

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 635 358**

51 Int. Cl.:

C07D 401/12 (2006.01)

A61K 31/444 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

A61P 11/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2010** **E 13151470 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.04.2017** **EP 2599778**

54 Título: **Compuestos de diamina que tienen actividad antagonista del receptor muscarínico y agonista del receptor β_2 adrenérgico**

30 Prioridad:

23.04.2009 US 172039 P

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

03.10.2017

73 Titular/es:

**THERAVANCE RESPIRATORY COMPANY, LLC
(100.0%)
2000 Sierra Point Parkway, Suite 500
Brisbane, CA 94005, US**

72 Inventor/es:

**HUGHES, ADAM;
BYUN, DANIEL;
CHEN, YAN;
FLEURY, MELISSA;
JACOBSEN, JOHN;
STRANGELAND, ERIC;
WILSON, RICHARD y
YEN, ROSE**

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 635 358 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 diamina que tienen actividad antagonista del receptor muscarínico y agonista del receptor β_2 adrenérgico

Antecedentes de la invención**5 Campo de la invención**

La presente invención, se refiere a nuevos compuestos de diamina que tienen actividad antagonista del receptor muscarínico y actividad agonista del receptor β_2 adrenérgico. La invención se refiere también a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, procedimientos e intermedios para preparar dichos compuestos. Los compuestos, encuentran utilidad como agentes broncodilatadores, para tratar trastornos pulmonares.

10 Estado de la técnica

Los trastornos pulmonares, tales como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD) y el asma se tratan normalmente mediante broncodilatadores. Véase, por ejemplo, Ziedalski et al., *Advances in the Management of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Expert Opin. Pharmacother.*, (2003) 4(7), 1063-1082; Tashkin et al., *The Role of Long-Acting Bronchodilators in the Management of Stable COPD, Chest*, 2004: 125; 249-259; y Donohue, *Therapeutic Responses in Asthma and COPD: Bronchodilators, Chest*, 2004: 126; 125-137. Dichos broncodilatadores se administran típicamente mediante inhalación, usando un dispositivo inhalador manual.

Típicamente, los agentes broncodilatadores usados comúnmente, tienen actividad antagonista del receptor muscarínico (es decir, agentes anticolinérgicos), o actividad agonista del receptor β_2 adrenérgico (receptor adrenérgico). Más recientemente, se ha informado acerca de compuestos que tienen tanto actividad antagonista del receptor muscarínico como actividad agonista del receptor β_2 adrenérgico (MABA) en la misma molécula. Por ejemplo, la patente US 7.141.671, emitida el 28 de Noviembre de 2006, divulga compuestos de bifenilo que tienen tanto actividad antagonista del receptor muscarínico como actividad agonista del receptor β_2 adrenérgico.

Los documentos WO 2006/023454 A1 y US 2006/035931 A1 divulgan sales cristalinas de ácido 1,2-etanodisulfónico de un compuesto de bifenilo, útiles como agentes terapéuticos para tratar trastornos pulmonares.

25 El documento WO 2007/090859 A1 divulga una sal de ácido succínico de un compuesto de bifenilo, útil como agente terapéutico para tratar trastornos pulmonares.

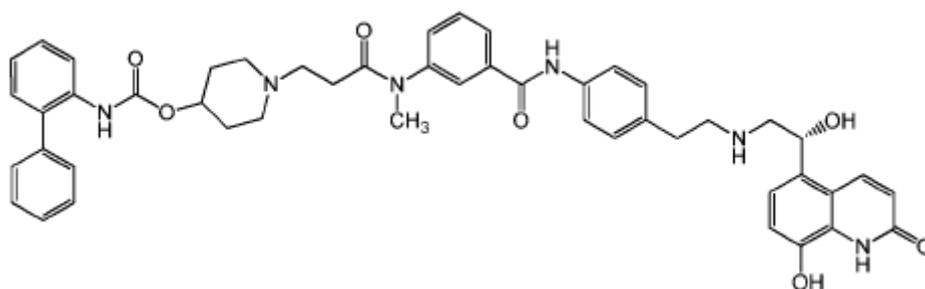
Se espera que los compuestos MABA de actuación dual sean particularmente útiles para tratar trastornos pulmonares, ya que dichos compuestos pueden formularse y administrarse como un agente terapéutico individual, pero, una vez administrados, proporcionan broncodilatación a través de dos modos de acción distintos y posiblemente sinérgicos. Además, los compuestos MABA tienen el potencial de ser combinados con un agente anti-inflamatorio, tal como un corticosteroide inhalado (ICS), para proporcionar una triple terapia en un inhalador individual usando sólo dos agentes terapéuticos (MABA + ICS).

35 De esta manera, existe una necesidad de nuevos compuestos MABA. En particular, existe una necesidad de nuevos compuestos MABA que sean altamente efectivos como antagonistas del receptor muscarínico y como agonistas del receptor β_2 adrenérgico. Además, los compuestos MABA que tienen una acción de larga duración, es decir, compuestos que proporcionan una broncodilatación significativa durante al menos aproximadamente 24 horas después de la administración mediante inhalación, pueden ser particularmente útiles para tratar ciertos trastornos pulmonares en los que se desea una administración de una vez al día de un agente broncodilatador.

Sumario de la invención

40 La presente invención se refiere a nuevos compuestos de diamida que tienen tanto actividad antagonista del receptor muscarínico como actividad agonista del receptor β_2 adrenérgico. Dichos compuestos producen broncodilatación cuando se administran a un mamífero mediante inhalación. Se ha encontrado que los compuestos de la presente invención poseen una acción de larga duración, es decir, producen broncodilatación durante al menos aproximadamente 24 horas después de la administración. Por consiguiente, se espera que los compuestos de la presente invención sean útiles y ventajosos como agentes broncodilatadores para tratar trastornos pulmonares.

La invención proporciona un compuesto de fórmula la

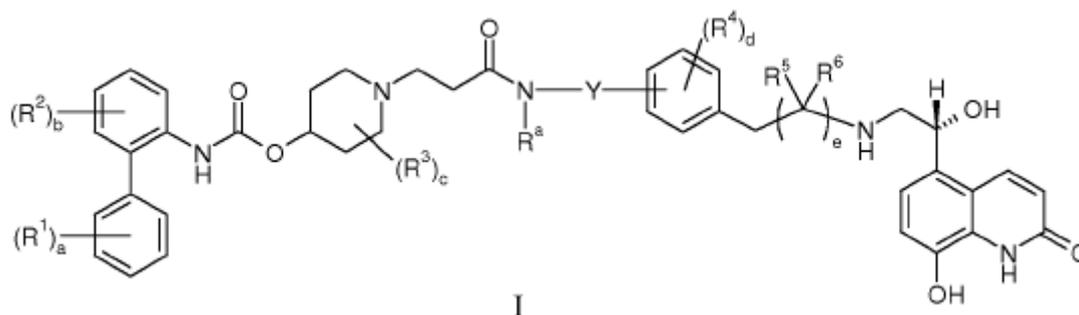


5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

La fórmula la es un miembro de la clase de los compuestos de fórmula I:

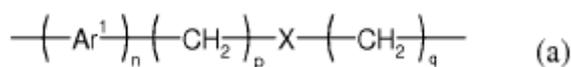
10



15

en la que,

Y es un grupo de formula (a)



20

e Y está unido en la posición 3 o 4 del anillo de fenileno con relación al grupo $-\text{CH}_2-(\text{CR}^5\text{R}^6)_e$;

X se selecciona de entre $-\text{C}(\text{O})\text{NH}-$ y $-\text{NHC}(\text{O})-$;

25

Ar^1 , se selecciona de entre fen-1,3-ileno y fen-1,4-ileno, donde el grupo fenileno está sustituido o no sustituido con de 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de entre alquilo C_{1-3} , $-\text{O}-(\text{alquilo } \text{C}_{1-3})$ y halo;

cada R^1 se selecciona independientemente de entre alquilo C_{1-3} , $-\text{O}-(\text{alquilo } \text{C}_{1-3})$, hidroxilo y halo;

cada R^2 se selecciona independientemente de entre alquilo C_{1-3} , $-\text{O}-(\text{alquilo } \text{C}_{1-3})$ y halo;

cada R^3 se selecciona independientemente de entre alquilo C_{1-3} ; o dos grupos R^3 se unen para formar alquilen C_{1-3} , alquenileno C_{2-3} u oxiran-2,3-diilo;

30

cada R^4 se selecciona independientemente de entre alquilo C_{1-3} , $-\text{O}-(\text{alquilo } \text{C}_{1-3})$ y halo;

R^5 se selecciona de entre hidrógeno, metilo y etilo;

R^6 se selecciona de entre hidrógeno, metilo y etilo;

R^a se selecciona entre alquilo C_{1-6} ;

a es 0, 1, 2 o 3;

35

b es 0, 1, 2 o 3;

c es 0, 1, 2, 3, o 4;

d es 0, 1, 2 o 3;

e es 0 o 1;

n es 0 o 1;

p es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6; siempre que cuando n es 0, p sea 1, 2, 3, 4, 5, o 6;

q es 0, 1, 2, 3, 4, 5 o 6;

5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Tal como se usa en adelante en la presente memoria, la frase "compuesto de fórmula I" significa un compuesto de fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, es decir, esta frase significa un compuesto de fórmula I en forma de base libre, o en forma de una sal farmacéuticamente aceptable, a menos que se indique lo contrario; y "compuesto de fórmula Ia" se entenderá de una manera similar.

10 En otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende (a) un compuesto de fórmula Ia; (b) un vehículo farmacéuticamente aceptable. Ese aspecto de la invención incluye, por ejemplo, composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración mediante inhalación.

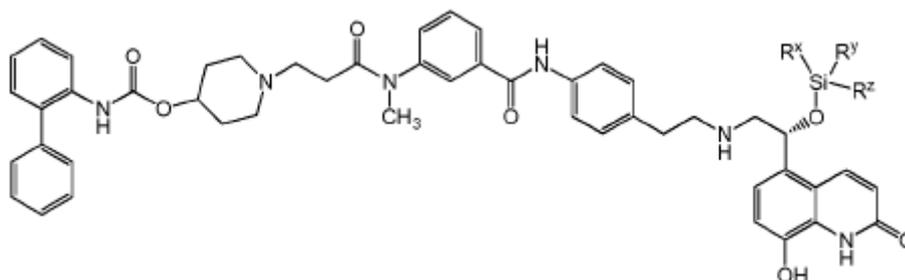
15 En todavía otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición que comprende (a) un compuesto de fórmula Ia, y (b), un agente antiinflamatorio esteroideo, (por ejemplo, un corticosteroide). La expresión "agente antiinflamatorio esteroideo", tal como se usa en la presente memoria, incluye sales y/o solvatos farmacéuticamente aceptables de dichos agentes, a menos que se indique lo contrario. La presente invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende (a) un compuesto de fórmula Ia; (b) un agente anti-inflamatorio esteroideo; y (c) un vehículo farmacéuticamente aceptable. Estos aspectos de la invención incluyen, por ejemplo, composiciones adecuadas para la administración mediante inhalación. En una realización particular, el agente anti-inflamatorio esteroideo es un corticosteroide (por ejemplo, un glucocorticoide), tal como un propionato de fluticasona o un solvato del mismo, o fluorato de fluticasona o un solvato del mismo.

20 La presente invención encuentra utilidad en un procedimiento de tratamiento de un trastorno pulmonar en un paciente que comprende la administración de un compuesto de fórmula Ia al paciente. Éste incluye, por ejemplo, tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica o asma. Son también de utilidad los procedimientos en los que un agente anti-inflamatorio esteroideo se administra simultánea o secuencialmente con un compuesto de fórmula Ia para tratar un trastorno pulmonar.

25 La presente invención encuentra utilidad también en un procedimiento para producir broncodilatación en un mamífero que comprende la administración de una cantidad productora de broncodilatación de un compuesto de fórmula Ia a un mamífero, por ejemplo, un ser humano.

30 La presente invención encuentra utilidad también en un procedimiento para antagonizar con un receptor muscarínico y agonizar con un receptor β_2 adrenérgico en un sistema o muestra biológico que comprende un receptor muscarínico y un receptor β_2 adrenérgico, comprendiendo el procedimiento tratar el sistema o muestra biológico con un compuesto de fórmula Ia. Pueden usarse procedimientos tanto *in vivo* como *in vitro*.

35 La presente invención se refiere también a procedimientos y nuevos intermedios útiles para preparar compuestos de fórmula Ia. En una de dichas realizaciones, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula



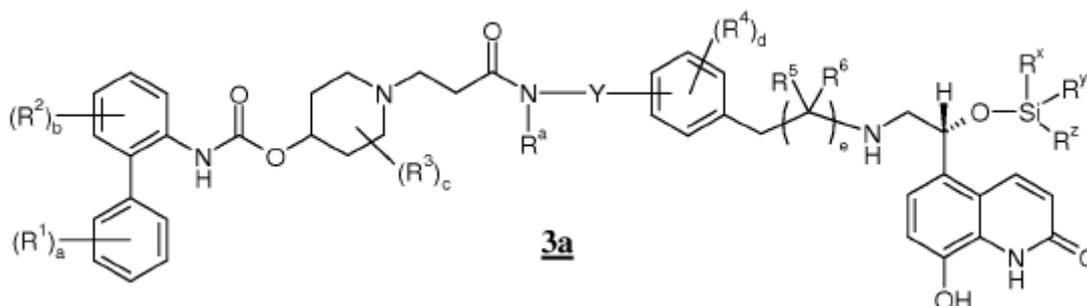
40 en la que

R^x y R^y se seleccionan independientemente de entre alquilo C_{1-4} , fenilo y -alquil C_{1-4} -(fenilo);

R^z se selecciona de entre alquilo C_{1-4} , fenilo, -alquil C_{1-4} -(fenilo) y -O-(alquilo C_{1-4});

45 o una sal del mismo, que es un ejemplo específico de un compuesto de la fórmula general 3a:

5



o una sal del mismo, en la que R^x y R^y se seleccionan independientemente de entre alquilo C_{1-4} , fenilo y -alquil C_{1-4} -(fenilo); y R^z se selecciona de entre alquilo C_{1-4} , fenilo, -alquil C_{1-4} -(fenilo) y -O-(alquilo C_{1-4}).

