

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 532 213**

51 Int. Cl.:

**C07D 231/38** (2006.01)

**A61K 31/415** (2006.01)

**A61P 11/00** (2006.01)

**A61P 29/00** (2006.01)

**A61P 37/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.10.2011 E 11772961 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.01.2015 EP 2630126**

54 Título: **Compuestos de pirazol que actúan contra afecciones alérgicas, inmunitarias e inflamatorias**

30 Prioridad:

**21.10.2010 US 405252 P**

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

**25.03.2015**

73 Titular/es:

**GLAXO GROUP LIMITED (100.0%)  
980 Great West Road  
Brentford, Middlesex TW8 9GS, GB**

72 Inventor/es:

**COOPER, ANTHONY WILLIAM JAMES;  
GORE, PAUL MARTIN y  
HOUSE, DAVID**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 532 213 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**

Compuestos de pirazol que actúan contra afecciones alérgicas, inmunitarias e inflamatorias

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a un derivado de amida, a composiciones farmacéuticas que contienen este compuesto y a su uso en terapia. Más particularmente, la presente invención se refiere a un derivado de pirazolamida y a su uso en el tratamiento de una serie de enfermedades, afecciones o trastornos tales como trastornos alérgicos, trastornos inflamatorios y trastornos del sistema inmunitario.

**Antecedentes de la invención**

10 Los canales de calcio activados por la liberación de calcio (CRAC) son una subpoblación de canales manejados por almacenes (SOC) que se abren en respuesta a la depleción de los almacenes de calcio intracelular y representan el punto crucial de la entrada de calcio en determinadas células tales como los mastocitos y los linfocitos T.

Se han identificado dos proteínas como los componentes esenciales para la función de los canales CRAC, STM1 (molécula 1 de interacción estromal), un sensor de calcio localizado en el retículo endoplasmático y ORAI1, una subunidad del poro del canal CRAC que es dependiente de STIM1.

15 En la técnica se conocen inhibidores de molécula pequeña de la corriente de los canales CRAC (en lo sucesivo en el presente documento inhibidores ICREA), su identificación y potencial terapéutico se describen en Derler y col., (Expert Opin. Drug Discovery; 2008: Vol. 3(7) pág. 787- 800). La patente de EE.UU. US6956339 divulga una serie de derivados de pirazol que se dice que poseen actividad inhibidora de los canales de calcio activada por la liberación de calcio, que se cree que son útiles en el tratamiento de enfermedades alérgicas, inflamatorias y autoinmunitarias.

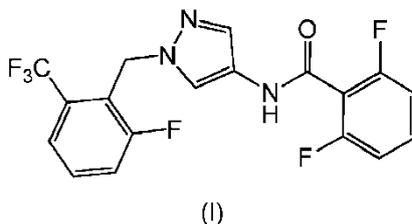
20 La solicitud de patente PCT PCT/EP2010/055318 divulga una serie de compuestos de pirazolamida que son inhibidores de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (ICRAC).

25 Yonetoku y col. (Bioorganic and Medicinal Chemistry; 2006, vol 14, 5370-5383; 2006, vol 14, 4750-4760; 2008, vol 16, 9457-9466) divulgaron compuestos que contienen pirazol como inhibidores de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (ICRAC).

**Sumario de la invención**

Se ha descubierto un compuesto adicional que es un inhibidor de los canales de calcio activado por la liberación de calcio (ICRAC).

30 En un primer aspecto de la invención se proporciona un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



35 En un segundo aspecto de la presente invención se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.

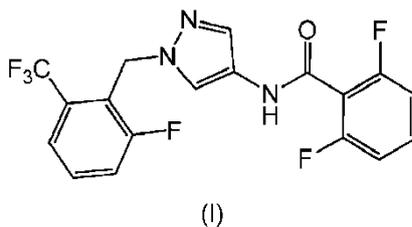
En un tercer aspecto de la presente invención se proporciona un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia, en particular en el tratamiento de una enfermedad o afección para la cual está indicado un inhibidor ICRAC.

40 En un cuarto aspecto de la presente invención se proporciona un procedimiento de tratamiento de una enfermedad o afección para la cual está indicado un inhibidor ICRAC en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un quinto aspecto de la presente invención se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o afección para la cual está indicado un inhibidor ICRAC.

**Descripción detallada de la invención**

5 En un primer aspecto de la invención se proporciona un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo

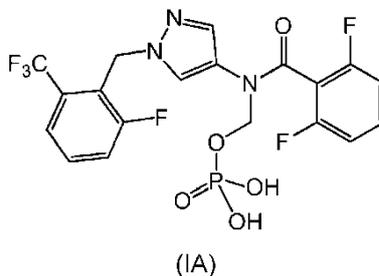


10 Se cree que el compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo pueden tener una o más propiedades ADMET que pueden hacer que sea particularmente adecuado para el desarrollo como producto farmacéutico.

Se apreciará que la presente invención abarca el compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo como base libre o como una sal del mismo. Dado su potencial uso en medicina, las sales de los compuestos de fórmula (I) o un profármaco de los mismos son deseablemente farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden incluir sales de adición de ácido o de base. Como se usa en el presente documento, la expresión "sal farmacéuticamente aceptable" significa cualquier sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo (en forma estequiométrica o no estequiométrica) Para una revisión sobre sales adecuadas véase Berge y col., J. Pharm. Sci., 66:1 -19, (1977). Normalmente, una sal farmacéuticamente aceptable se puede preparar fácilmente usando un ácido o base deseados, según sea adecuado. La sal resultante puede precipitar en una solución y recogerse mediante filtración o se puede recuperar mediante evaporación del disolvente.

La invención abarca todos los profármacos del compuesto de fórmula (I) que, tras la administración al receptor, es capaz de proporcionar (directa o indirectamente) el compuesto de fórmula (I) o un residuo metabolito o activo del mismo. Dichos profármacos son reconocibles por los expertos en la técnica sin experimentación indebida. No obstante, se hace referencia a las enseñanzas de Burger's Medicinal Chemistry and Drug Discovery, 5ª Edición, Vol 1: Principles and Practice, que se incorpora en el presente documento por referencia en la extensión de dichas enseñanzas, y a Rautio y col., (Nature Reviews; 2008; Vol. 7, p 255 - 270).

En una realización se proporciona un profármaco de un compuesto de fórmula (I) que es un compuesto de fórmula (IA)



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

35 Sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de fórmula (IA) incluyen sales de metales alcalinos (tales como de sodio o de potasio), sales de metales alcalino térreos (tales como de calcio y de magnesio), sales de amonio y sales con bases orgánicas, incluyendo sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, tales como isopropilamina, dietilamina, etanolamina, trimetilamina, dicitlohexilamina y N-metil-D-glucamina.

En una realización, el compuesto de fórmula (1A) está en forma de una sal farmacéuticamente aceptable (tal como

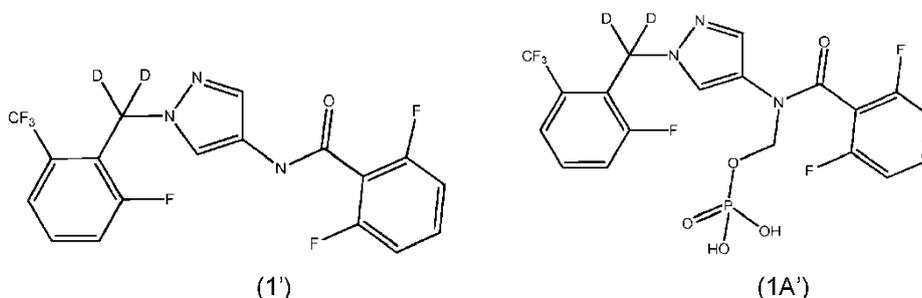
una sal disódica).

Incluidos dentro del ámbito de los “un compuesto de fórmula (I)” están todos los solvatos (incluidos los hidratos), complejos, polimorfos, profármacos, derivados radiomarcados, del compuesto de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

- 5 La invención también incluye compuestos isotópicamente marcados de fórmula (I), que son idénticos a los compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos, excepto por el hecho de que uno o más átomos pueden sustituirse con un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico más habitual en la naturaleza. La sustitución con isótopos más pesados, por ejemplo el deuterio, es decir,  $^2\text{H}$ , puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas resultantes de la mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, incremento de la semivida *in vivo* o reducción de los requisitos de dosificación) y, por tanto, se puede preferir en algunas circunstancias.

Ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno y flúor, tales como  $^2\text{H}$ ,  $^3\text{H}$ ,  $^{11}\text{C}$ ,  $^{14}\text{C}$  y  $^{18}\text{F}$ .

- 15 Por tanto, en una realización adicional se proporcionan compuestos isotópicamente marcados de fórmula (1) y (1A), en particular los siguientes compuestos (1') y (1A'):-



o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

- 20 Se apreciará que muchos compuestos orgánicos pueden formar complejos con disolventes en los que reaccionan o en los que precipitan o cristalizan. Estos complejos se conocen como “solvatos”. Por ejemplo, un complejo con agua se conoce como “hidrato”. Los disolventes con puntos de ebullición altos y/o capaces de formar puentes de hidrógeno, tales como agua, *N*-metil-pirrolidinona, metanol y etanol, se pueden usar para formar solvatos. Procedimientos para la identificación de solvatos incluyen, entre otros, RMN y microanálisis. Los solvatos de los compuestos de fórmula (I) o un profármaco del mismo están dentro del alcance de la invención.

- 25 El compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo pueden estar en forma cristalina o amorfa. Adicionalmente, algunas de las formas cristalinas del compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo pueden existir como polimorfos, que están incluidos dentro del alcance de la presente invención. Las formas polimórficas del compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo se pueden caracterizar y diferenciar usando una serie de técnicas analíticas convencionales, incluyendo, entre otros, patrones de difracción de rayos X en polvo (XRPD), espectros de infrarrojos (IR), espectros de Raman, calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis termogravimétrico (TGA) y resonancia magnética nuclear en estado sólido (RMN ES).

- 35 Se apreciará que determinados compuestos de fórmula (I) o un profármaco del mismo descritos en el presente documento pueden contener uno o más átomos quirales de forma que se pueden formar los isómeros ópticos, por ejemplo enantiómeros o diaestereómeros. De acuerdo con esto, la presente invención abarca isómeros de los compuestos de fórmula (I) o un profármaco del mismo, sea como isómeros individuales aislados de forma que estén sustancialmente libres del otro isómero (es decir, puros) o como mezclas (es decir racematos y mezclas racémicas). Un isómero individual aislado de modo que esté sustancialmente libre del otro isómero (es decir, puro) se puede aislar de modo que haya presente menos del 10%, en particular menos de aproximadamente un 1%, por ejemplo menos de aproximadamente un 0,1% del otro isómero.

La separación de isómeros se puede conseguir mediante técnicas convencionales conocidas por los expertos en la técnica, por ejemplo mediante cristalización fraccional, cromatografía o HPLC.

Se entenderá que la presente invención abarca todos los tautómeros de los compuestos de fórmula (I) o un profármaco del mismo ya sea como tautómeros individuales o como mezclas de los mismos.

- 45 A partir de lo anterior se apreciará que dentro del alcance de la invención se incluyen solvatos, isómeros y formas

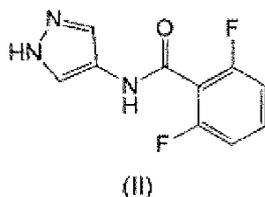
polimórficas de los compuestos de fórmula (I) o un profármaco de los mismos y sales de los mismos.

5 El compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo pueden prepararse mediante una variedad de procedimientos, incluida la química estándar. Toda variable previamente definida continuará teniendo los significados previamente definidos a menos que se indique lo contrario. Procedimientos sintéticos generales ilustrativos se indican más adelante y, después, se preparan compuestos específicos de la invención en los Ejemplos de trabajo.

