención de enfermedades ateroscleróticas.

20 Dado que los pacientes con la enfermedad de Alzheimer tienen bajos niveles de apo A1 (Merched A., Xia Y., Visvikis S., Serot J.M., y Siest G., Neurobiol. Aging 21(1):27-30, 2000), las diazepinas anteriormente mencionadas que aumentan la síntesis de apo A1 también pueden ser útiles para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer.

El documento US 4.155.913 versa acerca de derivados de la tienotriazoldiazepina y de procedimientos para su preparación. Estos compuestos son útiles como antiepilépticos, relajantes musculares y sedantes.

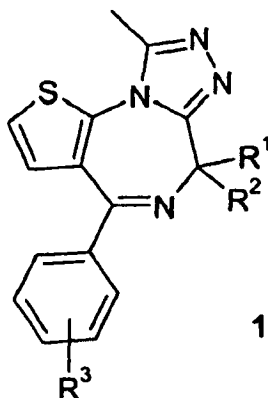
25 El documento US 5.854.238 versa acerca de un procedimiento para prevenir la enfermedad arterial coronaria que comprende administrar una cantidad efectiva del compuesto 9-metil-4-fenil-6H-tieno[3,2-f]-s-triazol[4,3-a][1,4]diazepina a un individuo no aquejado de enfermedad arterial coronaria.

30 El documento US 6.444.664 versa acerca del uso de sustancias activas para preparar un medicamento que controla el nivel plasmático de las lipoproteínas: lipoproteína (a) y lipoproteína de alta densidad disminuyendo la síntesis de apo lipoproteína (a) y aumentando la síntesis de apo lipoproteína A1.

35 El documento US 4.960.770 versa acerca de compuestos farmacéuticamente útiles de tieno(triazol)diazepina que tienen actividad dilatadora de los vasos coronarios, actividad de aumento del flujo sanguíneo vertebral, actividad inhibidora de la calmodulina, actividad inhibidora de la fosfodiesterasa dependiente de calcio/calmodulina, actividad de mejora de la deformabilidad de los hematíes y/o actividad antagonista en el factor de activación plaquetaria, y sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los mismos, y de usos farmacéuticos de los mismos.

Compendio de la invención

La presente invención versa acerca de nuevos derivados de tienotriazoldiazepina de la fórmula 1



en la que

$R^1$  es  $CH_3$ ,  $R^2$  es  $CH_3$  o  $-(CH_2)_n-R^4$  o  $-(CH_2)_n-O-R^4$  o  $-(CH_2)_n-S-R^4$ , en las que  $n$  es 1, 2, 3 o 4 y  $R^4$  es  $CH_3$ ,  $CH_2CH_3$  o  $CH_2CH_2OCH_3$ , y  $R^3$  es hidrógeno o  $-OCH_2O-$  o  $-OCH_2CH_2O-$  conectados en la posición orto/meta o la posición meta/para del anillo fenílico; o

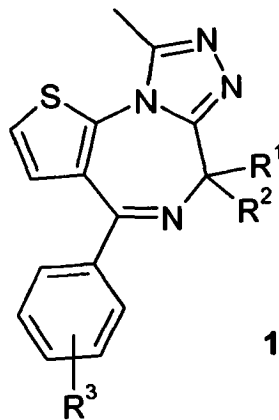
$R^1$  y  $R^2$  son hidrógeno y  $R^3$  es  $-OCH_2O-$  o  $-OCH_2CH_2O-$  conectados en la posición orto/meta o la posición meta/para del anillo fenílico;

y sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Además, la invención versa acerca de composiciones farmacéuticas que contienen los compuestos de fórmula 1 según se ha definido anteriormente en el presente documento, y acerca del uso de estos compuestos para el tratamiento y la prevención de enfermedades arteriales ateroscleróticas, como el infarto de miocardio y la apoplejía, y la enfermedad de Alzheimer, y en la fabricación de un medicamento para el tratamiento y la prevención de enfermedades arteriales ateroscleróticas, como el infarto de miocardio y la apoplejía, y la enfermedad de Alzheimer.

Descripción detallada de la invención

La presente invención versa acerca de compuestos de la fórmula 1



en la que

$R^1$  es  $CH_3$ ,  $R^2$  es  $CH_3$  o  $-(CH_2)_n-R^4$  o  $-(CH_2)_n-O-R^4$  o  $-(CH_2)_n-S-R^4$ , en las que  $n$  es 1, 2, 3 o 4 y  $R^4$  es  $CH_3$ ,  $CH_2CH_3$  o  $CH_2CH_2OCH_3$ , y  $R^3$  es hidrógeno o  $-OCH_2O-$  o  $-OCH_2CH_2O-$  conectados en la posición orto/meta o la posición meta/para del anillo fenílico; o

$R^1$  y  $R^2$  son hidrógeno y  $R^3$  es  $-OCH_2O-$  o  $-OCH_2CH_2O-$  conectados en la posición orto/meta o la posición meta/para del anillo fenílico;

y sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Se entiende que un compuesto de fórmula 1 según se ha definido anteriormente en el presente documento incluye todas las formas cristalinas del mismo.