10 En todavía otro de sus aspectos del procedimiento, la presente invención se refiere a un procedimiento de preparación de un compuesto de fórmula la, comprendiendo el procedimiento la desprotección de un compuesto de la fórmula anterior para proporcionar un compuesto de fórmula la.

En la presente memoria se describen otros aspectos y realizaciones de la presente invención.

Descripción detallada de la invención

15 Los compuestos de la fórmula la contienen también varios grupos básicos (por ejemplo, grupos amino) y, por lo tanto, dichos compuestos, pueden existir como base libre o en diversas formas de sales, tales como una forma de sal mono-protonada, o una forma de sal di-protonada o sus mezclas. La totalidad de dichas formas están incluidas en el alcance de la presente invención, a menos que se indique lo contrario.

20 La presente invención incluye también compuestos marcados isotópicamente de fórmula la, es decir, compuestos de fórmula la en los que un átomo se ha reemplazado o enriquecido con un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa atómica diferente de la masa atómica que predomina en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse a un compuesto de fórmula la incluyen, pero no se limitan a, a 2H , 3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{13}N , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{35}S , ^{36}Cl y ^{18}F . Son de interés particular los compuestos de fórmula la enriquecidos con tritio o carbono 14, cuyos compuestos pueden usarse, por ejemplo, en estudios de distribución de tejidos. Son también de un interés particular los compuestos de fórmula la enriquecidos con deuterio, especialmente en un sitio de metabolismo, cuyos compuestos se espera que tengan una mayor estabilidad metabólica. Son también de un interés particular los compuestos de fórmula la enriquecidos con un isótopo que emite un positrón, tal como ^{11}C , ^{18}F , ^{15}O y ^{13}N , cuyos compuestos pueden usarse, por ejemplo, en estudios de tomografía de emisión de positrones (PET).

Definiciones

30 Cuando se describe la presente invención, incluyendo sus diversos aspectos y realizaciones, los siguientes términos tienen los siguientes significados, a menos que se indique lo contrario.

Los términos singulares "un", "una" y "el", "la" incluyen los términos plurales correspondientes, a menos que el contexto de uso indique claramente lo contrario.

35 El término "alquilo", significa un grupo hidrocarburo saturado monovalente, que puede ser lineal o ramificado. A menos que se defina lo contrario, dichos grupos alquilo contienen típicamente de 1 a 10 átomos de carbono. Los grupos alquilo representativos incluyen, a modo de ejemplo, metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo, tert.butilo, n-pentilo, n-hexilo, n-heptilo, n-octilo, n-nonilo y n-decilo.

40 Cuando se prevé un número específico de átomos de carbono para un término particular, el número de átomos de carbono se muestra después del término. Por ejemplo, la expresión "alquilo C_{1-3} ", significa un grupo alquilo que tiene de 1 a 3 átomos de carbono, en el que los átomos de carbono se encuentran en cualquier configuración químicamente aceptable, incluyendo configuraciones lineales o ramificadas.

45 El término "alquileno" significa un grupo hidrocarburo saturado, divalente, que puede ser lineal o ramificado. A menos que se defina lo contrario, dichos grupos alquileno contienen típicamente de 1 a 10 átomos de carbono. Los grupos alquileno representativos incluyen, a modo de ejemplo, metileno, etano-1,2-dillo ("etileno"), propan-1,2-diilo, propan-1,3-diilo, butan-1,4-diilo, pentan-1,5-diilo.

La expresión "grupo protector de amino" significa un grupo protector adecuado para prevenir reacciones no deseadas en un grupo amino. Los grupos protectores de amino representativos incluyen, pero no se limitan a, tert-butoxicarbonilo

(BOC); trietilo (Tr), benciloxycarbonilo (Cbz), 9- fluorenilmetoxycarbonilo (Fmoc); bencilo, formilo, trimetilsililo (TMS), tert-butildimefilsililo (TBS, TBDMS) y difenilmetilo (bencidriilo, DPM).

5 La expresión "grupo protector de carboxilo" significa un grupo protector adecuado para prevenir reacciones no deseadas en un grupo carboxilo (es decir, -COOH). Los grupos protectores de carboxilo adecuados incluyen, pero no se limitan a, a ésteres, tales como metilo, etilo, tert-butilo, bencilo (Bn), p-metoxibencilo (PMB), 9-fluorenilmetilo (Fm), trimetilsililo (TMS), tert-butildimetilsililo (TBS, TBDMS) y difenilmetilo (bencidriilo, DPM).

El término "halo" significa flúor, cloro, bromo y yodo.

10 La expresión "grupo protector de hidroxilo" significa un grupo protector adecuado para prevenir reacciones no deseadas en un grupo hidroxilo. Los grupos protectores de hidroxilo incluyen, pero no se limitan a, grupos sililo, incluyendo grupos (alquilo C₁₋₆)-sililo, tales como trimetilsililo (TMS), trietilsililo (TES) y tert-butildimetilsililo (TBS); ésteres (grupos acilo) incluyendo grupos alcanilo C₁₋₆, tales como formilo y acetilo; grupos arilmetilo, tales como bencilo (Bn), p-metoxibencilo (PMB), 9-fluorenilmetilo (Fm) y difenilmetilo (bencidriilo, DPM). Además, dos grupos hidroxilo pueden ser protegidos también como un grupo alquilideno, tal como prop-2-ilidina, formado, por ejemplo, mediante la reacción con una cetona, tal como acetona.

15 La expresión "grupo saliente" significa un grupo funcional o un átomo que puede ser desplazado por otro grupo funcional o un átomo, en una reacción de sustitución, tal como una reacción de sustitución nucleofílica. A modo de ejemplo, los grupos salientes representativos incluyen, pero no se limitan a, grupos cloro, bromo y yodo; grupos de ésteres sulfónicos, tales como mesilato, tosilato, brosilato y nosilato; y grupos aciloxi, tales como acetoxi y trifluoroacetoxi.

20 El término "micronizado" o "en torna micronizada" significa partículas en las que al menos aproximadamente un 90 por ciento de las partículas tienen un diámetro de menos de aproximadamente 10 µm, a menos que se indique lo contrario.

25 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" significa una sal que es aceptable para la administración a un paciente o a un mamífero, tal como un ser humano (por ejemplo, sales que tienen una seguridad aceptable en mamíferos para un régimen de dosificación determinado). Las sales farmacéuticamente aceptables representativas incluyen las sales de ácido acético, ascórbico, bencenosulfónico, benzóico, alcanforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, edisílico, fumárico, gentísico, glucónico, glucorónico, glutámico, hipúrico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, lactobiónico, maléico, málico, mandélico, metanosulfónico, múico, naftalenosulfónico, naftalen-1,5-disulfónico, naftalen-2,6-disulfónico, nicotínico, nítrico, orótico, pamóico, pentoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, p-toluensulfónico, y xinafóico.

30 La expresión "derivados protegidos del mismo" significa un derivado del compuesto específico en el que uno o más grupos funcionales del compuesto están protegidos o bloqueados contra reacciones no deseadas con un grupo protector o de bloqueo. Los grupos funcionales que pueden protegerse incluyen, a modo de ejemplo, grupos carboxi, grupos amino, grupos hidroxilo, grupos tiol y grupos carbonilo. Las personas con conocimientos ordinarios en la materia conocen los grupos protectores adecuados para dichos grupos funcionales tal como se ejemplifican en las enseñanzas de T. W. Greene y G. M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Third Edition, Wiley, Nueva York, 1999, y en las referencias citadas en dicho documento.

35 La expresión "sal del mismo" significa un compuesto formado cuando el hidrógeno de un ácido se reemplaza por un catión, tal como un catión de metal o un catión inorgánico. Por ejemplo, el catión puede ser una forma protonada de un compuesto de fórmula la, es decir, en el que uno o más grupos amino han sido protonados por un ácido. Típicamente, la sal es una sal farmacéuticamente aceptable, aunque no es necesario para las sales de los compuestos intermedios que no están previstos para la administración a un paciente.

40 El término "solvato" significa un complejo o agregado formado por una o más moléculas de soluto, es decir, un compuesto de fórmula la o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y una o más moléculas de un disolvente. Típicamente, dichos solvatos son sólidos cristalinos que tienen una relación molar substancialmente fija de soluto con respecto a disolvente. Los disolventes representativos incluyen, a modo de ejemplo, agua, metanol, etanol, isopropanol o ácido acético. Cuando el disolvente es agua, el solvato formado es un hidrato.

45 La expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" significa una cantidad suficientemente para efectuar un tratamiento cuando se administra a un paciente en necesidad de tratamiento.

50 El término "tratar" o "tratamiento", tal como se usa en la presente memoria, significa el tratamiento de una enfermedad o afección médica (tal como COPD o asma), en un paciente, tal como un mamífero (por ejemplo, un ser humano), que incluye cualquier de las siguientes o sus combinaciones:

- (a) prevenir la aparición de la enfermedad o la afección médica, es decir, tratamiento profiláctico de un paciente;
- (b) mejorar la enfermedad o la afección médica, es decir, eliminando o causando la regresión de la enfermedad o

afección médica, en un paciente,

(c) suprimir la enfermedad o afección médica, es decir, ralentizando o interrumpiendo el desarrollo de la enfermedad o afección médica, en un paciente; o

(d) aliviar los síntomas de la enfermedad o afección médica en un paciente.

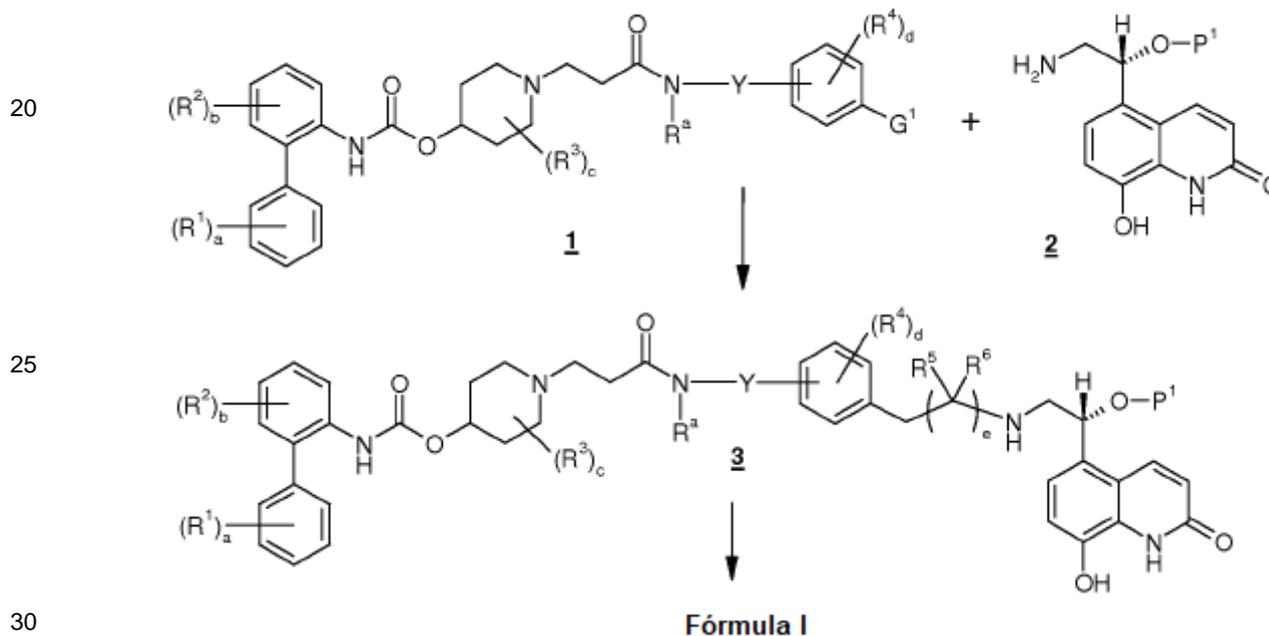
5 El resto de términos usados en la presente memoria pretenden tener su significado ordinario, tal como lo entienden las personas con conocimientos ordinarios en la materia.

Procedimientos sintéticos generales

Los compuestos de la presente invención de fórmula la, y sus intermedios, pueden prepararse según los métodos y procedimientos generales para los compuestos de la fórmula general I usando materiales de partida y reactivos comercialmente disponibles o que se preparan de manera rutinaria. Los sustituyentes y las variables (por ejemplo, R¹, R², Y, a, b, etc.) usados en los esquemas siguientes tienen los mismos significados que los definidos en cualquier otro lugar en la presente memoria, a menos que se indique lo contrario. Además, pueden usarse compuestos que tienen un átomo o un grupo funcional ácido o básico, o éstos pueden producirse como una sal, a menos que se indique lo contrario (en algunos casos, el uso de una sal en una reacción particular requerirá la conversión de la sal a una forma distinta de una sal, por ejemplo, una base libre, usando procedimientos rutinarios, antes de llevar a cabo la reacción).

El Esquema I ilustra un procedimiento típico de preparación de compuestos de fórmula I (donde, R₆, es hidrógeno):

Esquema I



en el que

G¹, es -CHO o -CH₂C(O)R⁵; y

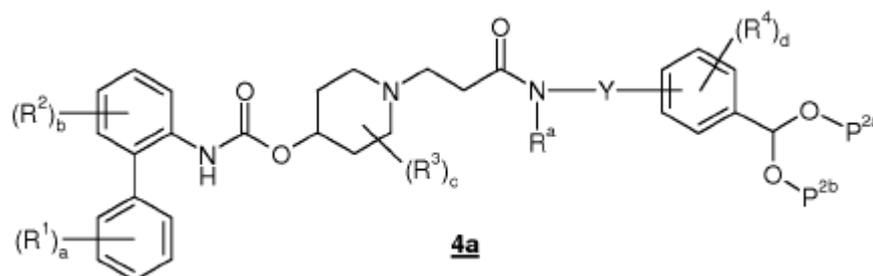
P¹ es un grupo protector de hidroxilo, tal como el tert-butildimetilsilo.