En un aspecto adicional se divulga un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo, que es un procedimiento seleccionado de (a), (b) y (c), en el que:

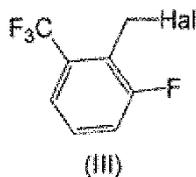
(a) comprende la reacción de un compuesto de fórmula (II):

10



con un compuesto de fórmula (III)

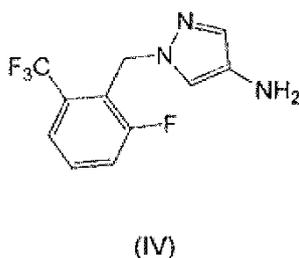
15



en la que Hal es halógeno:

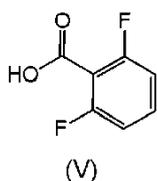
(b) comprende la reacción de un compuesto de fórmula (IV)

20



con un compuesto de fórmula (V) o un derivado activado del mismo

25



(c) comprende convertir un compuesto de fórmula (I) en un profármaco de un compuesto de fórmula (I)

Procedimiento (a)

5 Para el compuesto de fórmula (III), un grupo Hal adecuado es bromo. La reacción entre el compuesto de fórmula (II) y (III) se puede llevar a cabo en un disolvente orgánico inerte tal como tetrahidrofurano o dimetilformamida a temperatura ambiente o elevada, opcionalmente en presencia de una base adecuada, tal como carbonato potásico o de cesio, o de una base fuerte (tal como *t*-butóxido sódico o bis(trimetilsilil)amida de litio (LiHMDS)).

El compuesto de fórmula (II) se puede preparar a partir de 4-nitro-1*H*-pirazol (que está disponible comercialmente), que puede hidrogenarse para proporcionar 1*H*-pirazol-4-amina y después hacerse reaccionar con cloruro de 2,6-difluorobenzoilo usando metodología estándar.

10 Procedimiento (b)

El compuesto de fórmula (IV) y el ácido carboxílico de fórmula (V) normalmente se hace reaccionar en condiciones para la formación de amida que son familiares para los expertos en la técnica. Dichas reacciones se pueden llevar a cabo en un disolvente orgánico adecuado (p. ej., DMF o acetonitrilo) con una amina (p. ej., DIPEA o trietilamina) en presencia de un grupo activador adecuado (p. ej., HATU o TBTU).

15 La reacción también se puede llevar a cabo usando un derivado activado de un compuesto de fórmula (V), tal como un cloruro ácido. La reacción entre un compuesto activado de fórmula (V) y un compuesto de fórmula (IV) normalmente se lleva a cabo en un disolvente orgánico inerte tal como tetrahidrofurano, cloroformo o diclorometano, o un sistema mixto orgánico / acuoso a temperatura ambiente o elevada, opcionalmente en presencia de una base adecuada, por ejemplo una base orgánica tal como trietilamina o DIPEA), un carbonato de metal alcalino (tal como carbonato potásico) o un hidrógenocarbonato de un metal alcalino (tal como hidrógenocarbonato sódico)

20 El compuesto de fórmula (IV) se puede preparar mediante procedimientos descritos en el presente documento. El compuesto de fórmula (V) está disponible comercialmente.

Procedimiento (c)

25 El compuesto de fórmula (I) se puede convertir en compuestos de fórmula (IA) mediante la reacción con un reactivo adecuado tal como bis(1,1-dimetiletil)fosfato de clorometilo y la posterior desprotección del producto resultante usando procedimientos descritos en el presente documento o mediante procedimientos análogos a los mismos.

30 Se apreciará que en cualquiera de las vías descritas con anterioridad, el orden preciso de las etapas de síntesis por las cuales se introducen varios grupos y restos en la molécula puede variar. Estará dentro de la habilidad del experto en la técnica garantizar que los grupos o restos introducidos en una etapa del proceso no se verán afectados por las posteriores transformaciones y reacciones y de seleccionar el orden de las etapas de síntesis en consecuencia. En algunos casos puede ser adecuado usar grupos protectores para prevenir las reacciones entre uno o más grupos o restos. Dichos procedimientos son familiares para los expertos en la técnica (véase, por ejemplo, "Protective groups in organic synthesis" de T.W. Greene y P.G.M. Wuts (John Wiley & sons 1999) o "Protecting Groups" de P.J. Kocienski (Georg Thieme Verlag 1994).

35 Se apreciará adicionalmente que nuevos intermedios descritos en el presente documento (p. ej., el intermedio de fórmula (IV) o una sal del mismo) también puede formar otro aspecto de la presente invención (no reivindicado).

Se cree que el compuesto de fórmula (I) es un inhibidor de los canales de calcio activado por la liberación de calcio y, por tanto, puede ser potencialmente útil en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que dicho compuesto está indicado.

40 Por tanto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.

Por tanto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o u profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor ICRAC.

45 También se proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o u profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedades o afecciones para las que está indicado un inhibidor ICRAC.

50 También se proporciona un procedimiento de tratamiento de enfermedades o afecciones para la cual está indicado un inhibidor ICRAC en un sujeto que lo necesite, que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, el sujeto que lo necesita es un mamífero, tal como un ser humano.

Como se usa en el presente documento, la expresión “cantidad eficaz” significa la cantidad de un fármaco o agente farmacéutico que provoque la respuesta biológica o médica de un tejido, sistema, mamífero o ser humano buscada por, por ejemplo, un investigador o clínico. Además, el término “cantidad terapéuticamente eficaz” significa cualquier cantidad que, en comparación con un sujeto correspondiente que no haya recibido dicha cantidad, tenga como resultado la mejora del tratamiento, curación, prevención o alivio de una enfermedad, trastorno o efecto secundario, o una disminución del índice de avance de una enfermedad o trastorno. La expresión también incluye dentro de su alcance cantidades eficaces para potenciar la función fisiológica normal.

Se cree que los inhibidores de los canales de calcio activados por la liberación de calcio (es decir, inhibidores ICRAC) están indicados en el tratamiento y/o profilaxis de varias enfermedades, afecciones o trastornos en mamíferos tales como seres humanos. Estos incluyen trastornos alérgicos, trastornos inflamatorios, trastornos del sistema inmunitario y afecciones en las que la actividad antiplaquetaria o antitrombótica es útil.

Ejemplos de trastornos alérgicos incluyen: rinitis (tal como rinitis alérgica), sinusitis, rinosinusitis, otitis media crónica o recurrente, reacciones farmacológicas, reacciones a picaduras de insectos, alergia al látex, conjuntivitis, urticaria, anafilaxia y reacciones anafilactoides, dermatitis atópica y alergias alimentarias.

Ejemplos de trastornos inflamatorios incluyen: trastornos pulmonares inflamatorios (tales como asma, síndrome de dificultad respiratoria aguda, lesión pulmonar aguda, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquiectasia y fibrosis quística); trastornos inflamatorios crónicos de las articulaciones (tales como artritis, artritis reumatoide, artrosis y enfermedades óseas asociadas con un incremento de la resorción ósea); trastornos intestinales inflamatorios (tales como esófago de Barrett, ileítis, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn); trastornos inflamatorios del ojo (tales como distrofia corneana, tracoma, uveítis, oftalmítis simpática y endoftalmítis); enfermedades inflamatorias del riñón (tal como enfermedades desmielinizantes crónicas del sistema nervioso, esclerosis múltiple, neurodegeneración relacionada con el SIDA y enfermedad de Alzheimer, meningitis infecciosa, encefalomiéltis, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica y encefalitis viral o autoinmune); enfermedades inflamatorias del corazón (tales como miocarditis y miocardiopatía, cardiopatía isquémica, infarto de miocardio y aterosclerosis); otras enfermedades con componentes inflamatorios significativos, incluyendo tuberculosis; lepra; rechazo de trasplantes; preeclampsia; endometriosis; insuficiencia hepática crónica; traumatismo y cáncer cerebral y de la médula espinal; y afecciones en las que la inflamación sistémica del cuerpo también puede estar presente (tal como shock séptico, shock hemorrágico o anafiláctico o shock inducido por quimioterapia por cáncer).

Ejemplos de trastornos del sistema inmunitario incluyen: Enfermedades autoinmunitarias del sistema nervioso central y periférico (tal como esclerosis múltiple, miastenia gravis, síndrome miasténico de Eaton-Lambert), neuropatías autoinmunitarias (tales como de Guillain-Barré,); enfermedades autoinmunitarias del ojo (tal como uveítis autoinmune); enfermedades autoinmunes de la sangre (tal como anemia hemolítica autoinmune, anemia perniciosa y trombocitopenia autoinmune, por ejemplo púrpura trombocitopénica idiopática); enfermedades autoinmune de la vasculatura (tal como arteritis temporal, síndrome antifosfolípidos, vasculitides, por ejemplo granulomatosis de Wegener y enfermedad de Behcet); enfermedades autoinmunitarias de la piel (tales como alopecia areata, psoriasis, dermatitis herpetiforme, pénfigo vulgar, penfigoide ampolloso y vitiligo); enfermedad autoinmune del tracto gastrointestinal (tal como enfermedad celíaca, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, cirrosis biliar primaria y hepatitis autoinmune); trastornos autoinmunes de las glándulas endocrinas (tales como diabetes mellitus de tipo I, tiroiditis autoinmune, enfermedad de Grave, tiroiditis de Hashimoto, ooforitis autoinmune y orquitis); trastorno autoinmune de las glándulas suprarrenales (tales como enfermedad de Addison); y enfermedades autoinmunes de múltiples sistemas, incluyendo enfermedades del tejido conjuntivo y del sistema musculoesquelético (tales como artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, esclerodermia, polimiositis, dermatomiositis), espondiloartropatías (tales como espondilitis anquilosante y artritis psoriásica). Ejemplos de afecciones en las que la actividad antiplaquetaria o antitrombótica es útil para tratamiento y/o profilaxis incluyen; cardiopatía isquémica, infarto de miocardio, accidente cerebrovascular (ictus) y trombosis vascular (venosa, arterial e intracardiaca).

Otras enfermedades o afecciones que se pueden tratar con los compuestos de la invención incluyen afecciones en las que los mastocitos y los basófilos contribuyen a la patología, tal como leucemia de mastocitos, mastocitosis, endometriosis y leucemia de basófilos.

La expresión “enfermedad o afección para la que está indicada un ICRAC” pretende incluir cualquiera o todos los estados de enfermedad anteriores.

Se cree que el compuesto de fórmula (I), que tiene actividad inhibidora ICRAC, puede inhibir la desgranulación de los mastocitos y/o inhibir la activación de linfocitos T. Los compuestos que tienen dicha actividad pueden ser particularmente adecuados para el tratamiento de una serie de enfermedades y afecciones, por ejemplo asma y rinitis.

En una realización, la enfermedad o afección para la cual está indicado un inhibidor ICRAC es asma.

En una realización adicional, la enfermedad o afección para la cual está indicado un inhibidor ICRAC es rinitis.

Aunque es posible que para su uso en terapia se puede administrar un compuesto de fórmula (I) o un profármaco

del mismo, así como sales farmacéuticamente aceptables del mismo, como sustancia química bruta, es típico formular en una composición adecuada que comprende uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables. Dichas composiciones se pueden preparar usando procedimientos estándar.

- 5 Por tanto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I), o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más vehículos, diluyentes y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.

Por tanto, se proporciona una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades o afecciones para las cuales está indicado un inhibidor ICRAC, que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 10 Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que se puede preparar mediante una mezcla, adecuada a temperatura ambiente y presión atmosférica, puede ser adecuada para administración tópica (que incluye administración epicutánea, inhalada, intranasal u ocular), administración enteral (que incluye administración oral o rectal) o administración parenteral (tal como mediante inyección o infusión). De interés son las composiciones que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, adecuadas para administración tópica, particularmente adecuadas para administración intranasal.

En general, las composiciones pueden estar en forma de soluciones o suspensiones (acuosas o no acuosas), comprimidos, cápsulas, preparaciones líquidas orales, polvos, gránulos, pastillas, lociones, cremas, pomadas, geles, espumas, polvos reconstituibles o supositorios según lo requiera la vía de administración.