En un compuesto de fórmula 1 en el que  $R^1$  es  $CH_3$  y  $R^2$  es  $-(CH_2)_n-R^4$  o  $-(CH_2)_n-O-R^4$  o  $-(CH_2)_n-S-R^4$ , los  $R^1$  y  $R^2$  que portan el átomo de carbono en el anillo son sustituidos de forma asimétrica y se forman estereoisómeros. Se entiende que para tales compuestos el racemato y tanto los enantiómeros (S) y (R) están incluidos en la definición del correspondiente compuesto de fórmula 1.

Compuestos de fórmula 1, así como sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de los mismos, son útiles en el tratamiento y la prevención de enfermedades arteriales ateroscleróticas, en particular el infarto de miocardio y la apoplejía, y de la enfermedad de Alzheimer.

El aumento de la apo A1 es un mecanismo clínico bien validado para reducir la aterosclerosis y sus consecuencias clínicas. La apo A1 se enrolla alrededor de partículas de HDL y soporta su funcionalidad al eliminar colesterol de las placas. Se ha demostrado que la administración de apo A1 estabiliza y reduce las placas ateroscleróticas en los seres humanos. Por el contrario, la deficiencia de apo A1 está asociada con la aterosclerosis acelerada.

Los compuestos según la invención estimulan el hígado para que produzca más apo A1. Este enfoque terapéutico de incremento de la producción de apo A1 por el propio cuerpo evita complicaciones inmunológicas potencialmente asociadas con los péptidos; por ejemplo, con terapias de apo A1 recombinante actualmente consideradas para el tratamiento de la aterosclerosis aumentando la apo A1.

Aunque los compuestos de la invención incorporan la estructura parcial de una diazepina, carecen por entero de actividad de unión del receptor de benzodiazepina y, por lo tanto, no presentan los efectos secundarios no deseados causados por las benzodiazepinas, como la somnolencia y similares.

Los compuestos de la invención también carecen por entero de actividad antagonista del factor de activación plaquetaria (PAF) vista con tienotriazoldiazepinas estrechamente relacionadas, como la WEB2086 (apafant).

5 Se prefieren los componentes de la fórmula 1 en los que  $R^1$  es  $\text{CH}_3$ ,  $R^2$  es  $\text{CH}_3$  o  $-(\text{CH}_2)_n\text{-R}^4$  o  $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-R}^4$  o  $-(\text{CH}_2)_n\text{-S-R}^4$ , en las que  $n$  es 1, 2, 3 o 4 y  $R^4$  es  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_2\text{CH}_3$  o  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OCH}_3$ , y  $R^3$  es hidrógeno. Los más preferidos son compuestos de esos tipos en los que  $R^2$  es  $\text{CH}_3$  o en los que  $R^2$  es  $-(\text{CH}_2)_n\text{-O-R}^4$ ,  $n$  es 1 o 2, y  $R^4$  es  $\text{CH}_3$ , en particular compuestos de esos tipos en los que  $R^2$  es  $\text{CH}_3$ .

10 También se prefieren compuestos de fórmula 1 en los que  $R^1$  y  $R^2$  son hidrógeno y  $R^3$  es  $-\text{OCH}_2\text{O}-$  o  $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$  conectados en la posición orto/meta o la posición meta/para del anillo fenílico; en particular, compuestos tales en los que  $R^3$  es  $-\text{OCH}_2\text{O}-$ . Preferentemente, este metilendioxi sustituyente está conectado en la posición meta/para del anillo fenílico.

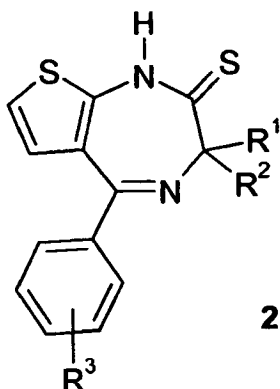
Los compuestos de los Ejemplos son los más preferidos.

15 Los compuestos de fórmula 1 forman sales de adición de ácido con ácidos orgánicos e inorgánicos farmacéuticamente aceptables. Ácidos adecuados para los fines de la presente invención incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido fórmico, ácido acético, ácido fumárico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido maleico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido trifluoroacético, ácido metanosulfónico, ácido para-toluenosulfónico, ácido 10-canforsulfónico y similares. Con fines de aislamiento o purificación también es posible usar sales farmacéuticamente inaceptables; por ejemplo sales con ácido pícrico o con ácido perclórico.

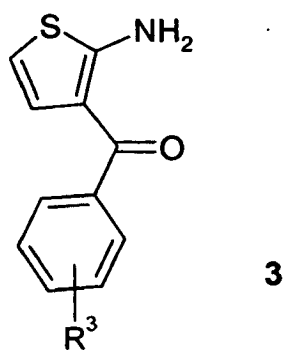
20 Se entiende que la invención también versa acerca de cualquier hidrato, solvato o forma cristalina particular de los compuestos, según se ha descrito anteriormente en el presente documento, y a sus sales farmacéuticamente aceptables, y también al racemato o a los enantiómeros (S) y (R) de los correspondientes compuestos con un átomo de carbono asimétrico.