35 En este procedimiento, el compuesto **1** se hace reaccionar con de aproximadamente 0,95 a aproximadamente 1,5 equivalentes molares de un compuesto **2**, en presencia de un agente reductor para proporcionar el compuesto **3**. Puede usarse cualquier agente reductor adecuado en esta reacción, incluyendo, a modo de ilustración, un reactivo de hidruro metálico, tal como el brohidruro de sodio, triacetoxiborhidruro de sodio o cianoborohidruro de sodio, o hidrógeno y un catalizador de metal, tal como paladio sobre carbono. Típicamente, esta reacción se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre aproximadamente -20°C y aproximadamente 30°C (por ejemplo, entre 40 aproximadamente 0°C y aproximadamente 5°C), durante entre aproximadamente 1 hora y aproximadamente 6 horas, o hasta que la reacción se haya completado substancialmente. Típicamente, esta reacción se lleva a cabo en un diluyente, tal como el diclorometano (DCM), dicloroetano. De manera opcional, el diluyente puede contener un

disolvente prótico, tal como metanol. Una vez completada la reacción, típicamente, el producto se aísla usando procedimientos convencionales, tales como extracción, recristalización o cromatografía. De manera alternativa, si se desea, la mezcla de reacción que contiene el compuesto **3** puede usarse directamente en la siguiente etapa de la síntesis, sin aislamiento o purificación adicional.

5 A continuación, el compuesto **3** se desprotege para proporcionar un compuesto de fórmula I. Las condiciones particulares usadas para desproteger el compuesto **3** dependerán del grupo protector empleado. Por ejemplo, cuando P^1 es un grupo protector de sililo, tal como tert-butildimetilsililo, tert-butildifenilsililo, difenilmethylsililo, di-tert-butylmedilsililo o tert-butoxidifenilsililo (es decir, un compuesto de fórmula **3a** tal como se define en la presente memoria), esta
 10 reacción de desprotección se lleva a cabo típicamente poniendo en contacto el compuesto **3** con una fuente de iones fluoruro. En una realización particular, la fuente de iones fluoruro es trihidrofluoruro de trietilamina. Otras fuentes adecuadas de iones fluoruro incluyen fluoruro de tetrabutilamonio, fluoruro de potasio con 18-corona-6, fluoruro de hidrógeno o fluorohidruro de piridina. Típicamente, esta reacción, se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 50°C (por ejemplo, entre aproximadamente 10°C y aproximadamente 25°C),
 15 durante entre aproximadamente 24 horas y aproximadamente 72 horas, o hasta que la reacción se haya completado substancialmente. Típicamente, esta reacción se lleva a cabo en un diluyente, tal como DCM, dicloroetano. Una vez completada la reacción, típicamente, el producto se aísla usando procedimientos convencionales, tales como extracción, recristalización o cromatografía.

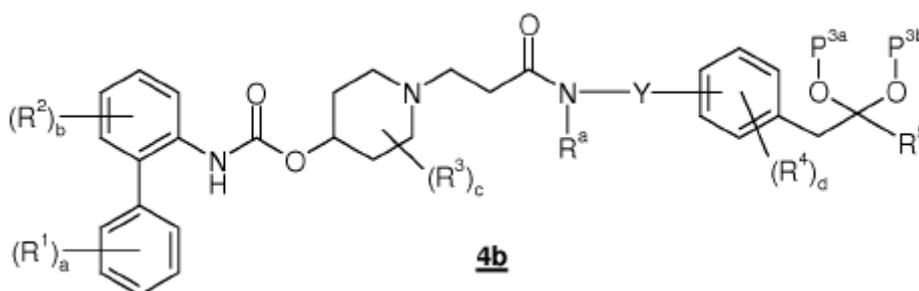
Los compuestos de fórmula **1** se preparan típicamente desprotegiendo el intermedio acetal o cetal correspondiente. Por ejemplo, cuando G^1 es -CHO, los compuestos de fórmula **1** se preparan típicamente desprotegiendo un intermedio de
 20 fórmula **4a**:



en el que P^{2a} y P^{2b} se seleccionan independientemente de entre alquilo C_{1-6} , o P^{2a} y P^{2b} se unen para formar alquileno C_{2-6} , típicamente alquileno C_{2-4} .

De manera similar, cuando G^1 es $-CH_2C(O)R^5$, los compuestos de fórmula **1** se preparan típicamente desprotegiendo un intermedio de fórmula **4b**:

30



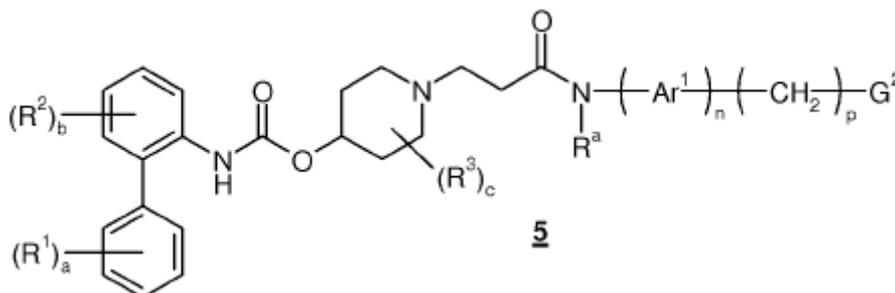
en la que, P^{3a} y P^{3b} se seleccionan independientemente de entre alquilo C_{1-6} , P^{3a} y P^{3b} se unen para formar alquileno C_{2-6} , típicamente alquileno C_{2-4} .

40

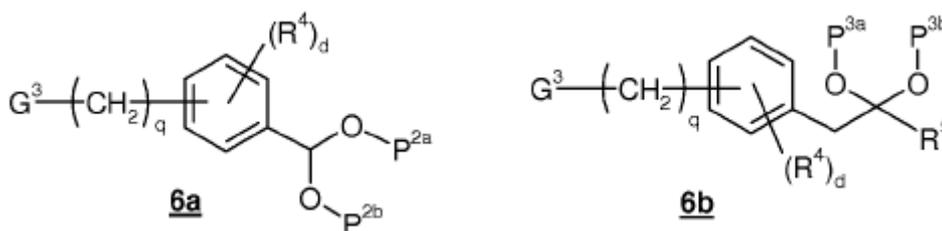
La desprotección de los compuestos **4a** o **4b**, se lleva a cabo, típicamente, haciendo reaccionar **4a** o **4b** con un ácido acuoso para hidrolizar el grupo acetal o cetal y proporcionar el correspondiente aldehído o cetona del compuesto **1**. En esta reacción, puede emplearse cualquier ácido adecuado, incluyendo, a modo de ejemplo, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico o ácido p-toluenosulfónico. Típicamente, la reacción de hidrólisis se lleva a cabo a una temperatura comprendida entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 30°C (por ejemplo, a una temperatura comprendida entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 25°C) durante entre aproximadamente 1 hora y
 45

aproximadamente 6 horas, o hasta que la reacción se haya completado substancialmente. Típicamente, esta reacción se lleva a cabo en un diluyente, tal como metanol, etanol, isopropanol, diclorometano/etanol o acetonitrilo. Una vez completada la reacción, típicamente, el producto se aísla usando procedimientos convencionales, tales como extracción, recristalización o cromatografía. De manera alternativa, la mezcla de reacción que contiene el compuesto **1** puede usarse directamente en la siguiente etapa de la síntesis.

Típicamente, los compuestos de fórmula **4a** o **4b** se preparan acoplado un compuesto de fórmula **5**:



con un compuesto de fórmula **6a** o **6b**:



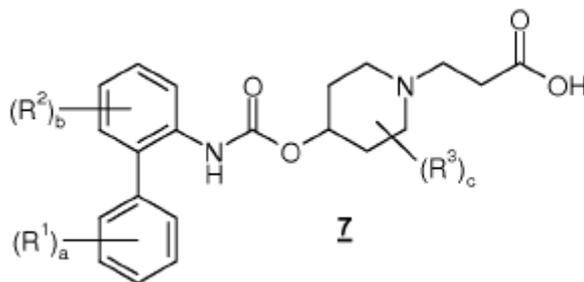
en la que,

G^2 es $-NH_2$ y G^3 es $-COOH$; o G^2 es $-COOH$ y G^3 es $-NH_2$.

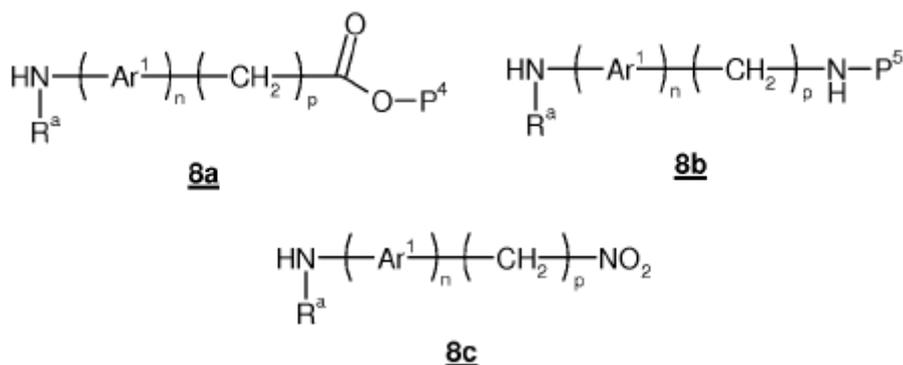
La reacción de acoplamiento entre el compuesto **5** y el compuesto **6a** o **6b** para formar el compuesto **4a** o **4b** se lleva a cabo, típicamente, usando un reactivo de acoplamiento ácido carboxílico - amina. En esta reacción, puede usarse cualquier reactivo de acoplamiento ácido carboxílico - amina incluyendo, a modo de ilustración, hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-(dimetilamino)fosfonio (BOP); N,N'-carbonildiimidazol (CDI); dicitclohexilcarbodiimida (DCC); 3-(dietoxifosforiloxi)-1,2,3-benzotriazin-4(3H)-ona (DEPBT); clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC HCl); hexafluorofosfato de 2-(7-aza-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametituronio (HATU); hexafluorofosfato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametituronio (HBTU); hexafluorofosfato 2-(6-cloro-1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametilamonio (HCTU); 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (HOAt); N-hidroxi-benzotriazol (HOBT); hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-pirrolidinofosfonio (PyBOP); hexafluorofosfato de bromo-tris-pirrolidinofosfonio (PyBROP); tetrafluoroborato de O-(7-azabenzotriazol-1-il)-N,N',N'-tetrametituronio (TATU); tetrafluoroborato de 2-(1H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio (TBTU); tetrafluoroborato de N,N',N'-tetrametil-O-(3,4-dihidro-4-oxo-1,2,3-benzotriazin-3-il)uronio (TDBTU); tetrafluoroborato de O-(N-succinimidil)-1,1,3,3-batrametiluronio (TSTU) y sus combinaciones, tales como EDC y HOBT.

La reacción de acoplamiento se lleva a cabo, típicamente, haciendo reaccionar de aproximadamente 0,95 a aproximadamente 1,5 equivalentes molares del compuesto de amina (**5**, cuando G^2 es $-NH_2$; o **6a** o **6b**, cuando, G^3 es $-NH_2$), con el ácido carboxílico (**5**, cuando G^2 es $-COOH$; o **6a** o **6b**, cuando G^3 es $-COOH$) en presencia del reactivo de acoplamiento. Típicamente, el reactivo de acoplamiento se usa en una cantidad comprendida entre aproximadamente 1,0 y aproximadamente 1,5 equivalentes molares, con relación al ácido carboxílico. Generalmente, esta reacción se lleva a cabo en presencia de una amina impedida, tal como diisopropiletilamina (DIEA), N-metilmorfolina (NMM), colidina, 2,3,5,6-tetrametilpiridina (TEMP) o 2,6-di-tert-butil-4-dimetilaminopiridina (DBDMAP), en un diluyente, tal como diclorometano, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, acetonitrilo, dimetilformamida, dimetilacetamida, N-metilpirrolidona o sus mezclas. La reacción se lleva, a cabo típicamente a una temperatura comprendida entre aproximadamente $-20^\circ C$ y aproximadamente $50^\circ C$ (por ejemplo, a una temperatura comprendida entre aproximadamente $20^\circ C$ y aproximadamente $25^\circ C$), durante entre aproximadamente 1 hora y aproximadamente 30 horas, o hasta que la reacción se haya completado substancialmente. Una vez completada la reacción, típicamente, el producto se aísla usando procedimientos convencionales, tales como extracción, recristalización o cromatografía.

Los compuestos de fórmula **5** se preparan típicamente acoplando un compuesto de fórmula **7**:



con un compuesto de fórmula **8a**, **8b** u **8c**:



en las que P^4 es un grupo protector de carboxilo (tal como alquilo C_{1-6} , incluyendo metilo, etilo, n-propilo; o bencilo), y P^5 es un grupo protector de amino (tal como BOC, Fmoc o Cbz). Cuando se usa un compuesto de fórmula **8c**, el grupo nitro se reduce subsiguientemente a un grupo amino, usando reactivos y procedimientos estándar, tales como un metal de zinc, aluminio o hierro, y un ácido (tales como ácido acético o ácido clorhídrico), o hidrogenación catalítica. En esta realización, p es típicamente 0.

Los compuestos de la fórmula **8a**, **8b** y **8c** están disponibles comercialmente, son conocidos en la técnica o pueden prepararse usando variantes rutinarias de procedimientos conocidos en la técnica.

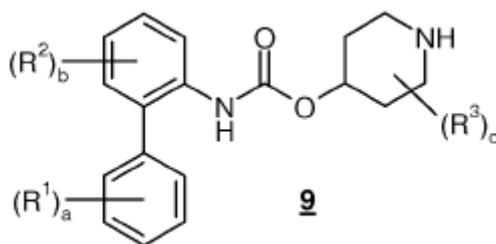
Los compuestos representativos de fórmula **8a** incluyen, a modo de ejemplo, 4-(metilamino)butirato de metilo, 5-(metilamino)pentanoato de metilo, 3-(metilamino)benzoato de metilo, 4-(metilamino)benzoato de metilo, 3-(metilamino)-4-metilbenzoato de metilo y [3-(metilamino)fenil]acetato de metilo.

Los compuestos representativos de fórmula **8b** incluyen, a modo de ejemplo, éster tert-butilico de ácido (3-metilaminopropil)carbámico, éster 9H-fluoren-9-il-metilico de ácido (3-metilaminopropil)carbámico, éster tert-butilico de ácido (4-metilaminobutil)carbámico, éster 9H-fluoren-9-il-metilico de ácido (4-metilaminobutil)carbámico, éster tert-butilico de ácido (3-metilaminofenil)carbámico, éster 9H-fluoren-9-il-metilico de ácido (3-metilaminofenil)carbámico, éster tert-butilico de ácido (4-metilaminofenil)carbámico, éster 9H-fluoren-9-il-metilico de ácido (4-metilaminofenil)carbámico, éster tert-butilico de ácido (3-metilaminobencil)carbámico, éster 9H-fluoren-9-il-metilico de ácido (3-metilaminobencil)carbámico, éster tert-butilico de ácido (4-metilaminobencil)carbámico y éster 9H-fluoren-9-il-metilico de ácido (4-metilaminobencil)carbámico.