- 20 En general, las composiciones que comprenden un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo pueden contener de aproximadamente 0,1 % a 99 % (peso/peso), tal como de aproximadamente 10 a 60 % (peso/peso) (en base al peso total de la composición), del compuesto de fórmula (I) o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo en función de la vía de administración. La dosis del compuesto usado en el tratamiento de las enfermedades mencionadas anteriormente variará de la forma habitual con la gravedad de las enfermedades, el peso del que las sufre y otros factores similares. No obstante, como guía general, las dosis unitarias adecuadas pueden ser de adecuadamente 0,05 a 1.000 mg, por ejemplo de aproximadamente 0,05 a 200 mg, y dichas dosis unitarias pueden administrarse más de una vez al día, por ejemplo dos o tres veces al día o según se desee. Dicha terapia se puede extender durante una serie de semanas o meses.

- 30 También se proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de una enfermedad o afección para la cual está indicado un inhibidor ICRAC, que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En una realización se proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de un trastorno alérgico (tal como rinitis) o un trastorno inflamatorio (tal como asma) que comprende un compuesto de fórmula (I) o profármaco del mismo, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 35 Por tanto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende de 0,05 a 1.000 mg de un compuesto de fórmula (I), o como profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y de 0,1 a 2 g de uno o más vehículos, diluyentes y/o excipientes farmacéuticamente aceptables.

- 40 La proporción del compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en una composición total dependerá del tipo preciso de composición que se va a preparar y de la vía de administración concreta, pero, en general, estará dentro del intervalo de aproximadamente 0,001 a 10 % (peso/peso) en base al peso total de la composición. En general, aunque para la mayoría de los tipos de preparaciones, la proporción usada estará en el intervalo de aproximadamente 0,005 a 1 % (peso/peso), tal como de aproximadamente 0,01 a 1 % (peso/peso), por ejemplo de aproximadamente 0,01 a 0,5 % (peso/peso) en base al peso total de la composición. No obstante, en los polvos para inhalación, la proporción usada generalmente estará dentro del intervalo de aproximadamente 0,1 a 5 % (peso/peso) en base al peso total de la composición.

En general, las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración intranasal o inhalada puede formularse de forma conveniente como aerosoles, soluciones, suspensiones, gotas, geles o polvos secos, con uno o más vehículos y/o excipientes farmacéuticamente aceptables, tales como vehículos acuosos o no acuosos, agentes espesantes, agentes de ajuste de la isotonicidad, antioxidantes y/o conservantes.

- 50 Para las composiciones adecuadas para administración intranasal inhalada, el compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, pueden estar normalmente en una forma de tamaño de partícula reducido que se puede preparar mediante técnicas convencionales, por ejemplo micronización y molturación. En general, el compuesto de tamaño reducido (p. ej., micronizado) de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo puede estar definido por un valor de  $D_{50}$  de aproximadamente 0,5 a 10 micrómetros, tales como de aproximadamente 2 a 4 micrómetros (por ejemplo, medido usando difracción láser).

En un aspecto, las composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del

mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo son adecuadas para administración intranasal. Las composiciones intranasales que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo pueden permitir la liberación del(los) compuesto(s) en todas las zonas de las cavidades nasales (el tejido diana) y, adicionalmente, pueden permitir que el o los compuestos permanezcan en contacto con el tejido diana durante periodos de tiempo más prolongados. Un régimen de dosificación adecuado para composiciones intranasales sería uno para que el paciente inhale lentamente por la nariz después de limpiar la cavidad nasal. Durante la inhalación, la composición se administraría en una fosa nasal mientras que la otra se comprime de forma manual. Este procedimiento se repetiría después para la otra fosa nasal. Normalmente se administrarían una o dos pulverizaciones por fosa nasal mediante el procedimiento anterior hasta dos o tres veces al día, idealmente una vez al día. De particular interés son las composiciones intranasales adecuadas para la administración una vez al día.

Las composiciones intranasales pueden contener opcionalmente uno o más agentes de suspensión, uno o más conservantes, uno o más agentes humectantes y/o uno o más agentes de ajuste de la isotonicidad según se desee. Las composiciones adecuadas para administración intranasal pueden contener además opcionalmente otros excipientes, tales como antioxidantes (por ejemplo, metabisulfito sódico), agentes de enmascaramiento del gusto (tal como mentol) y agentes edulcorantes (por ejemplo, dextrosa, glicerol, sacarina y/o sorbitol).

El agente de suspensión, si se incluye, normalmente estará presente en la composición intranasal en una cantidad de entre aproximadamente 0,1 y 5 % (peso/peso), tal como entre aproximadamente 1,5 % y 2,4 % (peso/peso) en base al peso total de la composición. Ejemplos de agentes de suspensión incluyen Avicel®, carboximetilcelulosa, veegum, tragacanto, bentonita, metilcelulosa y polietilenglicoles, por ejemplo celulosa microcristalina o carboximetilcelulosa sódica. Los agentes de suspensión también se pueden incluir en las composiciones adecuadas para administración inhalada, ocular y oral según sea adecuado.

Para fines de estabilidad, las composiciones intranasales que comprenden un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo pueden protegerse de la contaminación microbiana o fúngica y del crecimiento por inclusión de un conservante. Ejemplos de agentes antimicrobianos o conservantes farmacéuticamente aceptables pueden incluir compuestos de amonio cuaternario (p. ej., cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio, cetrimida y cloruro de cetilpiridinio), agentes de mercurio (p. ej., nitrato fenilmercuríco, acetato fenilmercuríco y timerosal), agentes alcohólicos (p. ej., clorobutanol, alcohol feniletílico y alcohol bencílico), ésteres antibacterianos (p. ej., ésteres de ácido para-hidroxibenzoico), agentes quelantes tales como etilendiaminotetraacetato disódico (EDTA) y otros agentes antimicrobianos tales como clorhexidina, clorocresol, ácido sórbico y sus sales (tales como sorbato potásico) y polimixina. Ejemplos de agentes antifúngicos o conservantes farmacéuticamente aceptables pueden incluir benzoato sódico. El conservante, si está incluido, puede estar presente en una cantidad de entre aproximadamente 0,001 y 1 % (peso/peso), tal como aproximadamente 0,015 % (peso/peso), en base al peso total de la composición. Pueden incluirse conservantes en las composiciones adecuadas para otras vías de administración según sea adecuado.

Las composiciones que contienen un medicamento suspendido pueden incluir un agente humectante farmacéuticamente aceptable que funciona para humidificar las partículas de medicamento para facilitar la dispersión de las mismas en la fase acuosa de la composiciones. Normalmente, la cantidad de agente humectante usado no producirá espumación de la dispersión durante la mezcla. Ejemplos de agentes humectantes incluyen alcoholes grasos, ésteres y éteres, tales como monooleato de polioxietileno (20) sorbitán (polisorbato 80). El agente humectante puede estar presente en las composiciones intranasales en una cantidad de entre aproximadamente 0,001 y 0,05 % (peso/peso), por ejemplo aproximadamente 0,025 % (peso/peso), en base al peso total de la composición. Los agentes humectantes se pueden incluir en composiciones adecuadas para otras vías de administración. Por ejemplo para administración inhalada y/u ocular, según sea adecuado.

Un agente de ajuste de la isotonicidad puede incluirse para conseguir la isotonicidad con los fluidos corporales, por ejemplo fluidos de la cavidad nasal, que tiene como resultado niveles reducidos de irritación. Ejemplos de agentes de ajuste de la isotonicidad incluyen cloruro sódico, dextrosa, xilitol y cloruro cálcico. Un agente de ajuste de la isotonicidad puede incluirse en las composiciones intranasales en una cantidad de entre aproximadamente 0,1 y 10 % (peso/peso), tal como aproximadamente 5,0 % (peso/peso), en base al peso total de la composición. Los agentes de ajuste de la isotonicidad también pueden incluirse en las composiciones adecuadas para otras vías de administración, por ejemplo en las composiciones adecuadas para administración inhalada, ocular, de líquidos orales o parenteral, según sea adecuado.

Adicionalmente, las composiciones intranasales que comprenden un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se pueden tamponar mediante la adición de agentes de tamponamiento adecuados tales como citrato sódico, ácido cítrico, fosfatos tales como fosfato disódico (por ejemplo, las formas dodecahidrato, heptahidrato, dihidrato y anhidro) o fosfato sódico y mezclas de los mismos. También pueden incluirse agentes de tamponamiento en las composiciones adecuadas para otras vías de administración según sea adecuado.

Las composiciones para administración tópica en la nariz o los pulmones, por ejemplo para el tratamiento de la rinitis, incluyen composiciones de aerosol presurizado y composiciones acuosas liberadas en las cavidades nasales mediante bombas presurizadas. Las composiciones que no están presurizadas ni adaptadas para su administración

tópica en la cavidad nasal son de particular interés. Las composiciones adecuadas contienen agua como diluyente o vehículo para este fin. Las composiciones acuosas para administrar en los pulmones o la nariz se pueden proporcionar con excipientes convencionales, tales como agentes tampón, agentes modificadores de la tonicidad y similares. Las composiciones acuosas también se pueden administrar en la nariz mediante nebulización.

5 Normalmente se puede usar un dispensador de fluidos para liberar una composición fluida en las cavidades nasales. La composición fluida puede ser acuosa o no acuosa, pero normalmente es acuosa. Dicho dispensador de fluidos puede tener una boquilla de dispensación u orificio de dispensación a través del cual se dispensa una dosis medida de la composición fluida tras la aplicación de una fuerza aplicada por el usuario en un mecanismo de bomba del dispensador de fluidos. Dichos dispensadores de fluido se proporcionan con un depósito de múltiples dosis medidas de la composición fluida, pudiéndose dispensar las dosis mediante pulsaciones secuenciales de la bomba. La boquilla u orificio dispensador/a se puede configurar para su inserción en las fosas nasales del usuario para la pulverización de la composición fluida en la cavidad nasal. En el documento WO05/044354, cuyo contenido complete se incorpora en la presente memoria por referencia, se describe e ilustra un dispensador de fluidos del tipo mencionado en lo que antecede. El dispensador tiene una carcasa que aloja un dispositivo de descarga de fluidos que tiene una bomba de compresión montada sobre un contenedor que contiene una composición fluida. La carcasa tiene al menos una palanca que se puede accionar con un dedo, que se mueve hacia dentro con respecto a la carcasa para empujar el contenedor hacia arriba y el interior de la carcasa con el fin de comprimir la bomba de modo que bombee una dosis medida de la composición hacia fuera del tallo de la bomba a través de una boquilla nasal de la carcasa. En una forma de realización, el dispensador de fluidos es del tipo general ilustrado en las figuras 30-40 del documento WO05/044354.

En un aspecto se proporciona una composición intranasal que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En otro aspecto, dicha composición intranasal carece de cloruro de benzalconio.

La administración inhalada implica la administración tópica en los pulmones, tal como mediante composición en aerosol o en polvo seco.

Las composiciones en aerosol, adecuadas para administración inhalada, pueden comprender una solución o suspensión del compuesto en un disolvente acuoso o no acuoso farmacéuticamente aceptable. Las composiciones en aerosol adecuadas para inhalación pueden ser una suspensión o una solución y generalmente contienen un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un propelente adecuado tal como fluorocarbono o clorofluorocarbono que contiene hidrógeno o mezclas de los mismos, tales como hidrofluoroalcanos, por ejemplo 1,1,1,2-tetrafluoroetano, 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-*n*-propano o una mezcla de los mismos. La composición en aerosol puede contener opcionalmente excipientes adicionales bien conocidos en la técnica, tales como tensioactivos o codisolventes. Ejemplos de tensioactivos incluyen, entre otros, ácido oleico, lecitina, un ácido o derivado oligoláctico, por ejemplo como se describe en los documentos WO94/21229 y WO98/34596. Un ejemplo de un codisolvente incluye, entre otros, etanol. Las composiciones en aerosol se pueden presentar en cantidades mono o multidosis en forma estéril en un contenedor sellado, que pueden tomar la forma de un cartucho o rellenarse para usar con un dispositivo atomizador o un inhalador. Como alternativa, el contenedor sellado puede ser un dispositivo dispensador unitario tal como un inhalador nasal de monodosis o un dispensador de aerosol equipado con una válvula aplicadora (inhalador de dosis medida), que se desechará una vez que los contenidos del contenedor se hayan agotado.