Los compuestos novedosos de fórmula 1 pueden ser preparados siguiendo varias rutas de síntesis, por ejemplo las descritas en detalle en la patente estadounidense 4.155.913.

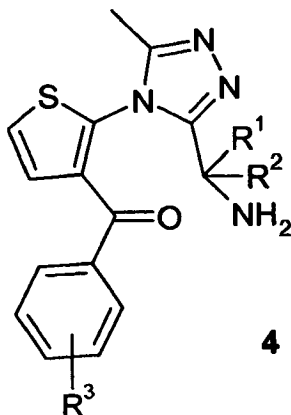
25 En un procedimiento tal, los compuestos de fórmula 1 pueden prepararse mediante reacción de un compuesto de la fórmula 2, en la que los sustituyentes  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  tienen el significado descrito en lo que precede, con hidracida de ácido acético o con hidracida seguida por un ortoéster de ácido acético, dando como resultado el anillo de s-triazol sustituido con metilo asociado al anillo de diazepina presente en los compuestos de fórmula 1.



30 Las tiodiazepinonas de fórmula 2 están disponibles a partir de las correspondientes diazepinonas (es decir, de fórmula 2, en la que  $=\text{S}$  es sustituido por  $=\text{O}$ ) mediante la reacción con el reactivo de Lawesson u otros procedimientos equivalentes de conversión de una amida en una tioamida. Tales diazepinonas están disponibles mediante ciclización de un compuesto de fórmula 3, en la que  $R^3$  tiene el significado descrito en lo que antecede.



- Los compuestos de fórmula 3 pueden ser acilados en la función amina con un cloruro debidamente sustituido de haloacetilo, luego se los hace reaccionar con azida sódica, reduciéndose la función azida a una función amina y ciclizando a continuación, o se cicliza directamente el compuesto haloacetilado en presencia de un reactivo que genere amonio, o se hace reaccionar el compuesto de fórmula 3 con un derivado de  $\alpha$ -aminoácido,  $H_2NCR^1R^2COX$ , en el que  $R^1$  y  $R^2$  tienen el significado descrito en lo que antecede y X es un residuo de éster, particularmente un residuo de éster activado, o se lo hace reaccionar con un cloruro de un  $\alpha$ -aminoácido en el que el grupo amino está debidamente protegido y luego se desprotege para la reacción de ciclización que lleva al compuesto de fórmula 2, en la que =S es sustituido por =O. Los compuestos de fórmula 3 son conocidos, o bien están disponibles según procedimientos conocidos.
- Alternativamente, los compuestos de fórmula 1 pueden prepararse a través de una reacción de ciclización de un compuesto de fórmula 4, en la que los sustituyentes  $R^1$ ,  $R^2$  y  $R^3$  tienen el significado descrito en lo que antecede.



- Tal compuesto intermedio de fórmula 4 está disponible haciendo reaccionar un compuesto de fórmula 3 con ortoéster de ácido acético, luego hidracina y, por último, un derivado de  $\alpha$ -aminoácido,  $H_2NCR^1R^2COX$ , en el que  $R^1$  y  $R^2$  tienen el significado descrito en lo que antecede, estando la función  $\alpha$ -aminoácido en una forma debidamente protegida, y COX significa una función de ácido carboxílico activado. Tales grupos y procedimientos de aminoprotección de las funciones de activación de carboxilo son bien conocidos en la técnica.

La invención versa también acerca de compuestos intermedios novedosos, en particular de compuestos intermedios de fórmula 2, 3 o 4, en los que los sustituyentes tienen los significados definidos para la fórmula 1.

- La presente invención también versa acerca de composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula 1 y sus sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables como ingrediente activo y que pueden ser usadas especialmente en el tratamiento de las enfermedades mencionadas anteriormente en el presente documento. Se prefieren las composiciones para la administración enteral, como la administración nasal, bucal, rectal o, especialmente, oral. Las composiciones comprenden el ingrediente activo por sí solo o, preferentemente, junto con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de comprimidos, grageas, cápsulas, gránulos, pastillas, chicles, supositorios, soluciones, suspensiones, emulsiones o similares, y se preparan según procedimientos estándar conocidos en la técnica.

- Vehículos farmacéuticamente aceptables son, por ejemplo, azúcares, como manosa, lactosa, fructosa, glucosa, sucrosa o sacarosa; alcoholes de azúcar, como manitol, xilitol o sorbitol; almidones, por ejemplo almidón de maíz, trigo, arroz o patata; preparaciones de celulosa, por ejemplo celulosa microcristalina, metilcelulosa, hidroxipropilcelulosa (hiprolosa), hidroxipropil metilcelulosa (hipromelosa) o carboximetilcelulosa sódica, goma guar, carragenano o goma de acacia. Vehículos sólidos adicionales considerados son los fosfatos de magnesio o calcio,

por ejemplo el fosfato tricálcico o el fosfato ácido de calcio, el dióxido de silicio, silicatos, por ejemplo el silicato de magnesio y aluminio o el silicato cálcico, y el dióxido de titanio.