Los compuestos representativos de fórmula **8c** incluyen, a modo de ejemplo, N-metil-3-nitroanilina, N-metil-4-nitroanilina, N-etil-3-nitroanilina y N-etil-4-nitroanilina.

La reacción de acoplamiento ácido carboxílico - amina entre el compuesto **7** y el compuesto **8a** u **8b** para formar el compuesto **5** se lleva a cabo típicamente usando reactivos y condiciones de reacción como los descritos en la presente memoria, para acoplar un ácido carboxílico y una amina (por ejemplo, el compuesto **5** y el compuesto **6a** o **6b**). Una vez completada la reacción, típicamente, el producto se aísla usando procedimientos convencionales, tales como extracción, recristalización o cromatografía.

Los compuestos de fórmula **7** se preparan típicamente haciendo reaccionar un compuesto de fórmula **9**:



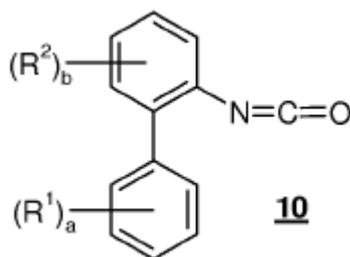
5

con entre aproximadamente 0,95 y aproximadamente 1,5 equivalentes molares de ácido acrílico. Esta reacción se lleva a cabo típicamente en un diluyente, tal como diclorometano, a una temperatura comprendida entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 70°C (por ejemplo, a una temperatura de 50°C), durante entre aproximadamente 6 horas y aproximadamente 30 horas, o hasta que se haya completado substancialmente la reacción. Una vez completada la reacción, típicamente, el producto se aísla usando procedimientos convencionales, tales como extracción, recristalización o cromatografía.

10

Los compuestos de fórmula **9** son conocidos en la técnica, pueden prepararse usando variantes rutinarias de procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los procedimientos para preparar dichos compuestos se encuentran en la publicación de solicitud de patente US Nº U.S. 2004/0167167 A1 y R. Naito et al., Chem. Pharm. Bull., 46(8) 1286-1294 (1998). A modo de ilustración, los compuestos de fórmula **9** se preparan típicamente haciendo reaccionar un compuesto de fórmula **10**:

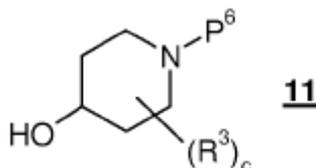
15



20

con un alcohol de fórmula **11**:

25



en la que P⁶ es un grupo protector de amino, tal como bencilo, BOC, Fmoc o Cbz.

30

Los compuestos representativos de fórmula **10** incluyen, a modo de ejemplo, isocianato de 2-(fenil)fenilo, isocianato de 2-(fenil)-5-metilfenilo, isocianato de 2-(3-clorofenil)-4,6-difluorofenilo, isocianato de 2-(fenil)-6-fluorofenilo, isocianato de 2-(fenil)-5-bromofenilo, isocianato de 2-(4-bromofenil)-5-bromofenilo, isocianato de 2-(fenil)-4-metoxifenilo, isocianato de 2-(4-metoxifenil)fenilo e isocianato de 2-(fenil)-5-metoxifenilo.

35

Los compuestos representativos de fórmula **11** incluyen, a modo de ejemplo, 4-hidroxi-1-bencilpiperidina, éster tert-butilico de ácido 4-hidroxipiperidin-1-carboxílico, éster 9H-fluoren-9-ilmetílico de ácido 4-hidroxipiperidin-1-carboxílico, 4-hidroxi-4-metil-1-bencilpiperidina, 2-bencil-2-azabicyclo[2.2.1]heptan-5-ol, 2-bencil-2-azabicyclo[2.2.2]octan-5-ol, 8-bencil-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-ol, 3-bencil-3-azabicyclo[3.2.1]octan-8-ol, 8-bencil-8-azabicyclo[3.2.1]octan-3-ol, 3-bencil-3-azabicyclo[3.3.1]nonan-9-ol, 9-bencil-9-azabicyclo[3.3.1]nonan-3-ol, 8-bencilnortropina y 8-bencilnorpseudotropina.

40

Esta reacción se lleva a cabo típicamente haciendo reaccionar **10** con entre aproximadamente 0,95 y aproximadamente 1,2 equivalentes molares de **11** a una temperatura comprendida entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 100°C (por ejemplo, entre aproximadamente 60°C y aproximadamente 80°C), durante entre aproximadamente 6 horas y aproximadamente 24 horas, o hasta que se haya completado substancialmente la reacción. De manera alternativa, esta reacción puede llevarse a cabo en un diluyente, tal como diclorometano o tolueno. De manera alternativa, esta reacción puede llevarse a cabo en ausencia de un diluyente. Una vez completada la reacción, típicamente, el producto se aísla usando procedimientos convencionales, tales como extracción, recristalización o cromatografía. De manera alternativa, la mezcla de reacción se usa directamente en la siguiente

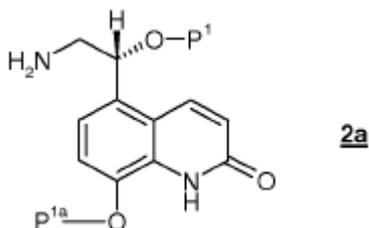
45

etapa de la síntesis, sin aislamiento del producto.

A continuación, se retira el grupo protector de amino, P^6 , usando procedimientos convencionales para proporcionar el compuesto 9. Por ejemplo, cuando P^6 es un grupo bencilo, la reacción de desprotección se lleva a cabo típicamente usando hidrógeno o formiato amónico, en presencia de un catalizador, tal como un catalizador de paladio. Los catalizadores representativos incluyen, a modo de ilustración, paladio sobre carbono o hidróxido de paladio sobre carbono. Esta reacción se lleva a cabo típicamente a una temperatura comprendida entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 50°C (por ejemplo, a aproximadamente 40°C), durante entre aproximadamente 6 horas y aproximadamente 24 horas, o hasta que se haya completado substancialmente la reacción. Típicamente, esta reacción, se lleva a cabo en un diluyente, tal como metanol, etanol o isopropanol. Una vez completada la reacción, típicamente, el compuesto 9 se aísla, usando procedimientos convencionales, tales como extracción, recristalización o cromatografía.

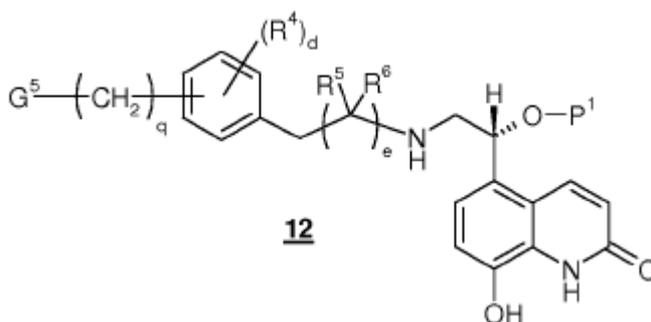
Los compuestos de fórmula 2 son conocidos en la técnica o pueden prepararse a partir de materiales de partida y reactivos comercialmente disponibles, usando procedimientos conocidos. Por ejemplo, la preparación de un compuesto de fórmula 2, en la que P^1 es tert-butildimetilsililo, se describe en la publicación de solicitud de patente US N° 2006/0035931, publicada el 16 de Febrero de 2006. Otros grupos protectores que pueden ser empleados para P^1 incluyen, por ejemplo, dimetilisopropilsililo, dietilisopropilsililo, dimetilhexilsililo, tert-butildifenilsililo y difenilmetsililo.

Además, si se desea, el grupo hidroxilo de 2 puede ser protegido también, es decir, puede usarse un compuesto de fórmula 2a:



en la que P^{1a} es un grupo protector de hidroxilo, tal como un grupo bencilo o 4-metoxibencilo. Por ejemplo, la preparación de un compuesto de fórmula 2a, en la que P^1 es tert-butildimetilsililo y el grupo hidroxilo es protegido como un grupo 4-metoxibencilo se describe en el documento WO 2008/096129. Cuando se usa 2a, los intermedios tales como 3 o 12 contendrán típicamente el grupo P^{1a} . Subsiguientemente, P^{1a} es eliminado usando procedimientos y reactivos convencionales. Por ejemplo, cuando P^{1a} es un grupo bencilo, la reacción de desprotección se lleva a cabo típicamente usando hidrógeno o formiato amónico, en presencia de un catalizador, tal como un catalizador de paladio. Cuando P^{1a} es 4-metoxibencilo, este grupo puede eliminarse bajo condiciones de hidrólisis ácida, tal como 30% de TFA en DCM.

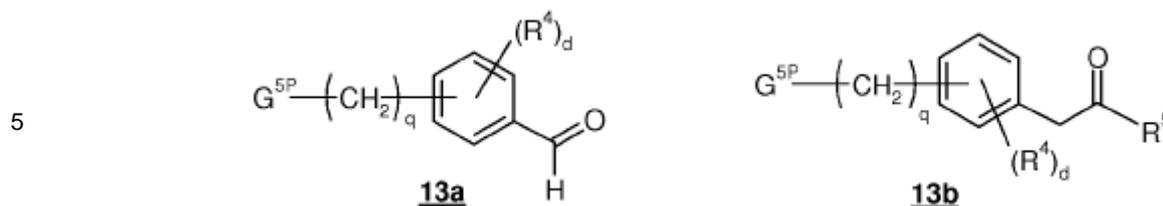
De manera alternativa, los compuestos de fórmula I se preparan acoplado un compuesto de fórmula 5 con un compuesto de fórmula 12:



en la que G^5 es -COOH (cuando G^2 es -NH₂); o G^5 es -NH₂ (cuando G^2 es -COOH).

La reacción de acoplamiento ácido carboxílico - amina entre el compuesto 5 y el compuesto 12 se lleva a cabo típicamente usando reactivos y condiciones de reacción descritas en la presente memoria para acoplar un ácido carboxílico y una amina (por ejemplo, el compuesto 5 y el compuesto 6a o 6b). Una vez completada la reacción, típicamente, el producto se aísla usando procedimientos convencionales, tales como extracción, recristalización o cromatografía. La desprotección del producto resultante (por ejemplo, eliminación de P^1) usando reactivos y condiciones estándar proporciona a continuación un compuesto de fórmula I.

Los compuestos de fórmula **12** se preparan haciendo reaccionar un compuesto de fórmula **2** con un compuesto de fórmula **13a** o **13b**:



en presencia de un agente reductor, en el que G^{5P} se selecciona de entre:

- 10
- $COOP^7$, en el que P^7 es un grupo protector de carboxilo (tal como alquilo C_{1-6} , incluyendo metilo, etilo y n-propilo; o bencilo); y
 - NHP^8 , en el que P^8 es un grupo protector de amino (tal como BOC, Fmoc o Cbz).

De manera alternativa, G^{5P} es un grupo nitro o, $G^{5P}-(CH_2)_q-$ es $NC-(CH_2)_{q,1-}$, en el que el grupo nitro o el grupo ciano se reducen, a continuación, a un grupo amino usando reactivos y procedimientos estándar.

15 La reacción del compuesto **2** con el compuesto **13a** o **13b** se lleva a cabo típicamente usando reactivos y condiciones de reacción descritos en la presente memoria para la alquilación reductora de una amina con un aldehído o cetona (por ejemplo, el compuesto **1** y el compuesto **2**). Una vez completada la reacción, típicamente, el producto se aísla usando procedimientos convencionales, tales como extracción, recristalización o cromatografía.

Los compuestos de fórmula **13a** y **13b** están disponibles comercialmente o pueden prepararse usando variantes rutinarias de procedimientos conocidos en la técnica.

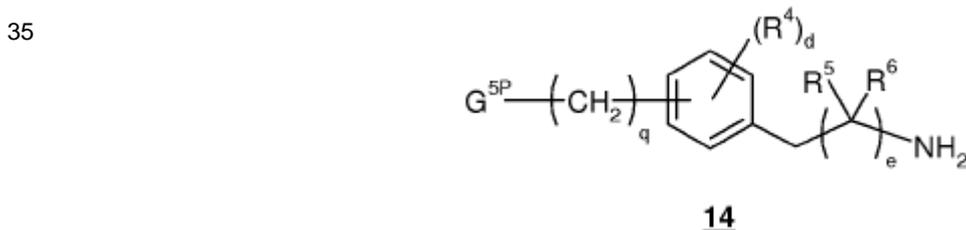
20 Los compuestos representativos de fórmula **13a** incluyen, a modo de ejemplo, 3-formilbenzoato de metilo, 4-formilbenzoato de metilo, (3-formilfenil)acetato de metilo, (4-formilfenil)acetato de metilo, 3-(3-formilfenil)propionato de metilo, 3-(4-formilfenil)propionato de metilo, éster tert-butílico de ácido (3-formilfenil)carbámico, éster tert-butílico de ácido (4-formilfenil)carbámico, éster tert-butílico de ácido (3-formilbencil)carbámico, éster tert-butílico de ácido (4-formilbencil)carbámico, éster tert-butílico de ácido [2-(3-formilfenil)etil]carbámico, éster tert-butílico de ácido [2-(4-formilfenil)etil]carbámico.

25

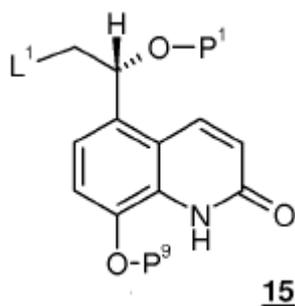
Los compuestos representativos de fórmula **13b** incluyen, a modo de ejemplo, 3-(2-oxoetil)benzoato de metilo, 4-(2-oxoetil)benzoato de metilo, [3-(2-oxoetil)fenil]acetato de metilo, [4-(2-oxoetil)fenil]acetato de metilo, 3-[3-(2-oxoetil)fenil]propionato de metilo, 3-[4-(2-oxoetil)fenil]propionato de metilo, 2-(3-tert-butoxicarbonilaminofenil)acetaldehído, 2-(4-tert-butoxicarbonilaminofenil)-acetaldehído, 2-[3-(tert-butoxicarbonilaminometil)fenil]acetaldehído, 2-[4-(tert-butoxicarbonilaminometil)fenil]acetaldehído, 2-[3-[2-(tert-butoxicarbonilamino)-etil]fenil]acetaldehído y 2-[4-[2-(tert-butoxicarbonilamino)etil]fenil]-acetaldehído.