Las composiciones inhalables en polvo seco pueden tomar la forma de cápsulas y cartuchos de, por ejemplo, gelatina, o blíster de, por ejemplo, papel de aluminio laminado, para su uso en un inhalador o insuflador. Dichas composiciones se pueden formular de modo que comprendan una mezcla en polvo de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una base en polvo adecuada tal como lactosa o almidón.

45 Opcionalmente, en particular para las composiciones inhalables en polvo seco, una composición adecuada para administración inhalada se puede incorporar en una pluralidad de contenedores de dosis sellados (p.ej., que comprenden la composición en polvo seco) montados longitudinalmente en una tira o lazo dentro de un dispositivo de inhalación adecuado. El contenedor se puede abrir rasgando o desgarrando a voluntad y la dosis de, por ejemplo, la composición en polvo seco se puede administrar mediante inhalación a través del dispositivo, tal como el dispositivo DISKUS<sup>®</sup> comercializado por GlaxoSmithKline. El dispositivo de inhalación DISKUS<sup>®</sup> se describe en, por ejemplo, el documento GB 2242134 A, y en tal dispositivo al menos un contenedor para la composición en forma de polvo (el contenedor o contenedores pueden ser, preferentemente, una pluralidad de contenedores de dosis sellados montados longitudinalmente en una tira o lazo) se define entre dos miembros unidos uno a otro de forma extraíble, el dispositivo comprende: un medio de definir una estación de abertura para dicho contenedor o contenedores; un medio para rasgar los miembros y separarlos en la estación de abertura para abrir el contenedor; y una salida, que se comunica con el contenedor abierto, a través del cual un usuario puede inhalar la composición en forma de polvo desde el contenedor abierto.

Las composiciones en aerosol normalmente se disponen de un modo tal que cada dosis medida o "descarga" de aerosol contiene aproximadamente 20 µg - 2000 µg, en particular aproximadamente 20 µg - 500 µg de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. Se puede administrar una vez al día o

varias veces al día, por ejemplo 2, 3, 4 u 8 veces, administrándose, por ejemplo, 1, 2 ó 3 dosis cada vez. La dosis diaria global con un aerosol estará dentro del intervalo de aproximadamente 100 µg - 10 mg, tal como entre aproximadamente 200 µg – 2.000 µg. La dosis diaria global y la dosis medida liberada por las cápsulas y los cartuchos en un inhalador o insuflador generalmente será del doble que las de las composiciones en aerosol.

- 5 En otro aspecto se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que es adecuada para administración epicutánea. Una composición epicutánea que se va a aplicar en el área afectada, por ejemplo la piel, mediante una o más aplicaciones al día, puede estar en forma de, por ejemplo, una pomada, una crema, una emulsión, una loción, una espuma, un pulverizador, un gel acuoso o una microemulsión. Dichas composiciones pueden contener  
10 opcionalmente uno o más agentes solubilizantes, agentes de potenciación de la penetración en la piel, tensioactivos, fragancias, conservantes o agentes emulsionantes.

Los ungüentos, cremas y geles pueden formularse, por ejemplo, con una base acuosa u oleosa con la adición de un agente espesante y/o gelificante adecuado y/o disolventes. Por tanto, dichas bases pueden incluir agua y/o un aceite, tal como parafina líquida o un aceite vegetal, tal como aceite de cacahuete o aceite de ricino, o un disolvente tal como polietilenglicol. Agentes espesantes y agentes de gelificación que se pueden usar de acuerdo con la naturaleza de la base incluyen parafina blanda, estearato de aluminio, alcohol cetosteárico, polietilenglicoles, lanolina, cera de abeja, carboxipolimetileno y derivados de celulosa, y/o monoestearato de glicerilo y/o agentes emulsionantes no iónicos. Las lociones se pueden formular con una base acuosa u oleosa y, en general, también contendrán uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes de dispersión, agentes de suspensión o agentes espesantes.  
15  
20

En otro aspecto se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que es adecuada para administración ocular. Dichas composiciones pueden contener opcionalmente uno o más agentes de suspensión, uno o más conservantes, uno o más agentes humectantes / lubricantes y/o uno o más agentes de ajuste de la isotonicidad. Ejemplos de agentes humectantes / lubricantes oftálmicos pueden incluir derivados de celulosa, dextrano 70, gelatina, polioles líquidos, alcohol polivinílico y povidona, tal como derivados de celulosa y polioles.  
25

En otro aspecto se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que es adecuada para administración oral. Los comprimidos y cápsulas para administración oral pueden estar en forma de dosis unitaria y pueden contener excipientes convencionales, tales como agentes aglutinantes, cargas, lubricantes para la formación de comprimidos, disgregantes y agentes humectantes aceptables. Los comprimidos se pueden recubrir de acuerdo con procedimientos bien conocidos en la práctica farmacéutica normal.  
30

Las preparaciones líquidas orales pueden estar en forma de, por ejemplo, suspensión acuosa u oleosa, soluciones, emulsiones, jarabes o elixires, o pueden estar en forma de un producto seco para reconstitución con agua u otros vehículos adecuados antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles), conservantes y, si se desea, aromatizantes o colorantes convencionales.  
35

En otro aspecto se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que es adecuada para administración parenteral. La formas de dosificación unitaria fluidas para administración parenteral se pueden preparar usando un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo estéril que puede ser acuoso o con base oleosa. El compuesto, dependiendo del vehículo y la concentración usada, puede suspenderse o disolverse en el vehículo. En la preparación de las soluciones, el compuesto se puede disolver para inyectar o esterilizar mediante filtración antes de cargar en un vial o ampolla adecuados y sellar. Opcionalmente, los adyuvantes tales como anestésicos locales, conservantes y agentes tampón se pueden disolver en el vehículo. Para potenciar la estabilidad, la composición se puede congelar después de cargar en el vial y eliminar el agua al vacío. La composición parenteral liofilizada puede reconstituirse con un disolvente adecuado justo antes de la administración. Las suspensiones parenterales se pueden preparar de un modo sustancialmente igual, a excepción de que el compuesto se suspende en el vehículo en lugar de disolverse y la esterilización no se puede conseguir mediante filtración. El compuesto se puede esterilizar mediante la exposición a óxido de etileno antes de suspender en un vehículo estéril. Se puede incluir un tensioactivo o agente humectante en la composición para facilitar la distribución uniforme del compuesto.  
40  
45  
50

Los compuestos y las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se pueden usar en combinación con otros agentes terapéuticos, o incluir uno o más de ellos, seleccionados de, por ejemplo, agentes antiinflamatorios, agentes anticolinérgicos (particularmente un antagonista del receptor M<sub>1</sub>/M<sub>2</sub>/M<sub>3</sub>), agonistas del receptor β<sub>2</sub>-adrenérgico, agentes antiinfecciosos, tales como antibióticos o antivirales, o antihistamínicos. Por tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable junto con uno o más agentes terapéuticamente activos distintos seleccionados de, por ejemplo, un agente antiinflamatorio, tal como un corticosteroide o un AINE, un agente anticolinérgico, un agonista del receptor β<sub>2</sub>-adrenérgico, un agente antiinfeccioso, tales como un antibiótico o un antiviral, o un antihistamínico. Una  
55  
60

forma de realización de la invención abarca combinaciones que comprende un compuesto de fórmula (I) o su sal farmacéuticamente aceptable junto con un agonista del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico y/o un agente anticolinérgico y/o un inhibidor de la PDE-4 y/o un antihistamínico.

5 Una forma de realización de la invención abarca combinaciones que comprenden uno o dos agentes terapéuticos distintos.

Para un experto en la técnica, quedará claro, cuando sea adecuado, que los otros ingredientes terapéuticos se pueden usar en forma de sales, por ejemplo en forma de sales de metal alcalino o amina o en forma de sales de adición de ácido, o profármacos, o como ésteres, por ejemplo ésteres de alquilo inferior, o como solvatos, por ejemplo hidratos para optimizar la actividad y/o la estabilidad y/o las características físicas, tales como la solubilidad, del ingrediente terapéutico. También quedará claro que, cuando sea adecuado, los ingredientes terapéuticos se pueden usar en forma ópticamente pura.

La invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un agonista del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico.

15 Ejemplos de agonistas del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico incluyen salmeterol (que puede ser un racemato o un enantiómero sencillo, tal como el enantiómero *R*), salbutamol (que puede ser un racemato o un enantiómero sencillo, tal como el enantiómero *R*), formoterol (que puede ser un racemato o un diastereómero sencillo, tal como el diaestereómero *R,R*), salmefamol, fenoterol, carmoterol, etanterol, naminterol, clenbuterol, pirbuterol, flerbuterol, reproterol, bambuterol, indacaterol, terbutalina y sus sales, por ejemplo la sal xinafoato (1-hidroxi-2-naftalenocarboxilato) de salmeterol, la sal sulfato o la base libre de salbutamol o la sal de fumarato de formoterol. En una forma de realización, los agonistas del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico son agonistas del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico de acción prolongada, por ejemplo compuestos que proporcionan broncodilatación eficaz durante aproximadamente 12 horas o más. Un ejemplo adicional de un agonista del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico es el compuesto trifenilacetato de 4- $\{(1R)-2-[(6-\{2-[(2,6-diclorofenil)metiloxi]etoxi\}hexil)amino]-1-hidroxietyl)-2-(hidroxietil)fenol$  (trifenilacetato de vilanterol).

25 Otros agonistas del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico incluyen los divulgados en los documentos WO 02/066422, WO 02/070490, WO 02/076933, WO 03/024439, WO 03/072539, WO 03/091204, WO 04/016578, WO 2004/022547, WO 2004/037807, WO 2004/037773, WO 2004/037768, WO 2004/039762, WO 2004/039766, WO01/42193 y WO03/042160.

Ejemplos de agonistas del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico incluyen:

30 3-(4- $\{[6-\{(2R)-2-hidroxi-2-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)fenil]etil\}amino]hexil\}oxi$  butil) bencenosulfonamida;  
 3-(3- $\{[7-\{(2R)-2-hidroxi-2-[4-hidroxi-3-(hidroximetil)fenil]etil\}amino]heptil\}oxi$  propil) bencenosulfonamida;  
 4- $\{(1R)-2-[(6-\{2-[(2,6-diclorobencil)oxi]etoxi\}hexil)amino]-1-hidroxietyl)-2-(hidroximetil)fenol$ ;  
 4- $\{(1R)-2-[(6-\{4-[3-(ciclopentilsulfonil)fenil]butoxi\}hexil)amino]-1-hidroxietyl)-2-(hidroximetil)fenol$ ;  
 N-[2-hidroxil-5- $\{(1R)-1-hidroxi-2-[[2-4-[(2R)-2-hidroxi-2-feniletill]amino]fenil]etil]amino]etil]fenil]formamida$ ;  
 35 N-[2-[4-(3-fenil-4-metoxifenil)aminofenil]etil]-2-hidroxi-2-(8-hidroxi-2(1*H*)-quinolinon-5-il)etilamina;  
 y  
 5- $\{(R)-2-(2-[4-[4-(2-amino-2-metil-propoxi)-fenilamino]-fenil]-etilamino)-1-hidroxi-etyl)-8-hidroxi-1H-quinolin-2-ona$ .

El agonista del receptor  $\beta_2$ -adrenérgico puede estar en forma de una sal formada con un ácido farmacéuticamente aceptable seleccionado de ácido sulfúrico, ácido clorhídrico, ácido fumárico, ácido hidroxinaftoico (por ejemplo, ácido 1- o 3-hidroxi-2-naftoico), ácido cinámico, ácido cinámico sustituido, ácido trifenilacético, ácido sulfámico, ácido sulfanílico, ácido naftalenoacrílico, ácido benzoico, ácido 4-metoxibenzoico, ácido 2- o 4-hidroxibenzoico, ácido 4-clorobenzoico y ácido 4-fenilbenzoico.

La invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un corticosteroide.