5 Vehículos adicionales adecuados son, especialmente, los materiales de carga, como los azúcares, los alcoholes de azúcar, las preparaciones de celulosa y/o los fosfatos y silicatos mencionados más arriba como vehículos, el dióxido de silicio y el dióxido de titanio, y también aglomerantes, como almidones, por ejemplo almidón de maíz, trigo, arroz o patata, goma guar, gelatina, metilcelulosa, hidroxipropil metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, goma laca, tragacanto, xantano o polivinilpirrolidona, y/o desintegradores, como los almidones mencionados, también almidón carboximetílico de sodio o calcio y almidón de glicolato de sodio, polivinilpirrolidona reticulada (crospovidona), croscarmelosa, ácido alginico o una sal del mismo, como el alginato de sodio, y dióxido de silicio coloidal.

10 Excipientes adicionales son, en especial, los fluidificadores y los lubricantes, por ejemplo ácido silícico, talco, ácido esteárico o sales del mismo, como el estearato de magnesio, de cinc o de calcio, el monoestearato de glicerol, el palmitoestearato de glicerol y/o el polietilenglicol o derivados del mismo.

Pueden añadirse tinciones o pigmentos a los comprimidos, los gránulos, las pastillas o los chicles, por ejemplo con fines de identificación o para indicar diferentes dosis de los ingredientes activos.

15 Las composiciones farmacéuticas para administración oral también incluyen cápsulas duras consistentes en gelatina, y también cápsulas blandas selladas consistentes en gelatina y un plastificante, como el glicerol o el sorbitol. Las cápsulas pueden contener los ingredientes activos en forma de gránulos, por ejemplo mezclados con materiales de carga, como almidón de maíz, aglomerantes y/o deslizantes, como talco o estearato de magnesio, y, opcionalmente, estabilizantes.

20 Las composiciones farmacéuticas para administración oral también incluyen formas de efecto retardado, como comprimidos o cápsulas de efecto retardado, comprimidos recubiertos de película y comprimidos con recubrimiento entérico. Tales composiciones orales farmacéuticas especiales son las realizadas según procedimientos estándar en la técnica. Los comprimidos de efecto retardado pueden comprender, por ejemplo, componentes poliméricos tales como polimetacrilatos y copolímeros de polimetacrilato, copolímeros de poliácrito-polimetacrilato o polímeros resinosos afines. Se obtienen comprimidos recubiertos de película, por ejemplo, mediante recubrimiento con etil celulosa e hidroxipropil metilcelulosa. Recubrimientos entéricos adecuados son, por ejemplo, etil celulosa, ftalato acetato de celulosa, goma laca, succinato acetato de hidroxipropil celulosa y polimetacrilatos y copolímeros de polimetacrilatos.

25

30 Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración rectal son, por ejemplo, supositorios que consisten en una combinación de los ingredientes activos y una base de supositorio. Bases adecuadas de supositorio son, por ejemplo, triglicéridos naturales o sintéticos, hidrocarburos de parafina, polietilenglicoles o alcanoles superiores.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se preparan de una manera conocida *per se*, por ejemplo por medio de procedimientos convencionales de mezcla, granulación, disolución o liofilización.

35 La dosificación del ingrediente activo depende de la enfermedad que vaya a tratarse y de la especie, de su edad, el peso y la condición individual, de los datos farmacocinéticos individuales y del modo de administración. La dosificación sigue requisitos individuales, pero se prefiere una dosificación de entre aproximadamente 0,1 mg/kg y aproximadamente 30 mg/kg. Si se administra el fármaco de forma parenteral, se prefiere una dosificación en el intervalo de 0,1 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg. Las formas adecuadas de dosificación farmacéutica pueden contener de 1 a 1000 mg del ingrediente activo de fórmula 1.

40

La presente invención versa acerca de los compuestos de fórmula 1 descritos anteriormente en el presente documento para el tratamiento y la prevención de enfermedades que son causadas por niveles reducidos en plasma de apo A1, y acerca del uso de compuestos de fórmula 1 para la fabricación de medicamentos para el tratamiento y la prevención de enfermedades que son causadas por niveles reducidos en plasma de apo A1. Ejemplos de tales enfermedades son las enfermedades arteriales ateroscleróticas mencionadas en lo que antecede, como el infarto de miocardio y la apoplejía, así como la enfermedad de Alzheimer.