30

Los compuestos intermedios de fórmula **12** pueden prepararse también haciendo reaccionar un compuesto de fórmula **14**:



40 con un compuesto de fórmula **15**:



en la que L^1 es un grupo saliente, tal como cloro, bromo, yodo, tosilo o nosilo; y P^9 es un grupo protector de hidroxilo, tal como bencilo. A continuación, el producto resultante se desprotege parcialmente (mediante la eliminación de P^7 o P^8 , y P^9), para proporcionar un compuesto de fórmula 12.

La reacción del compuesto 14 con el compuesto 15 es llevada a cabo típicamente haciendo reaccionar un compuesto 14 con entre aproximadamente 0,95 y aproximadamente 1,1 equivalentes molares del compuesto 15 en presencia de una cantidad en exceso de una base. Las bases representativas incluyen, por ejemplo, bicarbonato sódico, carbonato sódico, bicarbonato potásico, carbonato potásico, trialkilaminas (tales como trietilamina, diisopropilamina). Esta reacción se lleva a cabo típicamente a una temperatura comprendida entre aproximadamente 20°C y aproximadamente 120°C (por ejemplo, a aproximadamente 100°C), durante entre aproximadamente 2 horas a aproximadamente 24 horas, o hasta que se haya completado substancialmente la reacción. Típicamente, la reacción se lleva a cabo en un diluyente, tal como N-metil-pirrolidona o acetonitrilo. Si se desea, esta reacción puede facilitarse sometiendo la mezcla de reacción a radiación de microondas (por ejemplo, de 300 vatios). La reacción puede llevarse a cabo también de manera neta, es decir, en ausencia de diluyente. Además, si se desea, puede usarse un exceso de amina 14 en lugar de otra base. Una vez completada la reacción, típicamente, el producto se aísla usando procedimientos convencionales, tales como extracción, recristalización o cromatografía.

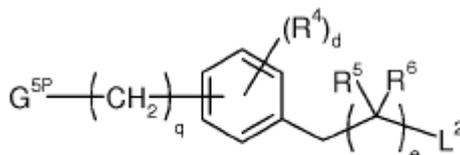
A continuación, el producto resultante se desprotege parcialmente (es decir, se elimina P^7 o P^8 ; y se elimina P^9 , si se desea), para proporcionar un compuesto de fórmula 12. Las condiciones particulares usadas para eliminar los grupos protectores dependerán de los grupos particulares empleados. Por ejemplo, cuando P^7 es alquilo C_{1-4} , dichos grupos son eliminados típicamente mediante la hidrólisis de una fracción éster con una base, tal como hidróxido de litio o hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, en un diluyente, tal como una mezcla de metanol y agua. Esta reacción se lleva a cabo típicamente a temperatura ambiente, durante entre aproximadamente 30 minutos y aproximadamente 24 horas, o hasta que la reacción se haya completado substancialmente. Cuando P^8 es un grupo tert-butoxicarbonilo, este grupo se elimina típicamente bajo condiciones de hidrólisis ácidas, tales como 20% de ácido trifluoroacético en DMC a temperatura ambiente. Cuando P^9 es un grupo bencilo, este grupo se elimina fácilmente mediante hidrogenólisis. Típicamente, esta reacción se lleva a cabo poniendo en contacto el compuesto con hidrógeno en presencia de un catalizador, tal como un catalizador de paladio. Los catalizadores representativos incluyen hidróxido de paladio sobre carbono o paladio sobre carbono. En general, esta reacción de desbencilación se lleva a cabo en presencia de un ácido, tal como ácido acético o ácido fórmico. Esta reacción se lleva a cabo típicamente a una temperatura comprendida entre aproximadamente 10°C y aproximadamente 50°C (por ejemplo, a aproximadamente 25°C), durante entre aproximadamente 6 horas y aproximadamente 24 horas, o hasta que se haya completado substancialmente la reacción. Esta reacción se lleva a cabo típicamente en un diluyente, tal como metanol o etanol. Una vez completada la reacción, típicamente, el producto puede aislarse usando procedimientos convencionales, tales como extracción, recristalización o cromatografía, o puede usarse directamente en la siguiente reacción.

Los compuestos de fórmula 14 son conocidos en la técnica o pueden prepararse a partir de materiales de partida y reactivos comercialmente disponibles, usando procedimientos conocidos. Por ejemplo, los compuestos de fórmula 14 pueden prepararse haciendo reaccionar 13a o 13b con una bencilamina bajo condiciones reductoras de alquilación y, a continuación, eliminando el grupo bencilo mediante hidrogenólisis para proporcionar el compuesto de fórmula 14. Las bencilaminas representativas que pueden usarse incluyen bencilamina, (S)-1-feniletilamina y (R)-1-feniletilamina. En particular, las bencilaminas quirales son útiles para preparar intermedios de fórmula 14 en la que R^5 está presente (es decir, $e = 1$) y el átomo de carbono al cual está unido R^5 tiene una estereoquímica particular (es decir, R o S).

Además, los compuestos de fórmula 14 en la que R^5 y R^6 son independientemente metilo o etilo (es decir, no son hidrógeno) son conocidos en la técnica o pueden prepararse usando procedimientos rutinarios, tal como se ejemplifica mediante las enseñanzas de la publicación de solicitud de patente US 2005/0171147 A1, publicada el 4 de Agosto de 2005; la publicación de solicitud de patente US 2005/0277632 A1, publicada el 15 de Diciembre de 2005; y el documento WO 2005/092861 A1, publicado el 6 de Octubre de 2005.

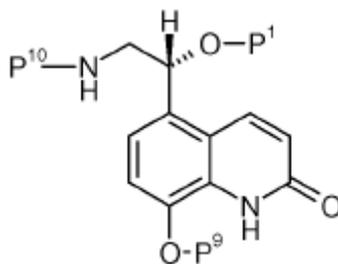
Los compuestos de fórmula **15** son también conocidos en la técnica o pueden prepararse a partir de materiales de partida y reactivos disponibles comercialmente, usando procedimientos conocidos. Por ejemplo, la preparación de un compuesto de fórmula **15**, en la que L^1 es bromo; P^1 es tert-butildimetilsililo y P^9 es bencilo, se describe en la publicación de la solicitud de patente US N° 2006/0035931, publicada el 16 de Febrero de 2006.

5 De manera alternativa, los compuestos de fórmula **12** se preparan haciendo reaccionar un compuesto de fórmula **16**:

**16**

10

con un compuesto de fórmula **17**:

**17**

15

en la que L^2 es un grupo saliente, tal como cloro, bromo, yodo, tosilo o nosilo; y P^{10} es un grupo protector de amino, tal como bencilo. En esta realización, R^5 v R^6 , cuando están presentes, son típicamente hidrógeno. Esta reacción se lleva a cabo bajo condiciones similares a las descritas para la reacción de **14** y **15**. Los compuestos de fórmula **16** o **17** son conocidos en la técnica o pueden prepararse a partir de materiales de partida y reactivos disponibles comercialmente, usando procedimientos conocidos. Por ejemplo, la preparación de un compuesto de fórmula **17**, en la que P^1 es tert-butildimetilsililo, P^9 es bencilo y P^{10} es bencilo se describe en la publicación de la solicitud de patente US N° 2006/0035931, publicada el 16 de Febrero de 2006.

20

25 Si se desea, una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de fórmula la se prepara poniendo en contacto la forma de base libre del compuesto de fórmula la con un ácido farmacéuticamente aceptable.

En los ejemplos que se proporcionan a continuación, se describen detalles adicionales relacionados con las condiciones de reacción específicas y otros procedimientos para la preparación de compuestos representativos de la presente invención, o intermedios de los mismos.

30 Composiciones, combinaciones y formulaciones farmacéuticas

Los compuestos de fórmula la pueden formularse con un vehículo o excipiente para formar una composición o formulación farmacéutica. Dichas composiciones farmacéuticas contendrán típicamente una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula la. En algunos casos, sin embargo, la composición farmacéutica puede contener una cantidad superior a una cantidad terapéuticamente efectiva, por ejemplo, una composición a granel concentrada; o una cantidad inferior a una cantidad terapéuticamente efectiva, por ejemplo, dosis unitarias individuales diseñadas para administraciones múltiples para conseguir una cantidad terapéuticamente efectiva.

35

Típicamente, la composición farmacéutica contendrá una cantidad comprendida entre el 0,01 y aproximadamente el 95% en peso de un compuesto de fórmula la, incluyendo, por ejemplo, entre aproximadamente el 0,01% y aproximadamente el 30%, en peso, o entre aproximadamente el 0,1 y aproximadamente el 10% en peso, o entre aproximadamente el 0,01 y aproximadamente el 1% en peso.

40

Dichas composiciones farmacéuticas se preparan típicamente usando vehículos y excipientes convencionales. La elección de un vehículo o excipiente particular, o combinaciones de vehículos o excipientes, dependerá de diversos factores, tales como la forma o el modo de administración para la composición, o la afección médica, o estado de enfermedad que se esté tratando. Muchos vehículos y excipientes adecuados para preparar las composiciones farmacéuticas están comercialmente disponibles. Por ejemplo, dichos materiales pueden adquirirse en Sigma (St. Louis, MO). Los procedimientos y los materiales para preparar las composiciones farmacéuticas adecuadas para un

45

modo de administración particular se describen en la técnica farmacéutica, incluyendo, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy, 20th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (2000); y H.C. Ansel et al., Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems, 7th Edition, Lippincott Williams & White, Baltimore, Maryland (1999).

5 Los ejemplos representativos de materiales que pueden servir como vehículos farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, los siguientes: (1) azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; (4) goma tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao, y ceras para supositorios; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de semilla de soja, (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes tampón, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido alginico; (16) agua libre de pirógenos; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones tampón fosfato; (21) gases propelentes comprimidos, tales como clorofluorocarbonos e hidrofluorocarbonos; y (22) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en las composiciones farmacéuticas.

La composición farmacéutica de la presente invención se prepara típicamente mezclando o batiendo, de manera concienzuda e íntima, un compuesto de fórmula la con un vehículo farmacéuticamente aceptable y cualquier ingrediente opcional. Si es necesario o si se desea, a continuación, la mezcla resultante, mezclada uniformemente, puede conformarse o cargarse en comprimidos, cápsulas, píldoras, recipientes, cartuchos o dispensadores usando procedimientos y equipos convencionales.

En una realización, la composición farmacéutica es adecuada para la administración mediante inhalación. Las composiciones farmacéuticas para la administración mediante inhalación estarán típicamente en forma de un aerosol o en forma de polvo. En general, dichas composiciones se administran usando dispositivos de administración bien conocidos, tales como un inhalador nebulizador, un inhalador de dosis dosificada (MDI), un inhalador de materia seca en polvo (DPI) o dispositivos de administración similares.

En una realización particular, la composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico se administra mediante inhalación usando un inhalador nebulizador. Típicamente, dichos dispositivos nebulizadores producen una corriente de aire a alta velocidad que causa que la composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico sea proyectada mediante pulverización como una neblina que es transportada a las vías respiratorias del paciente. Por consiguiente, cuando se formula para su uso en un inhalador nebulizador, el agente terapéutico se disuelve típicamente en un vehículo adecuado para formar una solución. De manera alternativa, el agente terapéutico puede micronizarse y combinarse con un vehículo adecuado, para formar una suspensión de partículas micronizadas. Los dispositivos nebulizadores adecuados para la administración de agentes terapéuticos mediante inhalación están descritos en la técnica, o dichos dispositivos están disponibles comercialmente. Por ejemplo, los dispositivos o productos nebulizadores representativos incluyen el inhalador Respimat Softmist Inhaler (Boehringer Ingelheim); el sistema AERx Pulmonary Delivery System (Aradigm Corp.) y el nebulizador PARI LC Plus Reusable Nebulizer (Pari GmbH).

Una composición farmacéutica representativa para su uso en un inhalador nebulizador comprende una solución acuosa isotónica que comprende de aproximadamente 0,05 µg/ml a aproximadamente 10 mg/ml de un compuesto de fórmula la. En una realización, la solución tiene un pH de aproximadamente 4 a aproximadamente 6.

En otra realización particular, la composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico se administra mediante inhalación usando un inhalador de materia seca en polvo. Típicamente, dichos inhaladores de materia seca en polvo administran el agente terapéutico como una materia en polvo que fluye libremente que se dispersa en la corriente de aire de un paciente durante la inspiración. Con el fin de conseguir una materia en polvo que fluya libremente, típicamente, el agente terapéutico se formula con un excipiente adecuado, tal como lactosa, almidón, manitol, dextrosa, ácido poliacético (PLA), poliláctido-co-glicólido (PLGA) o sus combinaciones. Típicamente, el agente terapéutico se microniza y se combina con un vehículo adecuado para formar una mezcla adecuada para la inhalación. Por consiguiente, en una realización, el compuesto de fórmula la está en forma micronizada.

Una composición farmacéutica representativa para su uso en un inhalador de materia seca en polvo que comprende lactosa molida seca y partículas micronizadas de un compuesto de fórmula la.

Dicha formulación en polvo seco puede realizarse, por ejemplo, combinando la lactosa con el agente terapéutico y, a continuación, mezclando en seco los componentes. De manera alternativa, si se desea, el agente terapéutico puede formularse sin un excipiente. A continuación, la composición farmacéutica se carga en el interior del dispensador de materia en polvo, seca, o en el interior de cartuchos o cápsulas de inhalación para su uso con un dispositivo de administración de materia en polvo, seca.