45 Entre los agentes antiinflamatorios adecuados se incluyen corticosteroides. Ejemplos de corticosteroides son los corticosteroides orales e inhalados y sus profármacos que tienen actividad antiinflamatoria. Ejemplos incluyen metilprednisolona, prednisolona, dexametasona, propionato de fluticasona, éster de S-fluorometilo de ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-11 $\beta$ -hidroxi-16 $\beta$ -metil-17 $\beta$ - $\{[4-metil-1,3-tiazol-5-carbonil]oxi\}$ -3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 $\beta$ -carbotoico, éster de S-fluorometilo de ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-17 $\alpha$ - $\{[2-furanilcarbonil]oxi\}$ -11 $\beta$ -hidroxi-16 $\alpha$ -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 $\beta$ -carbotoico (furoato de fluticasona), éster de S-2-oxo-tetrahydro-furan-3*S*-il) de ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-11 $\beta$ -hidroxi-16 $\alpha$ -metil-3-oxo-17 $\alpha$ -propioniloxi- androsta-1,4-dieno-17 $\alpha$ -carbotoico, éster de S-cianometilo de ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-11 $\beta$ -hidroxi-16 $\alpha$ -metil-3-oxo-17 $\alpha$ - $\{2,2,3,3-tetrametilciclopropilcarbonil\}oxi$ -androsta-1,4-dieno-17 $\beta$ -carbotoico y éster

de S-fluorometilo de ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-11 $\beta$ -hidroxi-16 $\alpha$ -metil-17 $\alpha$ -(1-meticiclopropilcarbonil)oxi-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 $\beta$ -carbotoico, ésteres de beclometasona (por ejemplo, el éster 17-propionato o el éster 17,21-dipropionato), budesonida, flunisolida, ésteres de mometasona (por ejemplo, furoato de mometasona), triamcinolona acetónido, rofleponida, ciclesonida (16 $\alpha$ ,17-[[*R*]-ciclohexilmetileno]bis(oxi)]-11 $\beta$ ,21-dihidroxi-pregna-1,4-dieno-3,20-diona), propionato de butixocort, RPR-106541 y ST-126. Entre los corticosteroides preferidos se incluyen propionato de fluticasona, éster de S-fluorometilo de ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-11 $\beta$ -hidroxi-16 $\alpha$ -metil-17 $\alpha$ -[(4-metil-1,3-tiazol-5-carbonil)oxi]-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 $\beta$ -carbotoico, éster de S-fluorometilo de ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-17 $\alpha$ -[(2-furanilcarbonil)oxi]-11 $\beta$ -hidroxi-16 $\alpha$ -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 $\beta$ -carbotoico, éster de S-cianometilo de ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-11 $\beta$ -hidroxi-16 $\alpha$ -metil-3-oxo-17 $\alpha$ -(2,2,3,3-tetrameticiclopropilcarbonil)oxi-androsta-1,4-dieno-17 $\beta$ -carbotoico y éster de S-fluorometilo de ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-11 $\beta$ -hidroxi-16 $\alpha$ -metil-17 $\alpha$ -(1-meticiclopropilcarbonil)oxi-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 $\beta$ -carbotoico. En una forma de realización, el corticosteroide es éster de S-fluorometilo de ácido 6 $\alpha$ ,9 $\alpha$ -difluoro-17 $\alpha$ -[(2-furanilcarbonil)oxi]-11 $\beta$ -hidroxi-16 $\alpha$ -metil-3-oxo-androsta-1,4-dieno-17 $\beta$ -carbotoico.

Otros ejemplos de corticosteroides pueden incluir los divulgados en los documentos WO02/088167, WO02/100879, WO02/12265, WO02/12266, WO05/005451, WO05/005452, WO06/072599 y WO06/072600.

Los compuestos no esteroideos que tiene agonismo por glucocorticoides que pueden poseer selectividad por la transrepresión sobre la transactivación y que pueden ser útiles en la terapia de combinación incluyen los divulgados en las siguientes patentes y solicitudes de patentes publicadas: WO03/082827, WO98/54159, WO04/005229, WO04/009017, WO04/018429, WO03/104195, WO03/082787, WO03/082280, WO03/059899, WO03/101932, WO02/02565, WO01/16128, WO00/66590, WO03/086294, WO04/026248, WO03/061651, WO03/08277, WO06/000401, WO06/000398, WO06/015870, WO06/108699, WO07/000334 y WO07/054294.

Ejemplos de agentes antiinflamatorios incluyen fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE).

Entre los ejemplos de los AINE se incluyen cromoglicato sódico, nedocromil sódico, inhibidores de fosfodiesterasa (PDE) (por ejemplo, teofilina, inhibidores de la PDE4 o inhibidores mixtos de PDE3/PDE4), antagonistas de leucotrieno, inhibidores de la síntesis de los leucotrienos (por ejemplo, montelukast), inhibidores de la iNOS, inhibidores de la triptasa y la elastasa, antagonistas de la beta-2 integrina y agonistas o antagonistas del receptor de adenosina (p.ej. agonistas del receptor de adenosina 2a), antagonistas de citoquinas (por ejemplo, antagonistas de quimioquina, tales como un antagonista de CCR3) o inhibidores de la síntesis de citoquinas o inhibidores de la 5-lipoxigenasa. Preferentemente, un iNOS (inhibidor del óxido nítrico sintasa inducible) es para la administración oral. Ejemplos de inhibidores de la iNOS incluyen los desvelados en los documentos WO93/13055, WO98/30537, WO02/50021, WO95/34534 y WO99/62875. Ejemplos de inhibidores de CCR3 incluyen los desvelados en el documento WO02/26722.

Por tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un inhibidor de la PDE4.

En una forma de realización, la invención proporciona el uso de los compuestos de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable en combinación con un inhibidor de la fosfodiesterasa 4 (PDE4), especialmente en el caso de una formulación adaptada para inhalación. El inhibidor específico de la PDE4 útil en este aspecto de la invención puede ser cualquier compuesto que se sabe que inhibe la enzima PDE4 o que se ha descubierto que actúa como inhibidor de la PDE4 y que sean sólo inhibidores de la PDE4, no compuestos que inhiben otros miembros de la familia de las PDE, tales como la PDE3 y la PDE5, así como la PDE4. Los compuestos incluyen ácido *cis*-4-ciano-4-(3-ciclopentiloxi-4-metoxifenil)ciclohexan-1-carboxílico, 2-carbometoxi-4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxifenil)ciclohexan-1-ona y *cis*-[4-ciano-4-(3-ciclopropilmetoxi-4-difluorometoxifenil)ciclohexan-1-ol]. Asimismo, el ácido *cis*-4-ciano-4-[3-(ciclopentiloxi)-4-metoxifenil]ciclohexano-1-carboxílico (también conocido como cilomilast) y sus sales, ésteres, profármacos o formas físicas, que se describe en la patente de EE.UU. 5.552.438 emitida el 3 de septiembre de 1996.

Otros compuestos incluyen AWD-12-281 de Elbion (Hofgen, N. y col. 15° EFMC Int Symp Med Chem (6-10 de septiembre, Edimburgo) 1998, Resumen P.98; referencia CAS N° 247584020-9); un derivado de 9-benciladenina designado NCS-613 (INSERM); D-4418 de Chiroscience y Schering-Plough; un inhibidor benzodiazepina de la PDE4 identificado como CI-1018 (PD-168787) y atribuido a Pfizer; un derivado de benzodioxol desvelado por Kyowa Hakko en el documento WO99/16766; K-34 de Kyowa Hakko; V-11294A de Napp (Landells, L.J. y col. Eur Resp J [Annu Cong Eur Resp Soc (19-23 de septiembre, Ginebra) 1998] 1998, 12 (Supl. 28): Resumen P2393); roflumilast (referencia CAS n° 162401-32-3) y una ftalazinona (documento WO99/47505, cuya divulgación se incorpora en la presente memoria por referencia) de Byk-Gulden; Pumafentrina, (-)-p-[(4aR\*,10bS\*)-9-etoxi-1,2,3,4,4a,10b-hexahidro-8-metoxi-2-metilbenzo[c][1,6]naftiridin-6-il]-N,N-disopropilbenzamida, que es un inhibidor mixto de PDE3/PDE4, que ha sido preparado y publicado por Byk-Gulden, ahora Altana; arofilina, en desarrollo por Almirall-Prodesfarma; VM554/UM565 de Vernalis; o T-440 (Tanabe Seiyaku; Fuji, K. y col. J Pharmacol Exp Ther, 1998, 284(1): 162), y T2585.

Otros compuestos se divulgan en la solicitud de patente internacional publicada WO04/024728 (Glaxo Group Ltd), WO04/056823 (Glaxo Group Ltd) y WO04/103998 (Glaxo Group Ltd).

La invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un anticolinérgico.

Ejemplos de agentes anticolinérgicos son los compuestos que actúan como antagonistas en los receptores muscarínicos, en particular los compuestos que son antagonistas de los receptores M<sub>1</sub> o M<sub>3</sub>, antagonistas duales de los receptores M<sub>1</sub>/M<sub>3</sub> o M<sub>2</sub>/M<sub>3</sub> o pan-antagonistas de los receptores M<sub>1</sub>/M<sub>2</sub>/M<sub>3</sub>. Ejemplos de compuestos para la administración mediante inhalación incluyen ipratropio (por ejemplo, como el bromuro, CAS 22254-24-6, comercializado con el nombre Atrovent), oxitropio (por ejemplo, como el bromuro, CAS 30286-75-0) y tiotropio (por ejemplo, como el bromuro, CAS 136310-93-5, comercializado con el nombre Spiriva). También de interés son revatropato (por ejemplo, como el bromhidrato, CAS 262586-79-8) y LAS-34273 que se desvela en el documento WO01/04118. Ejemplos de compuestos para administración oral incluyen pirenzepina (CAS 28797-61-7), darifenacina (CAS 133099-04-4 o CAS 133099-07-7 para el bromhidrato, comercializado con el nombre Enablex), oxibutinina (CAS 5633-20-5, comercializado con el nombre Ditropan), terodilina (CAS 15793-40-5), tolterodina (CAS 124937-51-5 o CAS 124937-52-6 para el tartrato, comercializado con el nombre Detrol), otilonio (por ejemplo, como el bromuro, CAS 26095-59-0, comercializado con el nombre Spasmomen), cloruro de tropio (CAS 10405-02-4) y solifenacina (CAS 242478-37-1 o CAS 242478-38-2 para el succinato también conocido como YM-905 y comercializado con el nombre Vesicare).

Otros agentes anticolinérgicos incluyen compuestos que se desvelan en la solicitud de patente de EE.UU. 60/487981, incluidos, por ejemplo:

- Bromuro de (3-*endo*)-3-(2,2-di-2-tienileténil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
- Bromuro de (3-*endo*)-3-(2,2-difenileténil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
- 4-metilbencenosulfonato de (3-*endo*)-3-(2,2-difenileténil)-8,8-dimetil-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano;
- Bromuro de (3-*endo*)-8,8-dimetil-3-[2-fenil-2-(2-tienil)etenil]-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano; y/o
- Bromuro de (3-*endo*)-8,8-dimetil-3-[2-fenil-2-(2-piridinil)etenil]-8-azoniabicyclo[3.2.1]octano.

Otros agentes anticolinérgicos incluyen compuestos que se desvelan en la solicitud de patente de EE.UU. 60/511009, incluidos, por ejemplo:

- Yoduro de (*endo*)-3-(2-metoxi-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]octano;
- 3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propionitrilo;
- (*Endo*)-8-metil-3-(2,2,2-trifenil-etil)-8-aza-bicyclo[3.2.1]octano;
- 3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propionamida;
- Ácido 3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propiónico;
- Yoduro de (*endo*)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]octano;
- Bromuro de (*endo*)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]octano;
- 3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propan-1-ol;
- N-bencil-3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propionamida;
- Yoduro de (*endo*)-3-(2-carbamoil-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]octano;
- 1-bencil-3-[3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]urea;
- 1-etil-3-[3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]urea;
- N-[3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]acetamida;
- N-[3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]benzamida;
- 3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-di-tiofen-2-il-propionitrilo;
- Yoduro de (*endo*)-3-(2-ciano-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-bicyclo[3.2.1]octano;
- N-[3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]bencenosulfonamida;
- [3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]urea;
- N-[3-(((*endo*)-8-metil-8-aza-bicyclo[3.2.1]oct-3-il)-2,2-difenil-propil]metanosulfonamida;

y/o

Bromuro de (*endo*)-3-(2,2-difenil-3-[(1-fenil-metanoil)-amino]-propil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano.