45

En un aspecto adicional, la invención versa acerca de medicamentos que mejoran los niveles de apo A1 en plasma, que contienen compuestos de fórmula 1, descritos anteriormente en el presente documento, junto con una o más sustancias adicionales de valor terapéutico. Estas sustancias adicionales de valor terapéutico son, preferentemente, compuestos cuya efectividad se conozca en el tratamiento o la prevención de enfermedades arteriales ateroscleróticas; por ejemplo, estatinas, fibratos, niacina y ezetimiba.

50

En otro aspecto, la invención versa acerca del uso de compuestos de fórmula 1 para aumentar los niveles de apo A1 en plasma en mamíferos, particularmente seres humanos, uso que comprende la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de la invención a un paciente necesitado del mismo, y, además, acerca de un uso de tratamiento de mamíferos, particularmente seres humanos, aquejados de enfermedades arteriales ateroscleróticas, como infarto de miocardio y apoplejía, o de la enfermedad de Alzheimer, uso que comprende la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de la invención a un paciente necesitado del mismo.

55

En un aspecto adicional, la invención versa acerca del uso de compuestos de fórmula 1 para prevenir enfermedades arteriales ateroscleróticas, como el infarto de miocardio y la apoplejía, en un paciente que tenga riesgo de padecer una enfermedad arterial aterosclerótica pero que no esté aquejado de tal enfermedad, uso que comprende la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de la invención a un paciente necesitado del mismo.

- 5 Además, la invención versa acerca del uso de compuestos de fórmula 1 para prevenir la enfermedad de Alzheimer en un paciente que tenga riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer pero que no esté aquejado de tal enfermedad, uso que comprende la administración de una cantidad efectiva de un compuesto de la invención a un paciente necesitado del mismo.

Se presentan los ejemplos siguientes para ilustrar adicionalmente la presente invención.

## 10 Ejemplos

Ejemplo 1: 3-benzoil-2-(2-bromo-2-metilpropanoilamino)-tiofeno

Se aciló 1,0 g de 2-amino-3-benzoil-tiofeno (compuesto 3, en el que R<sup>3</sup> es hidrógeno) con bromuro de 2-bromo-2-metilpropanoil, dando 1,49 g (86%) del compuesto base.

Ejemplo 2: 2-(2-amino-2-metilpropanoilamino)-3-benzoil-tiofeno

- 15 Se hirvieron 3,4 g del compuesto del Ejemplo 1 con azida sódica en etanol a reflujo. La azida en bruto fue directamente reducida con cloruro de cinc y amonio en etanol en ebullición, dando un 65% del compuesto base.

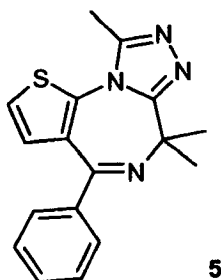
Ejemplo 3: 1,3-dihidro-3,3-dimetil-5-fenil-2H-tieno[2,3-e]-1,4-diazepina-2-ona

Se hirvieron a reflujo 55 mg del compuesto del Ejemplo 2 en etanol que contenía ácido acético. Se obtuvo el compuesto base ciclizado con un rendimiento del 48%.

- 20 Ejemplo 4: 1,3-dihidro-3,3-dimetil-5-fenil-2H-tieno[2,3-e]-1,4-diazepina-2-tiona

Se calentaron 50 mg del compuesto del Ejemplo 3 con pentasulfuro difosforoso (P<sub>2</sub>S<sub>5</sub>) y bicarbonato sódico en éter dimetilico de dietilenglicol (diglima) a 80°C, dando 49 mg (92%) de la tiona (compuesto 2, en el que R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = metil, R<sup>3</sup> = hidrógeno).

Ejemplo 5: 6,6-dimetil-4-fenil-9-metil-6H-tieno[3,2-f]-s-triazol[4,3-a][1,4]diazepina



5

- 25 Se agitaron 49 mg de la tiona del Ejemplo 4 en tetrahidrofurano con hidrazina acuosa a temperatura ambiente. El compuesto resultante fue mezclado con ortoacetato de trietilo en etanol y calentado hasta los 50°C. Se aislaron 15 mg (28%) del compuesto base 5 mediante cromatografía en columna rápida.

<sup>1</sup>H-RMN (CD<sub>3</sub>OD): 1,28 (6H, s, 2 CH<sub>3</sub>), 2,74 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 6,88 (1H, d, J=6Hz, ArH), 7,5 (6H, m, ArH).

- 30 CL (Columna YMC ODS-A 150 mm × 4,6 mm, 5 μ; vol. iny. 10 μL, 30°C, caudal 1,4 mL/min, A: 0,05% TF en agua / B: 0,05% TFA in acetonitrilo / gradiente 5% B a 95% B en 8 min): tiempo de retención 4,42 min, pureza 99,3%  
MS: M+H<sup>+</sup> m/z calc. 309,41, encontrado 308,95

Ejemplo 6: 3,4-metilendioxi-α-cianoacetofenona

Se condensó metil 3,4-metilendioxi-benzoato con acetonitrilo en presencia de metanolato de sodio a 90°C, dando la cianoacetofenona con un rendimiento del 70%.