Los dispositivos de administración de tipo inhalador de materia en polvo seca, adecuados para la administración de agentes terapéuticos mediante inhalación, se describen en la técnica o dichos dispositivos están disponibles comercialmente. Por ejemplo, los dispositivos o productos de administración de tipo inhalador de materia en polvo seca incluyen Aeolizer (Novartis); Airmax (IVAX); ClickHaler (Innovata Biomed); Diskhaler (GlaxoSmithKline); Diskus/Accuhaler (GlaxoSmithKline); Easyhaler (Orion Pharma); Eclipse (Aventis); FlowCaps (Hovione); Handihaler (Boehringer Ingelheim); Pulvinal (Chiesi); Rotahaler (GlaxoSmithKline); SkyeHaler/Certhaler (SkyePharma); Twisthaler (Schering-Plough); Turbuhaler (AstraZeneca); y Ultrahaler (Aventis).

En todavía otra realización particular, la composición farmacéutica que comprende el agente terapéutico se administra mediante inhalación usando un inhalador de dosis dosificada. Típicamente, dichos inhaladores de dosis dosificada descargan una cantidad dosificada del agente terapéutico usando un gas propelente comprimido. Por consiguiente, las composiciones farmacéuticas administradas usando un inhalador de dosis dosificada comprenden una solución o suspensión del agente terapéutico en un propelente licuado. Puede emplearse cualquier propelente licuado, incluyendo hidrofluoroalcanos (HFAs), tales como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA 134a) y 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoro-n-propano, (HFA 227); y clorofluorocarbonos, tales como CCl₃F. En una realización particular, el propelente es hidrofluoroalcanos. En algunas realizaciones, la formulación de hidrofluoroalcano contiene un co-disolvente, tal como etanol o pentano, y/o un tensioactivo, tal como triolato de sorbitán, ácido oleico, lecitina y glicerina.

Una composición farmacéutica representativa para su uso en un inhalador de dosis dosificada comprende de aproximadamente el 0,01% a aproximadamente el 5% en peso de un compuesto de fórmula Ia; de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 20% en peso de etanol; y de aproximadamente el 0% a aproximadamente el 5% en peso de tensioactivo; siendo el resto un propelente de HFA.

Típicamente, dichas composiciones se preparan añadiendo un hidrofluoroalcano enfriado o presurizado a un recipiente adecuado que contiene el agente terapéutico, etanol (si está presente) y el tensioactivo (si está presente). Para preparar una suspensión, el agente terapéutico se microniza y, a continuación, se combina con el propelente. A continuación, se carga la formulación en una lata o bote de aerosol, que forma típicamente una parte de un dispositivo inhalador de dosis dosificada.

Los dispositivos inhaladores de dosis dosificadas adecuados para la administración de agentes terapéuticos mediante inhalación se describen en la técnica o dichos dispositivos están disponibles comercialmente. Por ejemplo, los dispositivos o productos inhaladores de dosis dosificadas representativos incluyen AeroBid Inhaler System (Forest Pharmaceuticals); Atrovent Inhalation Aerosol (Boehringer Ingelheim); Flovent (GlaxoSmithKline); Maxair Inhaler (3M); Proventil Inhaler (Schering); y Serevent Inhalation Aerosol (GlaxoSmithKline).

En otra realización, la composición farmacéutica es adecuada para la administración oral. Las composiciones farmacéuticas adecuadas para la administración oral pueden tener forma de cápsulas, comprimidos, píldoras, pastillas, comprimidos, gráneas, polvos, gránulos; o forma de una solución o suspensión, en un líquido acuoso o no acuoso; o forma de una emulsión de tipo aceite en agua o de tipo agua en aceite; o forma de elixir o jarabe; cada una conteniendo una cantidad predeterminada de un ingrediente activo.

Cuando la composición farmacéutica está prevista para la administración oral en una forma de dosificación sólida (es decir, como cápsulas, comprimidos o píldoras), típicamente, la composición farmacéutica comprenderá un compuesto de fórmula Ia y uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables, tales como citrato sódico o fosfato dicálcico. De manera opcional o alternativa, dichas formas de dosificación sólida pueden comprender también: (1) cargas o extensores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; (2) ligantes, tales como carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o acacia; (3) humectantes, tales como glicerol; (4) agentes desintegrantes, tales como agar-agar, carbonato cálcico, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y/o carbonato sódico; (5) agentes retardantes de solución, tales como parafina; (6) acelerantes de absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; (7) agentes hidratantes, tales como alcohol cetílico y/o monoestearato de glicerol; (8) absorbentes, tales como caolín y/o arcilla de bentonita; (9) lubricantes, tales como talco, estearato cálcico, estearato magnésico, polietilenglicoles sólidos, lauril-sulfato sódico y/o sus mezclas; (10) agentes colorantes; y (11) agentes tampón.

Puede haber presentes también agentes de liberación, agentes humectantes, agentes de revestimiento, edulcorantes, saborizantes y perfumantes, conservantes y antioxidantes en la composición farmacéutica. Los ejemplos de antioxidantes farmacéuticamente aceptables incluyen a: (1) antioxidantes solubles en agua, tales como ácido ascórbico, clorhidrato de cisteína, bisulfato sódico, metabisulfito sódico y sulfito sódico; (2) antioxidantes solubles en aceite, tales como palmitato de ascorbilo, hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), lecitina, galato de propilo y alfa-tocoferol; y (3) agentes quelantes de metales, tales como ácido cítrico, ácido etilendiamin-tetraacético (EDTA), sorbitol, ácido tartárico y ácido fosfórico. Los agentes de revestimiento para comprimidos, cápsulas o píldoras, incluyen aquellos usados para revestimientos entéricos, tales como ftalato-acetato de celulosa (CAP), ftalato-acetato de polivinilo (PVAP), ftalato de hidroxipropilmetilcelulosa, copolímeros de ácido metacrílico - éster de ácido metacrílico, acetato-trimelitato de celulosa (CAT), carboximetilcelulosa (CMEC) y acetato-succinato de hidroxipropilmetilcelulosa

(HPMCAS).

Si se desea, la composición farmacéutica puede formularse también para proporcionar una liberación lenta o controlada del agente activo usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa, en proporciones variables, u otras matrices de polímeros, liposomas y/o microsferas.

- 5 Además, la composición farmacéutica puede contener opcionalmente un agente opacificante, y puede formularse de manera que el ingrediente activo sea liberado primariamente en una parte determinada del tracto gastrointestinal o de una manera retardada. Los ejemplos de composiciones integradas que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. El ingrediente activo o una composición farmacéutica que contiene los ingredientes activos puede estar también en una forma micro-encapsulada.
- 10 Las formas de dosificación líquidas adecuadas para la administración oral incluyen, a modo de ilustración, emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Dichas formas de dosificación líquidas comprenden el ingrediente activo y un diluyente inerte, tal como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (especialmente, aceite de semilla de algodón, aceite de cacahuete, aceite de maíz, aceite de germen, aceite de oliva, aceite de ricino y aceite de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitán y sus mezclas. Las suspensiones, pueden contener, además del ingrediente activo, agentes de suspensión, tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilensorbitol y ésteres de sorbitán, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y goma de tragacanto y sus mezclas.
- 15
- 20 Cuando está prevista para la administración oral, la composición farmacéutica puede envasarse en una forma de dosificación unitaria. La expresión "forma de dosificación unitaria" significa una unidad físicamente discreta adecuada para dosificar a un paciente, es decir, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de agente activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado bien sola o en combinación con una o más unidades adicionales. Por ejemplo, dicha una forma de dosificación unitaria puede ser una cápsula, un comprimido o una píldora.
- 25 Los compuestos de la fórmula la pueden administrarse también transdérmicamente usando sistemas y excipientes de administración transdérmica conocidos. Por ejemplo, el compuesto puede mezclarse con potenciadores de permeación, tales como propilenglicol, monolaurato de polietilenglicol o azacicloalcan-2-onas, y puede incorporarse en un parche o un sistema de suministro similar. Si se desea, pueden usarse excipientes adicionales, incluyendo agentes gelificantes emulsionantes y tampones, en dichas composiciones transdérmicas.
- 30 Además, un compuesto de fórmula la puede administrarse también parenteralmente, es decir, por vía intravenosa, subcutánea o intramuscular. Para la administración parenteral, un compuesto de fórmula la se disuelve típicamente en un vehículo aceptable para la administración parenteral, tal como agua estéril, solución salina o aceite vegetal. A modo de ilustración, una composición intravenosa comprende típicamente una solución acuosa estéril de un compuesto de fórmula la, en la que la solución tiene un pH comprendido entre aproximadamente 4 y aproximadamente 7.
- 35 Si se desea, un compuesto de fórmula la puede administrarse en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, distintos. En este aspecto de la invención, un compuesto de fórmula la se mezcla físicamente con el otro agente terapéutico para formar una composición que contiene ambos agentes; o cada agente está presente en composiciones separadas y distintas que se administran al paciente simultánea o secuencialmente.
- 40 Por ejemplo, un compuesto de fórmula la puede combinarse con un segundo agente terapéutico usando procedimientos y equipos convencionales para formar una composición que comprende un compuesto de fórmula la y un segundo agente terapéutico. Además, los agentes terapéuticos pueden combinarse con un vehículo farmacéuticamente aceptable para formar una composición farmacéuticamente aceptable que comprende un compuesto de fórmula la, un segundo agente terapéutico y un vehículo farmacéuticamente aceptable. En esta realización, los componentes de la composición se mezclan o se batan típicamente para crear una mezcla física. A
- 45 continuación, la mezcla física se administra en una cantidad terapéuticamente efectiva usando cualquiera de las vías descritas en la presente memoria.
- De manera alternativa, los agentes terapéuticos pueden permanecer separados y distintos antes de la administración al paciente. En esta realización, los agentes terapéuticos no se mezclan físicamente entre sí antes de la administración, sino que se administran simultánea o secuencialmente como composiciones separadas. Por ejemplo, un compuesto de
- 50 fórmula la puede administrarse mediante inhalación simultánea o secuencialmente con otro agente terapéutico usando un dispositivo de administración de tipo inhalación que emplea compartimientos separados (por ejemplo, envases de ampollas) para cada agente terapéutico. De manera alternativa, la combinación puede administrarse usando dispositivos de administración separados, es decir, un dispositivo de administración para cada agente terapéutico. Además, los agentes terapéuticos pueden administrarse mediante diferentes rutas de administración, es decir, uno de
- 55 ellos mediante inhalación y el otro mediante administración oral.

Puede usarse cualquier agente terapéutico compatible con los compuestos de fórmula la en combinación con dichos compuestos. En una realización particular, el segundo agente terapéutico es uno que se administra de manera efectiva mediante inhalación. A modo de ilustración, los tipos representativos de agentes terapéuticos que pueden usarse con los compuestos de las realizaciones incluyen, pero no se limitan a, agentes antiinflamatorios, tales como los agentes antiinflamatorios esteroideos (incluyendo corticosteroides y glucocorticoides), agentes antiinflamatorios no esteroideos (NSAIDs) e inhibidores de PDE₄; broncodilatadores, tales como inhibidores de PDE₃, moduladores de adenosina 2b y agonistas del receptor β_2 adrenérgico; agentes anti-infectivos, tales como antibióticos Gram-positivos, antibióticos Gram-negativos y agentes anti-virales; antihistaminas; inhibidores de proteasa, bloqueantes aferentes, tales como agonistas D₂ y moduladores de neuroquinina; y antagonistas del receptor muscarínico (agentes anticolinérgicos). Numerosos ejemplos de dichos agentes terapéuticos son conocidos en la técnica. Las dosis adecuadas de los otros agentes terapéuticos administrados en combinación con el compuesto de la invención están comprendidas típicamente en el intervalo entre aproximadamente 0,05 $\mu\text{g}/\text{día}$ y aproximadamente 500 $\text{mg}/\text{día}$.

En una realización particular, un compuesto de fórmula la se administra en combinación con un agente antiinflamatorio esteroideo. Los ejemplos representativos de agentes antiinflamatorios esteroideos que pueden usarse en combinación con los compuestos de las realizaciones incluyen, pero no se limitan a, dipropionato de beclometasona; budesonida; propionato de butixocort; 20R-16 α ,17 α -[butilidenebis(oxi)]-6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-17 β -(metiltio)androsta-4-en-3-ona (RPR-106541); ciclesonida; dexametasona; S-fluorometil-éster de ácido 6 α ,9 α -difluoro-17 α -[(2-furanilcarbonyl)oxi]-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxoandrosta-1,4-dien-17 β -carbotoiico; S-fluorometil-éster de ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-17 α -[(4-metil-1,3-tiazol-5-carbonyl)oxi]-3-oxoandrosta-1,4-dien-17 β -carbotoiico; (S)-(2-oxotetrahidrofuran-3S-il) éster de ácido 6 α ,9 α -difluoro-11 β -hidroxi-16 α -metil-3-oxo-17 α -propioniloxiandrosta-1,4-dien-17 β -carbotoiico; flunisolida; furoato de fluticasona, propionato de fluticasona; metil prednisolona; furoato de mometasona; prednisolona; prednisona; rofleponida; ST-126 y triamcinolona acetona; o sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables. Dichos agentes antiinflamatorios esteroideos están disponibles comercialmente o pueden prepararse usando procedimientos y reactivos convencionales. Por ejemplo, la preparación y el uso de agentes antiinflamatorios esteroideos se describe en la patente US N° 6.537.983 B2, expedida el 25 de Marzo de 2003, la patente US N° 6.750.210 B2, expedida el 5 de Junio de 2004; la patente US N° 6.759.398 B2, expedida el 6 de Julio de 2004; la patente US N° 6.858.596 B2, expedida el 22 de Febrero de 2005; la patente US N° 7.101.866 B2, expedida el 5 de Septiembre de 2006; y en las referencias que se citan en dichos documentos.

Cuando se emplea, el agente anti-inflamatorio esteroideo se administra típicamente en una cantidad que produce un efecto terapéuticamente beneficioso cuando se administra junto con un compuesto de las realizaciones. Típicamente, el agente antiinflamatorio antiesteroideo se administrará en una cantidad suficiente para proporcionar de aproximadamente 0,05 μg a aproximadamente 500 μg por dosis.

Los ejemplos siguientes ilustran composiciones farmacéuticas representativas:

A. Composición de materia en polvo seca

Un compuesto micronizado de fórmula la (100 mg) se mezcla con lactosa molida (25 g) (por ejemplo, lactosa en la que no más de aproximadamente el 85% de las partículas tiene un MMD de aproximadamente 60 μm a aproximadamente 90 μm , y no menos del 15% de las partículas tienen un MMD menor de 15 μm). A continuación, esta mezcla batida se carga en ampollas individuales de un envase de empollas removible en una cantidad suficiente para proporcionar de aproximadamente 10 μg a aproximadamente 500 μg del compuesto de fórmula la por cada dosis. Los contenidos de las ampollas se administran usando un inhalador de materia en polvo, seca.