Otros compuestos incluyen:

Yoduro de (*endo*)-3-(2-metoxi-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

5 Yoduro de (*endo*)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

Bromuro de (*endo*)-3-(2-ciano-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

Yoduro de (*endo*)-3-(2-carbamoil-2,2-difenil-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

Yoduro de (*endo*)-3-(2-ciano-2,2-di-tiofen-2-il-etil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano;

y/o

10 Bromuro de (*endo*)-3-(2,2-difenil-3-[(1-fenil-metanoil)-amino]-propil)-8,8-dimetil-8-azonia-biciclo[3.2.1]octano.

Por tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, junto con un antihistamínico.

En una forma de realización, la invención proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un antagonista H1. Ejemplos de antagonistas H1  
15 incluyen sin limitaciones, amexanox, astemizol, azatadina, azelastina, acrivastina, bromfeniramina, cetirizina, levocetirizina, efletirizina, clorfeniramina, clemastina, ciclizina, carebastina, ciproheptadina, carbinoxamina, descarboetoxiloratadina, doxilamina, dimetindeno, ebastina, epinastina, efletirizina, fexofenadina, hidroxicina, ketotifen, loratadina, levocabastina, mizolastina, mequitazina, mianserina, noberastina, meclizina, norastemizol, olopatadina, picumast, pirilamina, prometazina, terfenadina, tripeleennamina, temelastina, trimeprazina y triprolidina,  
20 particularmente cetirizina, levocetirizina, efletirizina y fexofenadina. En otra forma de realización, la invención proporciona una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un antagonista H3 (y/o un agonista inverso). Ejemplos de antagonistas H3 incluyen, por ejemplo, los compuestos desvelados en el documento WO2004/035556 y en el documento WO2006/045416. Otros antagonistas de los receptores de histamina que pueden usarse en combinación con los compuestos de fórmula (I) o  
25 una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos incluyen antagonistas (y/o agonistas inversos) del receptor H4, por ejemplo, los compuestos desvelados en Jablonowski y *col.*, *J. Med. Chem.* 46:3957-3960 (2003).

Por tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o un profármaco del mismo o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo con otro inhibidor de los canales de calcio activado por la liberación de calcio.

30 Los compuestos individuales de dichas combinaciones pueden administrarse secuencialmente o simultáneamente en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas. En una forma de realización, los compuestos se administrarán de forma simultánea en una composición farmacéutica combinada. Los expertos en la técnica apreciarán las dosis adecuadas de agentes terapéuticos conocidos.

Las combinaciones a las que se hace referencia en lo que antecede pueden presentarse de forma conveniente para  
35 usar en forma de una composición farmacéutica y, por tanto, composiciones farmacéuticas, que comprende una combinación tal como se ha definido en lo que antecede junto con uno o más diluyentes, vehículos y/o excipientes farmacéuticamente aceptables representan un aspecto adicional de la invención.

Los compuestos individuales de dichas combinaciones se pueden administrar secuencialmente en composiciones farmacéuticas separadas, así como simultáneamente en composiciones farmacéuticas combinadas. Ingredientes  
40 terapéuticamente activos adicionales se pueden suspender en la composición junto con un compuesto de fórmula (I). Los expertos en la técnica apreciarán las dosis adecuadas de agentes terapéuticos conocidos.

Los compuestos de la invención se pueden preparar mediante los procedimientos descritos a continuación o mediante procedimientos similares. Por tanto, los intermedios y ejemplos siguientes sirven para ilustrar la  
45 preparación de los compuestos de la invención y no deben considerarse como limitantes del alcance de la invención de ninguna manera.

## Ejemplos

### General

La HPLC autopreparativa dirigida por masas se realizó en las condiciones que se indican a continuación. La  
50 detección UV fue una señal promedio de la longitud de onda de 210 nm a 350 nm y los espectros de masas se registraron en un espectrómetro de masas usando ionización por electropulverización de barrido alterno en modo

positivo y negativo.

Procedimiento E:

El procedimiento E se realizó en una columna XBridge C<sub>18</sub> (normalmente 150 mm x 19 mm i.d. 5 µm de diámetro de empaquetado) a temperatura ambiente. Los disolventes empleados fueron:

5 A= Bicarbonato amónico 10 mM ajustado hasta pH 10 con solución de amoniacó.

B = acetonitrilo.

Detalles experimentales

Los detalles experimentales de los sistemas CL-EM como se hace referencia en el presente documento son los siguientes:

10 Sistema 3

Columna: 50 mm x 2,1 mm ID, 1,7 µm Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub>

Caudal: 1 ml/min.

Temp: 40 °C

Intervalo de detección UV: 210 a 350 nm

15 Espectro de masas: Registrado en un espectrómetro de masas usando ionización por electropulverización en modo positivo y negativo de barrido alternativo.

Disolventes: A: 0,1% v/v de ácido fórmico en agua

B: 0,1% v/v de ácido fórmico en acetonitrilo

Gradiente:	<u>Tiempo (min)</u>	<u>A %</u>	<u>B %</u>
	0	97	3
	1,5	0	100
	1,9	0	100
	2,0	97	3

Sistema 7

Columna: 50 mm x 2,1 mm ID, 1,7 µm Acquity UPLC BEH C<sub>18</sub>

20 Caudal: 1 ml/min.

Temp: 40 °C

Intervalo de detección UV: 220 a 350 nm

Espectro de masas: Registrado en un espectrómetro de masas usando ionización por electropulverización en modo positivo y negativo de barrido alternativo.

Disolventes: A: Bicarbonato amónico 10 mM en agua ajustado hasta pH 10 con solución de amoniacó

B: Acetonitrilo

Gradiente:	<u>Tiempo (min)</u>	<u>A %</u>	<u>B %</u>
	0	99	1
	1,5	3	97
	1,9	3	97
	2,0	0	100

Abreviaturas:

La siguiente lista proporciona definiciones de determinadas abreviaturas como se usa en el presente documento. Se apreciará que la lista no es exhaustiva, pero el significado de dichas abreviaturas no definidas a continuación en el presente documento será fácilmente evidentes para los expertos en la técnica.

- 5 Ac (acetilo);  
 Bu (butilo);  
 nBu (n-butilo);  
*terc*-Bu (*t*-butilo);
- 10 DCM (diclorometano);  
 DIPEA (*N,N*-diisopropiletilamina);  
 DMF (*N,N*-dimetilformamida);  
 DMSO (dimetilsulfóxido);  
 Et (etilo);
- 15 EtOAc (acetato de etilo);  
 g (gramos);  
 h (horas)  
 HATU = (hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio)  
 HCl (ácido clorhídrico)
- 20 Hz (Hertzios);  
 l (litros);  
 CLEM (cromatografía de líquidos con espectrometría de masas)  
 LDA (diisopropilamida de litio);  
 M (molar);
- 25 MDAP (HPLC autopreparativa dirigida por masas);  
 Me (metilo);  
 MeOH (metanol);  
 mg (miligramos);  
 MHz (megahertzios);
- 30 min (minutos);  
 ml (mililitros);  
 µl (microlitros);

mM (milimolar);

mmol (milimol);

mol (moles);

NBS (N-bromosuccinimida)

5 PFA (perfluoroalcoxi)

Ph (fenilo);

<sup>i</sup>Pr (isopropilo);

Fr (factor de retención)

Si (sílice)

10 SPE (extracción en fase sólida);

TBTU (Tetrafluoroborato de O-benzotriazol-1-il-*N,N,N',N'*-tetrametiluronio);

TEA (triethylamina);

TFA (ácido trifluoroacético);

THF (tetrahidrofurano);

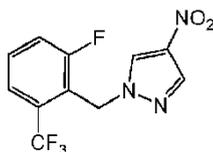
15 TLC (cromatografía en capa fina);

TMS (trimetilsililo);

Todas las referencias a éter son a éter dietílico y salmuera se refiere a una solución acuosa saturada de NaCl.

Los nombres de los Ejemplos e Intermedios siguientes se han obtenido usando el programa de denominación de compuestos "ACD Name Pro 6.02".

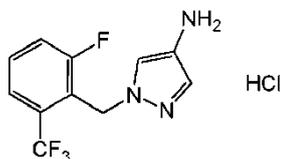
20 **Intermedio 1: 1-[[2-fluoro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-4-nitro-1*H*-pirazol**



25 4-nitropirazol (Aldrich, 4,974 g, 44,0 mmol) se disolvió en DMF (100 ml) y se añadió carbonato de potasio (9,12 g, 66,0 mmol). La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente en nitrógeno durante aproximadamente 5 minutos. Después se añadió 2-(bromometil)-1-fluoro-3-(trifluorometil)benzoceno (Aldrich; 11,31 g, 44,0 mmol) en DMF (25 ml) durante un periodo de aproximadamente 5 minutos y la reacción se dejó agitar durante la noche.

30 La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (500 ml) y agua (500 ml). La capa orgánica se lavó con agua (2 x 250 ml) y se secó sobre sulfato sódico. Después el disolvente se evaporó al vacío, dando *el compuesto del título* (12,52 g) como un aceite; CLEM (Sistema 3):  $MNH_4^+$  = 307,  $t_{RET}$  = 1,06 min.

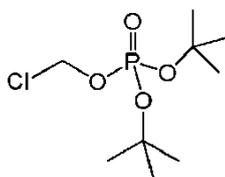
**Intermedio 2: Clorhidrato de 1-[[2-fluoro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-1*H*-pirazol-4-amina**



1-{[2-Fluoro-6-(trifluorometil)fenil]metil}-4-nitro-1*H*-pirazol (para una preparación, véase el intermedio 1; 12,52 g, 43,3 mmol) se disolvió en etanol (300 ml) y se añadió a paladio sobre carbono (Aldrich, 10 % de Degussa húmeda de tipo E101 NE/W; 1,25 g). El vaso se purgó con nitrógeno y después se cargó con hidrógeno y se dejó agitar durante la noche.

- 5 Tras 17 horas de agitación a temperatura ambiente en atmósfera de hidrógeno, el vaso se cargó de nuevo con hidrógeno y se continuó agitando durante 3,5 horas pero no se captó más hidrógeno mediante la reacción. Después, la reacción se purgó con nitrógeno y se eliminó el catalizador mediante filtración a través de una almohadilla de celite. Después, el disolvente se eliminó mediante vacío para dar un producto bruto (11,76 g). El producto bruto se disolvió en éter dietílico (450 ml) y se añadió ácido clorhídrico 1,0 M en éter dietílico (50 ml). La suspensión resultante se agitó enérgicamente durante 5 minutos, después el precipitado se recolectó mediante filtración y se lavó con éter (3 x 50 ml). El producto se secó al vacío a 60 °C durante la noche, dando *el compuesto del título* (12,14 g) como un sólido blanquecino; CLEM (Sistema 3):  $MH^+$  = 260,  $t_{RET}$  = 0,56 min.

### Intermedio 3: Bis(1,1-dimetiletil)fosfato de clorometilo

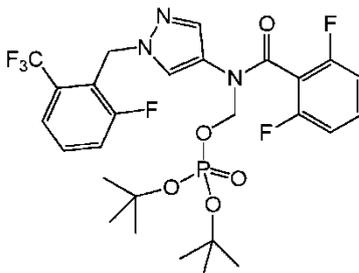


- 15 El bicarbonato potásico (Sigma; 1,55 g, 15,48 mmol) y el permanganato potásico (VWR; 2,85 g, 18,03 mmol) se disolvieron en agua (120 ml). La solución se agitó enérgicamente a temperatura ambiente durante aproximadamente 15 minutos, para garantizar que todos los reactivos se han disuelto. La mezcla de reacción se recogió después hasta 20 0 °C (temperatura interna) y se añadió fosfito de di-*tert*-butilo (Alfa Aesar; 4,8 g, 24,72 mmol) en porciones de aproximadamente 1 g cada 10 minutos. Durante la adición, la temperatura se mantuvo entre -1 y +3 °C. Una vez completada la adición, la reacción se dejó calentar lentamente de nuevo hasta la temperatura ambiente.