- 35 Ejemplo 7: 2-amino-3-(3',4'-metilendioxi-benzoil)-tiofeno

Se hizo reaccionar la 3,4-metilendioxi-α-cianoacetofenona del Ejemplo 6 con 2,5-dihidroxi-1,4-ditiano (obtenido a partir de sulfhidrato de cloral y de sodio) en presencia de trietilamina en metanol, aumentando lentamente la temperatura de 5° a 50°C. Se aisló el compuesto base (compuesto 3, en el que R<sup>3</sup> es metilendioxi en la posición meta/para) mediante cromatografía en columna rápida.

## Ejemplo 8: 2-bromoacetilamino-3-(3',4'-metilendioxi-benzoil)-tiofeno

Se agitaron 3,9 g de aminocetona del Ejemplo 7 con cloruro bromoacetílico en diclorometano a temperatura ambiente, dando 4,3 g (86%) del compuesto base.

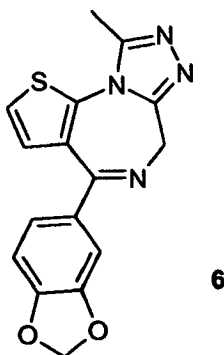
## Ejemplo 9: 5-(3',4'-metilendioxi-fenil)-1,3-dihidro-2H-tieno[2,3-e]-1,4-diazepina-2-ona

- 5 Se trataron a reflujo 4,3 g de bromoacetilaminocetona del Ejemplo 8 en cloruro de metileno con amonio acuoso. La amina en bruto (5,5 g) fue ciclizada sometiéndola a reflujo con 2,5 equivalentes de ácido acético en etanol. Se purificó el producto en bruto (8 g) mediante cromatografía en columna rápida, dando 3,1 g (77%) del compuesto base.

## Ejemplo 10: 5-(3',4'-metilendioxi-fenil)-1,3-dihidro-2H-tieno[2,3-e]-1,4-diazepina-2-tiona

- 10 Se calentó el compuesto del Ejemplo 9 con el reactivo de Lawesson (2,4-bis-(*p*-metoxi-fenil)-1,3-ditiofosfetano-2,4-disulfuro) en triamida de ácido hexametilfosfórico (HMPT) a 75°C durante 3,5 h, dando un 76% de la tiona base (compuesto 2, en el que R<sup>1</sup> = R<sup>2</sup> = hidrógeno, R<sup>3</sup> = metilendioxi en la posición meta/para).

## Ejemplo 11: 4-(3',4'-metilendioxi-fenil)-9-metil-6H-tieno[3,2-f]-s-triazol[4,3-a] [1,4]diazepina

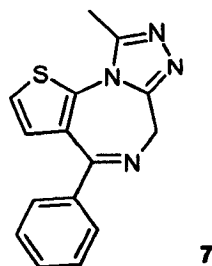


- 15 El compuesto del Ejemplo 10 e hidrazida de ácido acético en éter dimetilico de dietilenglicol (diglima) son calentados lentamente hasta 110°C y mantenidos a esta temperatura durante unos minutos hasta que deja de observarse la evolución de gases. El compuesto base resultante 6 es evaporado, purificado mediante cromatografía de columna rápida y aislado, con un rendimiento del 40%.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 2,72 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 6,01 (2H, s, OCH<sub>2</sub>O), 6,83 (1H, d, J=8Hz, ArH), 7,06 (3H, m, ArH), 7,57 (1H, d, J=6Hz, ArH).

- 20 CL (Columna YMC ODS-A 150 mm × 4,6 mm, 5 μ; vol. iny. 10 μL, 30°C, caudal 1,4 mL/min, A: 0,05% TF en agua / B: 0,05% TFA en acetonitrilo / gradiente 5% B a 95% B en 8 min): tiempo de retención 4,01 min, pureza 99,4%  
MS: M+H<sup>+</sup> m/z calc. 325,37, encontrado 324,90

## Ejemplo 12: 9-metil-4-fenil-6H-tieno[3,2-f]-s-triazol[4,3-a] [1,4]diazepina



- 25 Se sintetizó el compuesto base 7 (también denominado Ro-11-1464), usado con fines de comparación, según la patente estadounidense 4.155.913, Ejemplo 2.

<sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): 2,73 (3H, s, CH<sub>3</sub>), 6,99 (1 H, d, J=6Hz, ArH), 7,5 (6H, m, ArH).