B. Composición de materia en polvo seca

Un compuesto micronizado de fórmula la (1 g) se mezcla con lactosa molida (200 g) para formar una composición a granel que tiene una relación de pesos de compuesto con respecto a latosa molida de 1:200. La composición mezclada se envasa en un dispositivo inhalador de material en polvo capaz de administrar de aproximadamente 10 μg a aproximadamente 500 μg del compuesto de fórmula la por cada dosis.

C. Composición de materia en polvo seca

Un compuesto micronizado de fórmula la (100 mg) y un agente antiinflamatorio esteroideo micronizado (500 mg) se mezclan con lactosa molida (30 g). A continuación, esta mezcla batida se carga en ampollas individuales de un envase de empollas removible en una cantidad suficiente para proporcionar de aproximadamente 10 μg a aproximadamente 500 μg del compuesto de fórmula la por cada dosis. Los contenidos de las ampollas se administran usando un inhalador de materia en polvo, seca.

D. Composición para inhalador de dosis dosificada

Un compuesto micronizado de la fórmula la (10 g) se dispersa en una solución preparada disolviendo lecitina (0,2 g) en agua desmineralizada (200 ml). La suspensión resultante se seca mediante pulverización y, a continuación, se

microniza para formar una composición micronizada que comprende partículas que tienen un diámetro medio menor de aproximadamente 1,5 μm . A continuación, la composición micronizada se carga en el interior de cartuchos de inhalador de dosis dosificada que contienen 1,1,1,2-tetrafluoroetano presurizado en una cantidad suficiente para proporcionar de aproximadamente 10 μg a aproximadamente 500 μg del compuesto de la fórmula la por cada dosis cuando se administra mediante el inhalador de dosis dosificada.

E. Composición para nebulizador

Un compuesto de fórmula la (25 mg) se disuelve en una solución salina isotónica (125 ml), tamponada con citrato (pH 5). La mezcla se agita y se sonifica hasta que se haya disuelto el compuesto. El pH de la solución se comprueba y se ajusta, si es necesario, a pH 5, añadiendo lentamente hidróxido sódico acuoso 1 N. La solución se administra usando un dispositivo nebulizador que proporciona de aproximadamente 10 μg a aproximadamente 500 μg del compuesto de fórmula la por cada dosis.

F. Cápsulas de gelatina dura

Un compuesto de fórmula la (50 g), lactosa secada mediante pulverización (440 g) y estearato magnésico (10 g) se mezclan íntimamente. A continuación, la composición resultante se carga en una cápsula de gelatina dura (500 mg de composición por cada cápsula), que se administra oralmente.

G. Composición inyectable

Un compuesto de fórmula la (0,2 g) se mezcla con una solución tampón 0,4 M de acetato sódico (2,0 ml). El pH de la solución resultante se ajusta a pH 4 usando ácido clorhídrico acuoso 0,5 N, o hidróxido sódico acuoso 0,5 N, según sea necesario y, a continuación, se añade suficiente agua para la inyección para proporcionar un volumen total de 20 ml. A continuación, la mezcla se filtra a través de un filtro estéril (0,22 micrómetros) para proporcionar una solución estéril, adecuada para la administración mediante inyección

Utilidad

Los compuestos de la fórmula la poseen actividad antagonista del receptor muscarínico y actividad agonista del receptor β_2 adrenérgico y, por lo tanto, se espera que dichos compuestos sean útiles como agentes terapéuticos para tratar afecciones médicas mediadas por receptores muscarínicos y/o receptores β_2 adrenérgicos, es decir, afecciones médicas que se mejoran o se moderan mediante el tratamiento con un antagonista del receptor muscarínico o con un agonista del receptor β_2 adrenérgico. Las personas con conocimientos ordinarios en la materia conocen bien dichas afecciones médicas, tal y como se ejemplifica por las enseñanzas de Eglen et al., Muscarinic Receptor Subtypes: Pharmacology and Therapeutic Potential, DN&P 10(8), 462-469 (1997); Emilien et al., en Current Therapeutic Uses and Potential of beta-Adrenoceptor Agonists and Antagonists, European J. Clinical Pharm., 53(6), 389-404 (1998); y las referencias citadas en dichos documentos. Dichas afecciones médicas incluyen, a modo de ejemplo, trastornos o enfermedades pulmonares asociados con la obstrucción reversible de las vías respiratorias, tales como enfermedad pulmonar obstructiva crónica (por ejemplo, bronquitis crónica y sibilante o ruidosa y enfisema), asma, fibrosis pulmonar, síndrome de distrés respiratorio en adulto/agudo (ARDS), obstrucción respiratoria crónica, hiperactividad bronquial, rinitis alérgica, pneumoconiosis (tal como aluminosis, antracosis, asbestosis, calicosis, ptilosis, siderosis, silicosis, tabacosis y bisinosis) y otros trastornos pulmonares de origen desconocido que se benefician de la broncodilatación inducida por agentes terapéuticos. Además, otras afecciones o trastornos que se conoce que son tratables, al menos en parte, con un antagonista del receptor muscarínico o un agonista del receptor β_2 adrenérgico incluyen fatiga prematura, depresión, fallo cardíaco congestivo, enfermedades de la piel (por ejemplo, enfermedades inflamatorias, alérgicas, psoriáticas y proliferativas de la piel), afecciones en las que se desea disminuir la acidez péptica (por ejemplo, ulceración péptica y gástrica) y enfermedad de pérdida muscular.

Por consiguiente, la presente invención encuentra utilidad en un procedimiento para tratar un trastorno pulmonar, comprendiendo el procedimiento la administración a un paciente en necesidad de tratamiento de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula la. Cuando se usan para tratar un trastorno pulmonar, los compuestos de fórmula la se administrarán típicamente mediante inhalación en múltiples dosis por día, en una dosis individual por día o en una dosis individual por semana. En general, se espera que la dosis para el tratamiento de un trastorno pulmonar será de aproximadamente 10 $\mu\text{g}/\text{día}$ a aproximadamente 1.500 $\mu\text{g}/\text{día}$, tal como aproximadamente 25 $\mu\text{g}/\text{día}$ a aproximadamente 1.000 $\mu\text{g}/\text{día}$, incluyendo aproximadamente 50 $\mu\text{g}/\text{día}$ a aproximadamente 500 $\mu\text{g}/\text{día}$.

La presente invención encuentra utilidad también en un procedimiento para tratar la enfermedad pulmonar obstructiva crónica o el asma, comprendiendo el procedimiento la administración a un paciente de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de fórmula la. En general, se espera que la dosis para tratar la COPD o el asma será de aproximadamente 10 $\mu\text{g}/\text{día}$ a aproximadamente 1.500 $\mu\text{g}/\text{día}$. Las personas con conocimientos ordinarios en la técnica entienden que el término "COPD" (Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Enfermedad pulmonar obstructiva crónica). incluye una diversidad de afecciones respiratorias, incluyendo bronquitis obstructiva crónica y enfisema, tal

como se ejemplifica por las enseñanzas de Barnes, Chronic Obstructive Pulmonary Disease, N. Engl. J. Med., 2000: 343:269-78, y en las referencias citadas en dichos documentos.

5 Cuando se administran mediante inhalación, los compuestos de fórmula la tienen típicamente el efecto de producir broncodilatación. Por consiguiente, la presente invención encuentra utilidad además en un procedimiento de producción de broncodilatación en un mamífero, comprendiendo el procedimiento la administración a un mamífero de una cantidad productora de broncodilatación del compuesto de fórmula la. En general, la dosis para producir la broncodilatación estará comprendida entre aproximadamente 10 µg/día y aproximadamente 1.500 µg/día.

10 De manera opcional, cuando se usan como un agente terapéutico, los compuestos de la presente invención se administran en combinación con otro u otros agentes terapéuticos. En particular, mediante la administración de los compuestos de fórmula la con un agente anti-inflamatorio esteroideo, se espera una triple terapia, es decir, actividad antagonista del receptor muscarínico, actividad agonista del receptor β_2 adrenérgico y actividad antiinflamatoria, usando únicamente dos agentes terapéuticos. Debido a que las composiciones (y combinaciones) farmacéuticas que contienen dos agentes terapéuticos son típicamente más fáciles de formular y/o administrar en comparación con las composiciones que contienen tres agentes terapéuticos, dichas composiciones de dos componentes proporcionan una ventaja significativa con respecto a las composiciones que contienen tres agentes terapéuticos. Por consiguiente, en realizaciones particulares, las composiciones, combinaciones y procedimientos farmacéuticos de la presente invención comprenden además un agente antiinflamatorio esteroideo.

20 Debido a que los compuestos de fórmula la poseen tanto actividad antagonista del receptor muscarínico como actividad agonista del receptor β_2 adrenérgico, dichos compuestos son útiles también como herramientas de investigación para investigar o estudiar sistemas biológicos o muestras que tengan receptores muscarínicos o receptores β_2 adrenérgicos. Además, dichos compuestos son útiles en ensayos de cribado para descubrir, por ejemplo, nuevos compuestos que tengan tanto actividad antagonista del receptor muscarínico como actividad agonista del receptor β_2 adrenérgico. Los sistemas o muestras biológicas empleados pueden comprender receptores muscarínicos o receptores β_2 adrenérgicos, o ambos. Cualquier sistema biológico o muestra biológica que tenga receptores muscarínicos y/o receptores β_2 adrenérgicos puede emplearse en dichos estudios, que pueden realizarse *in vitro* o *in vivo*. Los sistemas o muestras biológicas adecuados para dichos estudios incluyen, pero no se limitan a, células, extractos celulares, membranas plasmáticas, muestras de tejidos o mamíferos (tales como ratones, ratas, conejillos de indias, conejos, perros, cerdos, etc.).

30 Cuando se usa como herramienta de investigación, típicamente, un sistema o muestra biológica que comprende un receptor muscarínico y/o un receptor β_2 adrenérgico se pone en contacto con una cantidad antagonista del receptor muscarínico o agonista del receptor β_2 adrenérgico de un compuesto de fórmula I. A continuación, los efectos sobre el sistema biológico o muestra biológica producidos por el compuesto se determinan o se miden usando procedimientos o equipos convencionales, tales como mediante la medición de unión, en ensayos de unión de radioligandos o cambios mediados por ligandos en un ensayo funcional o mediante la determinación de la cantidad de broncoprotección proporcionada por el compuesto en un ensayo de broncoprotección en un mamífero. Los ensayos funcionales representativos incluyen cambios mediados por ligandos, en adenosín monofosfato cíclico intracelular (cAMP); cambios mediados por ligandos en la actividad de la enzima adenilil ciclasa (que sintetiza cAMP); cambios mediados por ligandos en la incorporación del 5'-O)-(tio)fosfato de guanosina ($[^{35}\text{S}]\text{GTP S}$) en membranas aisladas vía intercambio catalizado por receptor de $[^{35}\text{S}]\text{GTP S}$ para GDP; cambios mediados por ligandos en los iones de calcio intracelular libre (medidos, por ejemplo, con un lector de placa de imágenes ligado a fluorescencia o un dispositivo FLIPR[®] de Molecular Devices, Inc.). Se espera que el compuesto de fórmula la antagonice o disminuya la activación de un receptor muscarínico o agonice o cause la activación de un receptor β_2 adrenérgico y en los ensayos funcionales enumerados en la presente memoria o en ensayos de una naturaleza similar. El compuesto de fórmula la se usará típicamente en estos estudios en una concentración comprendida entre aproximadamente 0,1 nanomolar y aproximadamente 100 nanomolar.

45 Además, el compuesto de fórmula la puede ser usado como herramienta de investigación para evaluar otros compuestos químicos. En un aspecto, el compuesto de fórmula la se usa como estándar en un ensayo para permitir la comparación de los resultados obtenidos con un compuesto de ensayo y el compuesto de fórmula la. Por ejemplo, los datos de unión del receptor muscarínico y/o del receptor β_2 adrenérgico (según se determinan, por ejemplo, en ensayos *in vitro* de desplazamiento de radioligandos) para un compuesto de ensayo o para un grupo de compuestos de ensayo se comparan con los datos de unión del receptor muscarínico y/o del receptor β_2 adrenérgico para un compuesto de fórmula la para identificar aquellos compuestos de ensayo que tienen una unión deseable, es decir, compuestos de ensayo que tienen una unión aproximadamente igual o superior al compuesto de fórmula la, si hay alguno. De manera alternativa, por ejemplo, pueden determinarse los efectos broncoprotectores para los compuestos de ensayo y un compuesto de fórmula la en un ensayo de broncoprotección en un mamífero, y estos datos pueden compararse para identificar los compuestos de ensayo que proporcionan unos efectos broncoprotectores o una duración de la acción aproximadamente iguales o superiores. Puede conseguirse tanto (i) la generación de datos de comparación (usando ensayos apropiados) como (ii) el análisis de los datos de ensayo para identificar compuestos de ensayo de interés.

Las propiedades y la utilidad de los compuestos de fórmula la pueden demostrarse usando diversos ensayos *in vitro* e *in vivo*, conocidos por las personas con conocimientos ordinarios en la técnica. Por ejemplo, los ensayos representativos se describen en mayor detalle en los ejemplos siguientes.

Ejemplos

5 Los ejemplos siguientes se proporcionan para ilustrar diversas realizaciones y aspectos de la presente invención y no pretenden limitar, en modo alguno, el alcance de la presente invención, a menos que se indique específicamente lo contrario.

10 Todos los reactivos, materiales de partida y disolventes usados en los ejemplos siguientes se adquirieron a partir de proveedores comerciales (tales Aldrich Chemical Company, Milwaukee, WI) y se usaron sin purificación adicional, a menos que se indique lo contrario.

15 Los espectros de ^1H NMR se registraron en un espectrómetro Varian AS400 de 400 MHz, a menos que se indique lo contrario. Los cambios químicos se indican como valores δ , en ppm con relación a tetrametilsilano (TMS), como un estándar interno. Las constantes de acoplamiento (valores J) se proporcionan en hercios (Hz), y las multiplicidades se indican usando las abreviaciones siguientes: s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuarteto, m = multiplete, br = amplio, nd = no determinado.