- 25 Después de agitar durante la noche, la solución marrón espesa se filtró a través de una almohadilla de celite (10 g) y se lavó con agua (25 ml). Después, la solución rosa se concentró al vacío hasta aproximadamente 65 ml. La solución se filtró de nuevo y se lavó con agua (10 ml).

- A la solución acuosa de color rosa claro se añadieron bicarbonato potásico (Sigma; 12,38 g, 124 mmol) e hidrogenosulfato de tetrabutilamonio (Fluka; 0,840 g, 2,47 mmol) y la mezcla se agitó durante aproximadamente 5 minutos a temperatura ambiente para garantizar que todos los reactivos se hubieran disuelto. Después se añadió DCM (75 ml) y la reacción se dejó agitar durante aproximadamente una hora antes de enfriar hasta 5 °C. Después se añadió una solución de clorosulfato de clorometilo (Fluorochem; 5,10 g, 30,9 mmol) en DCM (50 ml) mediante una bomba de jeringa durante un periodo de 3 horas al tiempo que se mantenía la temperatura interna a 5 °C. Una vez completada la adición, la reacción se dejó calentar lentamente hasta la temperatura ambiente y se dejó agitar durante 68 horas. A continuación se separaron las fases y la fase orgánica inferior se lavó con agua (3 x 250 ml). La fase de DCM se pasó a través de una frita hidrofóbica y la solución madre del *compuesto del título* se transfirió a un refrigerador. Se determinó que la molaridad de la solución era 0,13 M y, por tanto, el rendimiento de *compuesto del título* fue 4,3 g.

### Intermedio 4: [[(2,6-Difluorofenil)carbonil](1-{[2-fluoro-6-(trifluorometil)fenil]metil}-1*H*-pirazol-4-il)amino]metilbis(1,1-dimetiletil)fosfato



- 40

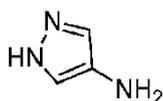
2,6-Difluoro-*N*-(1-[[2-fluoro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-1*H*-pirazol-4-il)benzamida (para una preparación véase el ejemplo 1; 110 mg, 0,275 mmol) e hidróxido potásico (21,6 mg, 0,386 mmol, 1,4 eq.) se pesaron en un vial y después se añadió una solución de bis(1,1-dimetiletil)fosfato de clorometilo (para una preparación véase el intermedio 3; 57 mg, 0,220 mmol, 0,8 eq.) en DMF (1 ml). (Obsérvese que la solución madre en DCM del intermedio 3 se evaporó cuidadosamente (sin calentar) inmediatamente antes de usar en esta etapa: 1,6 ml proporcionaron 57 mg). El vial se selló y la solución se agitó enérgicamente a temperatura ambiente.

Tras 6 horas 30 minutos se añadieron cantidades adicionales de hidróxido potásico (3,1 mg, 0,055 mmol, 0,2 eq.) y bis(1,1-dimetiletil)fosfato de clorometilo (57 mg, 0,220 mmol, 0,8 eq.) y la reacción se dejó agitar durante la noche a temperatura ambiente.

Tras aproximadamente 22 horas, la mezcla de reacción se filtró a través de un tapón de lana de algodón y se diluyó con 1:1 de DMSO:MeOH hasta un volumen total de 2 ml. Después, la muestra se purificó (2 inyecciones de 1 ml) mediante MDAP (Procedimiento E) en una columna Xbridge usando acetonitrilo-agua con un modificador de carbonato amónico.

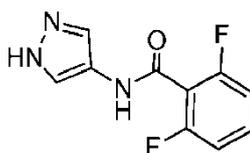
Las fracciones que contenían el producto se combinaron y repartieron entre éter de *tert*-butilmetilo (TBME) (50 ml) y agua (100 ml) y la capa de agua se extrajo de nuevo con TBME (50 ml). Los extractos de TBME combinados se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y se evaporaron, dando el *producto del título* (90,4 mg) como un aceite; CLEM (Sistema 3): MH<sup>+</sup> = 622, t<sub>RET</sub> = 1,26 min.

#### Intermedio 5: 1*H*-pirazol-4-amina



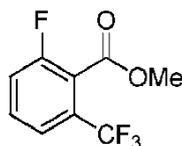
El 4-nitro-1*H*-pirazol (Manchester organics; 1,13 g, 9,99 mmol) se disolvió en etanol (50 ml). Esta solución se añadió cuidadosamente hasta 10 % de paladio sobre carbono (Aldrich; 102 mg) en una atmósfera de nitrógeno. La atmósfera se intercambió con hidrógeno y la mezcla se agitó enérgicamente a temperatura ambiente en una atmósfera de hidrógeno. Tras 45 minutos se habían suspendido aproximadamente 700 ml de hidrógeno y se suspendió más hidrógeno en los siguientes 30 minutos. La agitación se detuvo y la atmósfera se intercambió con nitrógeno. La solución se filtró a través de celite (cartucho de 10 g) y se lavó con más etanol (150 ml). Las fracciones relevantes (verificadas mediante TLC) se combinaron y se concentraron al vacío, dando un aceite rojo. La trituración con DCM dio el compuesto del título (815 mg) como un sólido rojo; RMN de <sup>1</sup>H (MeOH-d<sub>4</sub>, 400 MHz) δ (ppm) 7,20 (2 H, s).

#### Intermedio 6: 2,6-difluoro-*N*-1*H*-pirazol-4-ilbenzamida



1*H*-Pirazol-4-amina (para una preparación véase el intermedio 5; 0,54 g, 6,5 mmol) se disolvió en acetonitrilo (25 ml) con trietilamina (1,81 ml, 13,0 mmol), dando una suspensión rojo-morada que se enfrió en un baño de hielo-agua. A la suspensión se añadió una solución de cloruro de 2,6-difluorobenzilo (Aldrich; 0,817 ml, 6,5 mmol) en acetonitrilo (25 ml), gota a gota en 15 minutos. La mezcla se agitó en nitrógeno frío. La reacción se agitó y se dejó calendar lentamente hasta la temperatura ambiente durante 2 horas, después a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla de reacción se repartió entre EtOAc y agua (~100 ml cada uno). La fase acuosa se extrajo con EtOAc adicional (2 x 50 ml). Los extractos combinados se secaron (MgSO<sub>4</sub>) y se concentraron al vacío. El residuo (1,41 g) se purificó en sílice (50 g) usando 0-100 % de EtOAc-ciclohexano, después 0-20 % de metanol-EtOAc. Las fracciones relevantes se concentraron al vacío, dando un producto algo puro (0,925 g) y un material algo menos puro (0,50 g). El último material se volvió a purificar en sílice (20 g) usando EtOAc, dando más producto puro (0,366 g). Los dos lotes de producto puro se combinaron, dando el *compuesto del título* (1,28 g) como un sólido de color crema pálido; CLEM (Sistema 1): MH<sup>+</sup> = 224, t<sub>RET</sub> = 2,08 min.

#### Intermedio 7: 2-fluoro-6-(trifluorometil) benzoato de metilo



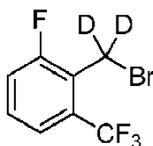
5 El cloruro de 2-fluoro-6-(trifluorometil)benzoílo (Sigma-Aldrich; 950 mg, 4,19 mmol) se añadió, gota a gota, al metanol seco (5 ml) en nitrógeno. Tras 18 horas, la CLEM indicó que no quedaba material de partida. La reacción se repartió entre DCM (50 ml) y bicarbonato sódico acuoso saturado. La capa acuosa se extrajo con más DCM y los extractos de DCM combinados se secaron (sulfato sódico) y se evaporaron, dando el *producto del título* como un líquido incoloro (786 mg). Este material se usó en la siguiente etapa sin más purificación. CLEM (Sistema 3):  $t_{RET} = 1,05$  min.

10 **Intermedio 8: (2-Fluoro-6-(trifluorometil)fenil)-d<sub>2</sub>-metanol**



15 El deuteruro de litio-aluminio (solución 1M en THF, 7,37 ml, 7,37 mmol) se transfirió a un RBF en nitrógeno. Después, gota a gota se añadió una solución de 2-fluoro-6-(trifluorometil)benzoato de metilo (para una preparación, véase el intermedio 7; 780 mg, 3,51 mmol) en tetrahidrofurano (% ml) durante un periodo de aproximadamente 10 minutos. Tras 1 hora, la reacción se enfrió en un baño de hielo y gota a gota se añadió sulfato sódico acuoso saturado hasta que hubo cesado la evolución de gas. Se añadió más solución de sulfato sódico (□25 ml total) y la reacción se dejó agitar a temperatura ambiente durante 10 minutos. Después, la mezcla de reacción se extrajo con TBME (2 x 50 ml), se secó sobre sulfato sódico y se evaporó, dando un producto bruto. La muestra se cargo en ciclohexano y se purificó en sílice (50 g) usando un gradiente de 0-50 % de acetato de etilo-ciclohexano durante 40 minutos. Las fracciones adecuadas se combinaron y se evaporaron *al vacío* para dar el *producto del título* (197 mg) en forma de un aceite incoloro. CLEM (Sistema 3):  $t_{RET} = 0,79$  min.

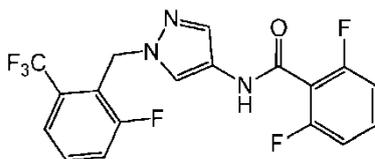
25 **Intermedio 9: 2-(Bromo-d<sub>2</sub>-metil)-1-fluoro-3-(trifluorometil)benceno**



30 (2-Fluoro-6-(trifluorometil)fenil)-d<sub>2</sub>-metanol (para una preparación véase el intermedio 8; 192 mg, 0,979 mmol) se disolvió en diclorometano (2 ml). Se añadió tribromuro de fósforo (115 µl, 1,219 mmol) en una porción y la reacción se agitó a temperatura ambiente. Tras aproximadamente 75 minutos, la reacción casi había finalizado según la CLEM. La reacción se inactivó con agua (1 ml), seguida de bicarbonato sódico acuoso saturado hasta que el pH de la fase acuosa fue >8. La mezcla de reacción se diluyó con más DCM y se separaron el agua y las capas. La capa acuosa se extrajo con más DCM y los extractos combinados se secaron (sulfato sódica) y se evaporó, dando el *producto del título* (79 mg), que se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional. CLEM (Sistema 3):  $t_{RET} = 1,20$  min.

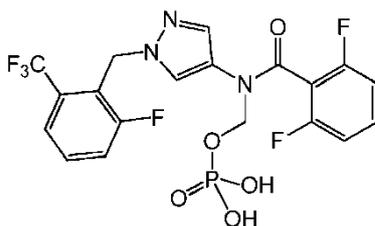
35

**Ejemplo 1: 2,6-Difluoro-N-(1-{[2-fluoro-6-(trifluorometil)fenil]metil}-1H-pirazol-4-il)benzamida**



El clorhidrato de 1-[[2-Fluoro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-1H-pirazol-4-amina (para una preparación véase el intermedio 2; 12,14 g, 41,1 mmol) se suspendió en DCM (350 ml) y se agitó enérgicamente en nitrógeno. Se añadió DIPEA (17,9 ml, 103 mmol) y una vez disuelto todo el material se añadió cloruro de 2,6-difluorobenzoilo (5,16 ml, 41,1 mmol). Tras 1 hora, la solución de reacción se lavó con HCl acuoso 2M (200 ml), agua (200 ml) y, por último, una solución de bicarbonato sódico saturado (200 ml). La solución en DCM se secó después sobre sulfato sódico y se evaporó para dar un producto bruto. El producto se cargó en acetato de etilo y se purificó en sílice (750 g) usando un gradiente al 5-60 % de acetato de etilo-ciclohexano en 8 volúmenes de columna. Las fracciones adecuadas se combinaron y se evaporaron *al vacío* para dar un producto (15,07 g) como un sólido de color morado claro. Después, el producto se trituró con cloroformo y el producto blanco resultante se recolectó mediante filtración. El producto se lavó con éter dietílico y se secó al vacío a 60 °C. La solución de la etapa de trituración dio más cosechas del producto en reposo y estas también se lavaron con éter dietílico y se combinaron con la primera cosecha para dar el *compuesto del título* (12,34 g) como un sólido blanco; CLEM (Sistema 3):  $MH^+ = 400$ ,  $t_{RET} = 1,04$  min; RMN de  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 600 MHz):  $\delta$  (ppm) 10,83 (1 H, s), 8,03 (1 H, s), 7,67 - 7,72 (2 H, m), 7,62 - 7,67 (1 H, m), 7,57 (1 H, tt,  $J$  8,5, 6,5 Hz), 7,46 (1 H, s), 7,22 (2 H, t,  $J$  8,0 Hz), 5,48 (2 H, s).