CL (Columna YMC ODS-A 150 mm × 4,6 mm, 5 μ; vol. iny. 10 μL, 30°C, caudal 1,4 mL/min, A: 0,05% TF en agua / B: 0,05% TFA en acetonitrilo / gradiente 5% B a 95% B en 8 min): tiempo de retención 4,16 min, pureza >99,9%

MS: M+H<sup>+</sup> m/z calc. 281,36, encontrado 281,00

- 30 Ejemplo 13: Secreción de apo A1 por parte de los hepatocitos humanos

Se aislaron hepatocitos humanos a partir de trozos de hígados, obtenidos de donantes, que no podían ser usados para trasplante, siguiendo el procedimiento descrito en la patente estadounidense 6.444.664. Las células fueron



5 sembradas en placas de cultivo con una densidad de  $1,5 \times 10^5$  células viables por  $\text{cm}^2$  y fueron mantenidas las primeras 24 h en 1,5 mL por  $10 \text{ cm}^2$  de medio Williams E complementado con suero fetal bovino (FCS) inactivado por calor al 10%, 2 mmol/L de L-glutamina, 20 mU/mL de insulina (135 nmol/L), 50 nmol/L de dexametasona, 100 U/mL de penicilina, 100  $\mu\text{g/mL}$  de estreptomycin y 100  $\mu\text{g/mL}$  de kanamicina a  $37^\circ\text{C}$  en una atmósfera de 5%  $\text{CO}_2$  / 95% aire. Tras 14-16 h, se quitaron de las placas, mediante lavado, las células no adherentes usando el mismo medio de cultivo descrito más arriba. 24 h después de la siembra, se iniciaron las incubaciones con los compuestos en 1 mL del mismo medio de cultivo, pero con una concentración de insulina de 10 nmol/L en lugar de 135 nmol/L.

10 Los hepatocitos humanos fueron tratados con los compuestos 5, 6 y 7 (disueltos en DMSO, no superando la concentración final de DMSO el 0,1% v/v) a concentraciones de 100  $\mu\text{M}$ , 30  $\mu\text{M}$ , 10  $\mu\text{M}$  y 3  $\mu\text{M}$  e incubados durante 24 horas. La concentración de DMSO de todas las muestras y los controles fue del 0,1%. Los pocillos de control contenían únicamente DMSO (0,1% v/v). El medio que había sobre las células era retirado y sustituido con medio nuevo e incubado durante 24 horas. El medio era entonces retirado y sustituido nuevamente con medio nuevo con compuesto nuevo e incubado otras 24 horas. El sobrenadante fue retirado entonces de las células y se determinaron los niveles de apo A1 usando un ensayo ELISA disponible comercialmente (AlerCHEK™) con un anticuerpo anti apo A1 de cabra conjugado con HRP y un revelador de color del sustrato de TMB/peroxidasa. Los sobrenadantes se diluyeron 1:4 con tampón de lavado proporcionado en el estuche.

Después de la última incubación, las células fueron lavadas dos veces con PBS y se añadió un reactivo de BCA (ácido bicinconínico) a cada pocillo para evaluar la proteína celular total según procedimientos estándar.

Tabla 1: Estimulación de secreción de apo A1 en hepatocitos humanos

Conc	Apo A1 (ng secretados por mg de proteína celular) (dos mediciones paralelas con cada compuesto)								
	5			6			7		
	1ª	2ª	media	1ª	2ª	media	1ª	2ª	media
100 $\mu\text{M}$	273	277	275	397	276	336	254	364	309
30 $\mu\text{M}$	219	227	223	290	293	292	236	374	305
10 $\mu\text{M}$	274	156	215	186	212	199	266	191	229
3 $\mu\text{M}$	247	124	185	144	160	152	91	91	91

20 Las células de control (incubadas únicamente con DMSO) mostraron una secreción de apo A1 de  $66 \pm 9$  ng por mg de proteína celular (media  $\pm$  SEM de 8 pocillos). En resumen, los compuestos 6 y, especialmente, 5 estimularon la secreción de apo A1 por encima del nivel de control en hepatocitos humanos incluso a concentraciones de solo 3  $\mu\text{M}$ , concentración a la que el compuesto 7 (compuesto de comparación) fue claramente menos activo.

Ejemplo 14: Unión al receptor central de benzodiazepina (BZD)

25 La afinidad de los compuestos de la invención hacia el receptor central benzodiazepina (BZD) fue medida determinando la unión de 0,4 nM de [ $^3\text{H}$ ]flunitrazepam a membranas de corteza cerebral de rata y su desplazamiento por compuestos de la invención en comparación con el diazepam ligando de referencia, a  $4^\circ\text{C}$  durante 60 min, según describen R.C. Speth y otros, Life Sci. 24:351-358 (1979). La  $\text{CI}_{50}$  de diazepam en este ensayo es de 16 nM.

30 La unión específica con los receptores se define como la diferencia entre la unión total y la unión no específica determinada en presencia de un exceso de ligando no marcado (diazepam). Los resultados se expresan como un porcentaje de la unión específica de control ((unión específica medida/unión específica de control)  $\times$  100) obtenida en presencia de los compuestos 5, 6 y 7.

35 En cada experimento, el respectivo compuesto de referencia fue sometido a ensayo concurrentemente con los compuestos 5, 6 y 7 para evaluar la idoneidad del ensayo. Fue sometido a ensayo a varias concentraciones (para la determinación del valor de la  $\text{CI}_{50}$ ).