**Ejemplo 2: [[(2,6-Difluorofenil)carbonil](1-[[2-fluoro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-1H-pirazol-4-il)amino]metilbis(1,1-dimetiletil)dihidrogenofosfato**



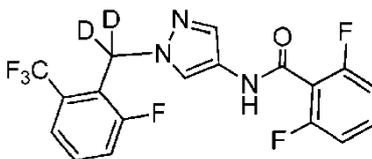
Se preparó una solución de tamponamiento de pH 5 añadiendo ácido acético 0,2 M (0,517 g, 8,61 mmol en 43,1 ml de agua) a acetato sódico 0,2 M (1,641 g, 20,0 mmol en 100 ml de agua).

Bis(1,1-dimetiletil)fosfato de [[(2,6-Difluorofenil)carbonil](1-[[2-fluoro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-1H-pirazol-4-il)amino]metilo (para una preparación véase el intermedio 4; 86,4 mg, 0,139 mmol) se disolvió en isopropanol (0,75 ml) y se añadió una solución de tamponamiento acuosa a pH 5 (0,75 ml). La mezcla se calentó hasta 50 °C durante 5 horas y después se incrementó la temperatura hasta 60 °C durante 4 horas adicionales.

La reacción se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente y la mitad de la solución (750  $\mu$ l) se ajustó hasta un pH 14 con hidróxido sódico acuoso 5 M (75  $\mu$ l). Después, la muestra se purificó mediante MDAP (Procedimiento E) en una columna Xbridge usando acetonitrilo-agua con un modificador de carbonato amónico. Las fracciones que contenían el producto se almacenó en un refrigerador durante la noche y después el disolvente se eliminó de las fracciones combinadas mediante liofilización, dando un producto (21,4 mg) como un sólido blanco; CLEM (Sistema 7):  $MH^+ = 510$ ,  $t_{RET} = 0,64$  min.

La mitad restante de la solución de la reacción se dejó reposar a temperatura ambiente durante la noche. Después se añadió hidróxido sódico acuoso 5M (100  $\mu$ l) para ajustar hasta un pH 14. Después, esta muestra se purificó mediante MDAP (Procedimiento E) en una columna Xbridge usando acetonitrilo-agua con un modificador de carbonato amónico. El disolvente se eliminó de las fracciones que contenían el producto combinado mediante liofilización, dando el producto del título (22,8 mg) como un sólido blanco, que se determinó que estaba en forma de una sal amónica y sódica mixta. CLEM (Sistema 7):  $MH^+ = 510$ ,  $t_{RET} = 0,64$  min; RMN de  $^1H$  (DMSO- $d_6$ , 600 MHz)  $\delta$  (ppm) 7,65 (s, 1 H), 7,52 - 7,58 (m, 2 H), 7,49 (s, 1 H), 7,36 - 7,41 (m, 1 H), 7,21 - 7,29 (m, 1 H), 6,77 (t,  $J$  8,3 Hz, 2 H), 5,40 (d,  $J$  7,9 Hz, 2 H), 5,35 (s, 2 H).

**Ejemplo 3: 2,6-Difluoro-N-(1-[[2-fluoro-6-(trifluorometil)- $d_2$ -bencil]-1H-pirazol-4-il)benzamida**



El 2,6-difluoro-*N*-(1*H*-pirazol-4-il)benzamida (para una preparación, véase el intermedio 6;82 mg, 0,366 mmol) y el carbonato potásico (63,2 mg, 0,457 mmol) se pesaron en un RBF. Después se añadió una solución de 2-(bromo-*d*<sub>2</sub>-metil)-1-fluoro-3-(trifluorometil)benceno (para una preparación véase el intermedio 9; 79 mg, 0,305 mmol) en DMF (5 ml) y la solución se agitó enérgicamente en nitrógeno a temperatura ambiente. Tras 72 horas, la CLEM indicó que no quedaba material de partida bromuro. La mezcla de reacción se repartió entre acetato de etilo (50 ml) y agua (50 ml). Después, la capa orgánica se lavó dos veces con agua (2 x 30 ml), se secó (sulfato sódico) y se evaporó, dando un producto bruto. Esta muestra se disolvió en 1:1 DMSO:metanol (2 ml) y se purificó mediante una columna MDAP Sunfire C18 (Procedimiento B) usando acetónitrilo-agua con un modificador de ácido fórmico (2 inyecciones de 1 ml). Las fracciones que contenían el producto se combinaron y se repartieron entre bicarbonato sódico acuoso saturado y TBME. La capa acuosa se extrajo con más TBME y los extractos orgánicos combinados se secaron (sulfato sódico) y se evaporaron, dando el *producto del título* (56,3 mg, 46 %) como un sólido blanco. CLEM (Sistema 3):  $MH^+$  = 402,  $t_{RET}$  = 1,02 min; RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-*d*<sub>6</sub>, 400 MHz):  $\delta$  (ppm) 10,81 (s, 1H), 8,02 (s, 1H), 7,74 - 7,61 (m, 3H), 7,61 - 7,52 (m, 1 H), 7,46 (s, 1 H) y 7,22 (t, *J* = 8,1 Hz, 2H).

### Parte experimental biológica

Los compuestos se pueden ensayar de acuerdo con los siguientes procedimientos similares.

Este ensayo ICRAC usa el inhibidor SERCA tapsigargina para producir depleción de calcio y activar una corriente de ICRAC. Las células se incuban en un ambiente sin calcio, de modo que no se produce desplazamiento iónico hasta que se vuelve a añadir calcio y después entra en la célula a través de los canales abiertos. Los cambios en los niveles de calcio intracelular se determinan mediante la inclusión del colorante fluorescente sensible al calcio Fluo-4 y el sistema de detección FLIPR. Cabría esperar que los inhibidores ICRAC disminuyan la entrada de calcio tras la adición de calcio, de modo que se reduce la señal fluorescente.

Jurkat E6-1 es una línea celular de linfocitos T inmortalizados establecidos que anteriormente se ha demostrado que expresa una corriente de ICRAC funcional. Las células Jurkat crecen en suspensión, se cultivan en DMEM + 10 % FBS, se mantienen en matraces T175 a 37 °C / 5 % de CO<sub>2</sub> y se subcultivan dos veces a la semana con divisiones 1:10-1:20. 1 T175 confluyente da 100 ml de aproximadamente 2 x 10<sup>6</sup> células/ml.

El tampón de carga contiene NaCl 145 mM, KCl 2,5 mM, HEPES 10 mM, Glucosa 10 mM, MgCl<sub>2</sub> 1,2 mM, formado con agua, después el pH se ajustó a 7,4 usando NaOH 1 M. Por último se añadieron Fluo-4AM y negro brillante, dando una concentración en el ensayo final de 2  $\mu$ M y 250  $\mu$ M respectivamente.

El tampón de ensayo contiene tapsigargina, que da una concentración en el ensayo final de 5  $\mu$ M y el inhibidor ICRAC de ensayo para dar una concentración en el ensayo final de 15  $\mu$ M a 14 pM. En los casos de  $pIC_{50} < 4,8$ , los compuestos de la invención podrían seleccionarse a una concentración máxima de 50  $\mu$ M o 150  $\mu$ M.

La densidad de siembra requerida para una placa de 384 es de 20.000 células por pocillo. Las células se siembran en una placa de 384 pocillos y se añade tampón de carga antes de incubar a temperatura ambiente durante 2,5 horas. Después se añade tampón de ensayo a la placa celular y se incuba a temperatura ambiente durante 10 minutos más. Después, las placas se transfieren al FLIPR, que inicialmente mide la fluorescencia basal, seguido de un incremento de la fluorescencia provocado por la adición online de una solución de calcio 6 mM (FAC 1,2 mM).

La fluorescencia en ausencia del inhibidor ICRAC da una señal máxima del 100 % y concentraciones crecientes del inhibidor ICRAC tienen como resultado una disminución de la señal de fluorescencia que se expresa como un porcentaje de inhibición de la señal máxima. A partir de la relación concentración-respuesta, se puede determinar la concentración que produce una inhibición del 50 % de la señal máxima ( $pIC_{50}$ ).

El ejemplo 1 se ensayó en el ensayo anterior y se descubrió que tenía una  $pIC_{50} = 5,5$

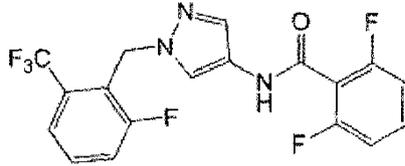
### **Aclaramiento microsómico *in vitro* para los Ejemplos 1 y 3**

$Cl_{int}$ (ml/min hepático)	g	Ejemplo 1	Ejemplo 3
Ser humano		0,80	<0,5

<b>Cl<sub>int</sub> (ml/min g hepático)</b>	<b>Ejemplo 1</b>	<b>Ejemplo 3</b>
Rata (CD)	1,67	0,95
Perro (Beagle)	0,98	0,80
Rata (Wistar Han)	2,05	1,16

REIVINDICACIONES

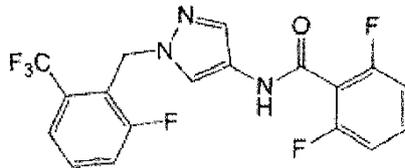
1. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo



5

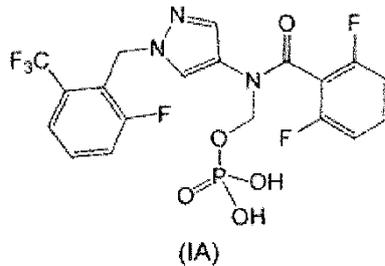
(I)

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 es (2,6-Difluoro-N-(1-[[2-fluoro-6-(trifluorometil)fenil]metil]-1H-pirazol-4-il)benzamida)



10

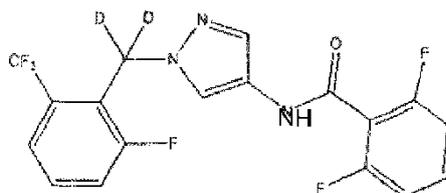
3. Un compuesto de fórmula (IA)



15

en forma de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,

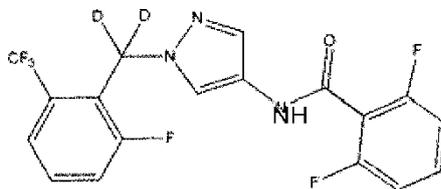
5. Un compuesto de acuerdo la reivindicación 1 que es de fórmula (1') o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.



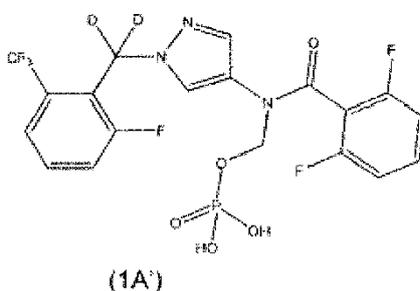
20

(1')

6. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 1 y 5, que es



5 7. Un compuesto profármaco que es de fórmula (1A')



en forma de una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 10 8. Un compuesto tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.
9. Un compuesto tal como de define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de trastornos alérgicos, trastornos inflamatorios, trastornos del sistema inmune y afecciones en las que la actividad antiplaquetaria y antitrombótica es útil.
- 15 10. Un compuesto tal como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento del asma o la rinitis.
11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más vehículos, diluyentes o excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 20 12. Una combinación que comprende un compuesto tal como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y uno o más de otros compuestos terapéuticos.
13. El uso de un compuesto tal como de define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de trastornos alérgicos, trastornos inflamatorios, trastornos del sistema inmune y afecciones en las que la actividad antiplaquetaria y antitrombótica es útil.
- 25