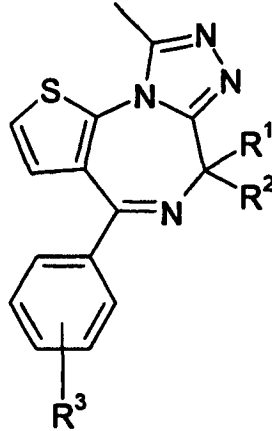
Tabla 2: Unión específica con el receptor de BZD de cerebro de rata

Conc.	% de unión específica de control									Conc.
	5			6			7			
	1ª	2ª	media	1ª	2ª	Media	1ª	2ª	media	
$10^{-9}$ M	88,9	104,6	96,8	110,1	83,2	96,7				$10^{-9}$ M
$10^{-8}$ M	102,0	94,3	98,2	92,7	91,0	91,9	89,0	104,1	96,5	$10^{-8}$ M
$10^{-7}$ M	91,5	96,7	94,1	104,1	101,3	102,7	73,5	68,0	70,7	$10^{-7}$ M
$10^{-6}$ M	90,0	100,4	95,2	88,7	100,5	94,6	18,9	17,9	18,4	$10^{-6}$ M
$10^{-5}$ M							2,3	1,8	2,1	$10^{-5}$ M

En resumen, los compuestos 5 y 6 no muestran ninguna afinidad significativa hacia el receptor de benzodiazepina, mientras que el compuesto 7 (compuesto comparativo) muestra una afinidad moderada, desplazando el ligando marcado con una  $CI_{50}$  de aproximadamente  $5 \times 10^7$ .

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula 1



fórmula 1

en el que

5 R<sup>1</sup> es CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es CH<sub>3</sub> o -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-R<sup>4</sup> o -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-R<sup>4</sup> o -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-R<sup>4</sup>, en las que n es 1, 2, 3 o 4 y R<sup>4</sup> es CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> o CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, y R<sup>3</sup> es hidrógeno o -OCH<sub>2</sub>O- o -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- conectados en la posición orto/meta o la posición meta/para del anillo fenílico; o

10 R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son hidrógeno y R<sup>3</sup> es -OCH<sub>2</sub>O- o -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- conectados en la posición orto/meta o la posición meta/para del anillo fenílico;

y sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los mismos.

2. El compuesto según la reivindicación 1 de fórmula 1 en el que

15 R<sup>1</sup> es CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es CH<sub>3</sub> o -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-R<sup>4</sup> o -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-O-R<sup>4</sup> o -(CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>-S-R<sup>4</sup>, en las que n es 1, 2, 3 o 4 y R<sup>4</sup> es CH<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub> o CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, y R<sup>3</sup> es hidrógeno.

3. El compuesto según la reivindicación 1 de fórmula 1 en el que

R<sup>1</sup> es CH<sub>3</sub>, R<sup>2</sup> es CH<sub>3</sub> y R<sup>3</sup> es hidrógeno.

20 4. El compuesto según la reivindicación 1 de fórmula 1 en el que

R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son hidrógeno y R<sup>3</sup> es -OCH<sub>2</sub>O- o -OCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>O- conectados en la posición orto/meta o la posición meta/para del anillo fenílico.

5. El compuesto según la reivindicación 1 de fórmula 1 en el que

25 R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son hidrógeno y R<sup>3</sup> es -OCH<sub>2</sub>O- conectados en la posición meta/para del anillo fenílico.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula 1 según la reivindicación 1, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 7. La composición farmacéutica según la reivindicación 6 que, además, comprende un compuesto seleccionado de estatinas, fibratos, niacina y ezetimiba.

8. Un compuesto de fórmula 1 según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso como medicamento.

9. El uso de un compuesto de fórmula 1 según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o de una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, como medicamento.

35 10. Un compuesto de fórmula 1 según la reivindicación 1, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento y la prevención de enfermedades que están causadas por niveles plasmáticos bajos de apo A1.

11. El compuesto según la reivindicación 10, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento y la prevención de una enfermedad arterial aterosclerótica.
12. El compuesto según la reivindicación 10, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento y la prevención del infarto de miocardio o la apoplejía.
- 5 13. El compuesto según la reivindicación 10, o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, para el tratamiento y la prevención de la enfermedad de Alzheimer.
14. El uso de un compuesto de fórmula 1 según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para la fabricación de un medicamento para aumentar los niveles plasmáticos de apo A1 en un mamífero, incluyendo el hombre.
- 10 15. El uso según la reivindicación 14 para tratar a un mamífero, incluyendo el hombre, aquejado de una enfermedad arterial aterosclerótica o con la enfermedad de Alzheimer.
16. El uso según la reivindicación 14 para prevenir una enfermedad arterial aterosclerótica en un paciente que tenga el riesgo de padecer una enfermedad arterial aterosclerótica pero no está aquejado de tal enfermedad.
17. El uso según la reivindicación 14 para prevenir la enfermedad de Alzheimer en un paciente que tenga el riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer pero no está aquejado de tal enfermedad.