Condiciones de espectrometría de masas - cromatografía líquida (LC-MS)

20 Los datos de LC-MS se obtuvieron usando un sistema Agilent 1100 Liquid Chromatography System - G1312A Binary Pump (Agilent Technologies), una columna ZORBAX Rapid Resolution 3,5 μm Rx, Bonus-RP (3,5 μm de tamaño de partícula; 2,1 mm x 50 mm) (Agilent Technologies), y un espectrómetro de masas API 150EX Single Quadrupole LC/MS Mass Spectrometer (Perkin-Elmer Sciex Instruments). Los sistemas disolventes usados fueron:

Disolvente A: 98% de agua y 2% de acetonitrilo (v/v) + 1 ml/l de TFA
 Disolvente B: 90% de acetonitrilo y 10% agua (v/v) + 1 ml/l de TFA
 Caudal: 500 μl /minuto
 Gradiente: (Procedimiento 10-90): de 10% de B a 90% de B en 3 minutos
 (Procedimiento 2-90): de 2% de B a 90% de B en 3 minutos
 (Procedimiento 10-70): de 10% de B a 70% de B en 3 minutos.

Condiciones de HPLC

25 La HPLC se llevó a cabo usando un sistema HP 1100 Series HPLC System (Agilent Technologies) y una columna ZORBAX Rapid Resolution 3,5 μm Rx, Bonus-RP column (3,5 μm de tamaño de partícula; 2,1 mm x 50 mm) (Agilent Technologies) o una columna Ascentis Express C18 HPLC Column (2,7 μm de tamaño de partícula, 3,0 mm x 3 cm). Los sistemas disolventes usados fueron:

Disolvente A: 98% de agua y 2% de acetonitrilo (v/v) + 1 ml/l de TFA
 Disolvente B: 90% de acetonitrilo y 10% agua (v/v) + 1 ml/l de TFA
 Caudal: 500 μl /minuto
 Gradiente: (Procedimiento 10-50): de 10% de B a 50% de B en 6 minutos
 (Procedimiento 10-70): de 10% de B a 70% de B en 6 minutos
 (Procedimiento 2-90): de 10% de B a 90% de B en 6 minutos.

Ejemplo 1

Preparación de 3-metilaminobenzoato de metilo

30 Una solución de ácido fórmico (106 ml) y anhídrido acético (53,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió 3-aminobenzoato de metilo (8,50 g, 56,2 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante la noche. A continuación,

la mezcla de reacción se concentró bajo presión reducida para dar un sólido. El sólido se disolvió en THF (50,0 ml) y esta solución se enfrió a 0°C. Se añadió lentamente dimetilsulfuro de borano (10,7 ml, 112 mmoles) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche. A continuación, la mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se añadió lentamente MeOH (10 ml). Esta mezcla se agitó durante 3 horas y, a continuación, se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título, que se usó sin ninguna purificación adicional.

LC-MS (Procedimiento 10-90): Rt 1,25 min; m/z 166,4 [M+H]⁺.

Ejemplo 2

Preparación de éster metílico de ácido 3-(acrililmetilamino)benzoico

A una mezcla agitada de éster metílico de ácido 3-metilaminobenzoico (3,11 g, 18,8 mmol) y bicarbonato de sodio (3,16 g, 37,6 mmol) en DCM (20,0 ml) a 0°C se añadió cloruro de 2-propenoilo (2,29 ml, 28,2 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se añadió solución acuosa saturada de bicarbonato de sodio y se separaron las capas. La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título (4,12 g, rendimiento 100%), que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Ejemplo 3

Preparación de éster metílico de ácido 3-({3-[4-(bifenil-2-ilcarbamoilo)oxi]piperidin-1-il}propionil)metilamino)benzoico

Una solución agitada de éster metílico de ácido 3-(acrililmetilamino)benzoico (estimado ~ 56 mmol) y éster piperidin-4-ílico de ácido bifenil-2-ilcarbámico (16,6 g, 56,0 mmol) (véase la publicación de patente US N° 2006/0035931 A1, publicada el 16 de Febrero de 2006) en EtOH (20,0 ml) se calentó a 90°C durante la noche. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo resultante se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice (0-10% de MeOH en DCM) para dar el compuesto del título (13,0 g, 45% de rendimiento) como un sólido blanquecino.

LC-MS (Procedimiento 10-90): Rt 2,30 min; m/z 516,2 [M+H]⁺.

Ejemplo 4

Preparación de ácido 3-({3-[4-(bifenil-2-ilcarbamoilo)oxi]piperidin-1-il}propionil)metilamino)benzoico

Una solución de éster metílico de ácido 3-({3-[4-(bifenil-2-ilcarbamoilo)oxi]piperidin-1-il}propionil)metilamino)benzoico (6,80 g, 13,2 mmol) e hidróxido de litio (1,58 g, 65,9 mmol) en una mezcla 1:1 de acetonitrilo:agua (25,0 ml) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El pH de la mezcla de reacción se ajustó a pH 5 con ácido clorhídrico acuoso (1 M) y esta mezcla se extrajo con DCM (20 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice (0-10% de MeOH en DCM) para dar el compuesto del título (5,80 g, 87% de rendimiento) como un polvo blanquecino.

LC-MS (Procedimiento 10-90): Rt 2,15 min; m/z 502,2 [M+H]⁺.

Example 5

Preparación de éster 2-(4-nitrofenil)etílico de ácido 4-nitrobencenosulfónico

A una solución agitada de 4-nitrobencenoetanol (3,34 g, 20,0 mmol) y trietilendiamina (3,36 g, 30,0 mmol) en DCM (62,7 ml) a 0°C se añadió cloruro de 4-nitrobencenosulfonilo (4,97 g, 22,43 mmol) en porciones durante un período de 5 min. A continuación, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió agua (50 ml) y la mezcla resultante se agitó durante 10 min. La capa orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título crudo (5,8 g, rendimiento 82%) como un sólido de color amarillo.

HPLC (Procedimiento 2-90): Rt 4,23 min (214 nm).

Ejemplo 6

Preparación de 5-[(R)-2-(bencil-[2-(4-nitrofenil)etil]amino)-1-(tert-butildimetilsilanolo)etil]-8-benciloxi-1H-quinolin-2-ona

Una solución agitada de éster 2-(4-nitrofenil)etílico de ácido 4-nitrobencenosulfónico (3,78 g, 10,7 mmol); 5-[(R)-2-bencilamino-1-(tert-butildimetilsilanilo)etil]-8-benciloxi-1H-quinolin-2-ona (4,620 g, 8,975 mmol) (véase, por ejemplo, la publicación de patente US N° 2006/0035931 A1, publicada el 16 de Febrero de 2006) y N,N-diisopropiletilamina (3,59 ml, 20,6 mmol) en acetonitrilo (39,2 ml) se calentó a 65°C durante una noche. Después de enfriar la mezcla de reacción

a temperatura ambiente, se añadió EtOAc (20 ml) y esta mezcla se lavó con salmuera (20 ml). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (0-30% de EtOAc en hexanos) para dar el compuesto del título (3,0 g, 50% de rendimiento) como un aceite de color amarillo.

5 LC-MS (Procedimiento 10-90): Rt 2,94 min; m/z 664,4 [M+H]⁺.

Ejemplo 7

Preparación de 5-[(R)-2-[[2-(4-aminofenil)etil]bencilamino]-1-(tert-butildimetilsilanilo)etil]-8-benciloxi-1H-quinolin-2-ona

10 Una mezcla de ácido 5-[(R)-2-[[2-(4-nitrofenil)etil]amino]-1-(tert-butildimetilsilanilo)etil]-8-benciloxi-1H-quinolin-2-ona (3,00 g, 4,52 mmol); hierro (2,52 g, 45,2 mmol) y cloruro de hierro (II) tetrahidrato (0,18 g, 0,90 mmol) en EtOH (27,3 ml) y AcOH (9,09 ml) se agitó a 80°C durante la noche. La mezcla de reacción se filtró a través de una almohadilla de Celite, lavando con EtOAc (20 ml). La capa orgánica se lavó con salmuera (10 ml), se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título, que se usó sin ninguna purificación adicional.

15 LC-MS (Procedimiento 10-90): Rt 2,43 min; m/z 634,4 [M+H]⁺.

Ejemplo 8

Preparación de éster 1-[2-((3-[4-(2-((bencil-[(R)-2-(8-benciloxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-5-il)-2-(tert-butildimetilsilanilo)etil]-amino)etil]fenilcarbamoil]fenil)metilcarbamoil)etil]piperidin-4-ílico de ácido bifeníl-2-ilcarbámico

20 Una mezcla de 5-[(R)-2-[[2-(4-aminofenil)etil]bencilamino]-1-(tert-butildimetilsilanilo)etil]-8-benciloxi-1H-quinolin-2-ona (1,27 g, 2,00 mmol); ácido 3-((3-[4-(bifeníl-2-ilcarbamoilo)etil]piperidin-1-il]propionil)metilamino)benzoico (1,00 g, 2,00 mmol); 1-hidroxi-7-azabenzotriazol (0,286 g, 2,10 mmol) y N,N-diisopropiletilamina (0,697 ml, 4,00 mmol) en DCM (5,00 ml) se agitó durante 30 min a temperatura ambiente. Se añadió clorhidrato de N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilcarbodiimida (0,575 g, 3,00 mmol) y la mezcla resultante se agitó durante 3 h. Se añadió solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (5 ml) y esta mezcla se extrajo con DCM (2 x 5 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice (0-10% de MeOH en DCM) para dar el compuesto del título (1,74 g, 77% de rendimiento) como un sólido de color amarillo.

LC-MS (Procedimiento 10-90): Rt 2,73 min; m/z 1.117,8 [M]⁺.

Ejemplo 9

Preparación de éster 1-(2-[[3-(4-(2-[(R)-2-(tert-butildimetilsilanilo)etil]-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-5-il)etilamino)etil]fenilcarbamoil]fenil)metilcarbamoil)etil]piperidin-4-ílico de ácido bifeníl-2-ilcarbámico

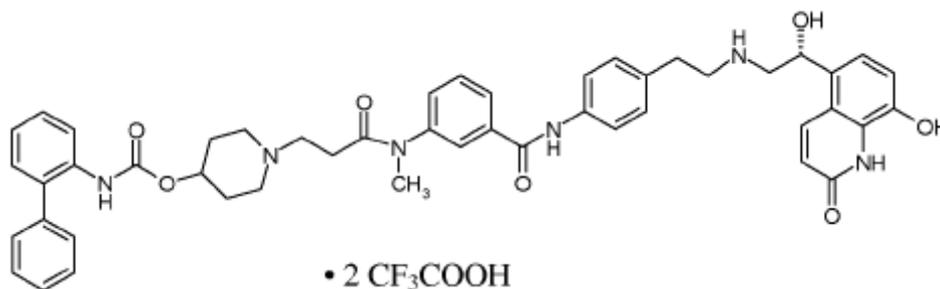
35 Una solución de éster 1-[2-((3-[4-(2-((bencil-[(R)-2-(8-benciloxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-5-il)-2-(tert-butildimetilsilanilo)etil]-amino)etil]fenilcarbamoil]fenil)metilcarbamoil)etil]piperidin-4-ílico de ácido bifeníl-2-ilcarbámico (1,74 g, 1,56 mmoles) en EtOH (12,2 ml) y AcOH (0,122 ml) se enjuagó con nitrógeno durante 3 minutos. Se añadió paladio sobre carbono (10%, ~ 50% de agua, 0,18 g) y la mezcla de reacción se enjuagó con hidrógeno durante 4 min. La mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno (balón) durante la noche y, a continuación, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía flash en gel de sílice (0-15% de MeOH en DCM) para dar el compuesto del título (1,11 g, 76% de rendimiento) como un líquido pardusco espeso.

40 LC-MS (Procedimiento 10-90): Rt 2,46 min; m/z 937,6 [M+H]⁺.

Ejemplo 10

Preparación de ditrifluoroacetato de éster 1-(2-[[3-(4-(2-[(R)-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-5-il)etilamino)etil]fenilcarbamoil]fenil)metilcarbamoil)etil]piperidin-4-ílico de ácido bifeníl-2-ilcarbámico (Compuesto I-34)

45



10 Una solución de éster 1-(2-[[3-(4-{2-[(R)-2-(tert-butildimetilsilanilo)xi]-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-5-il)etilamino]-etil}fenilcarbamoil)fenil]metilcarbamoil]etil)piperidin-4-ílico de ácido bifeníl-2-ilcarbámico (estimado ~ 1,56 mmol) trihidrofluoruro de trietilamina (299 µl, 1,84 mmol) en DCM (3,06 ml) se calentó mediante microondas (300 vatios) a 80°C durante 10 min. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida y el residuo se purificó mediante HPLC (Procedimiento 10-50) para dar el compuesto del título (280 mg, 17%) como un sólido de color blanco.

LC-MS (Procedimiento 10-90): Rt 1,98 min; m/z 823,4 [M+H]⁺.

Ensayos y preparaciones biológicas

15 **Ejemplo A**

Cultivo de células y preparación de membranas procedentes a partir de células que expresan receptores muscarínicos M₁, M₂, M₃ y M₄ humanos

20 Se cultivaron líneas celulares CHO que expresaban, de manera estable, los subtipos de los receptores muscarínicos hM₁, hM₂, hM₃ y hM₄ humanos clonados, respectivamente, hasta casi la confluencia, en medio Hams F-12 suplementado con 10% de FBS y 250 µg/ml de Geneticina. Las células se cultivaron en un incubador con 5% de CO₂ a una temperatura de 37°C y se estimularon con EDTA 2 mM en dPBS. Las células, se recolectaron y se agruparon mediante una centrifugación de 5 minutos a 650 x g, y los gránulos de células se almacenaron congelados a una temperatura de -80°C o se prepararon inmediatamente membranas para su uso.

25 Para la preparación de membranas, los gránulos de células se resuspendieron en un tampón de lisis y se homogeneizaron con un disruptor de tejidos Polytron PT 2100 (Kinematica AG; 20 segundos x 2 ráfagas). Las membranas crudas se centrifugaron a 40.000 x g durante 15 minutos a una temperatura de 4°C. A continuación, el sedimento de membranas se resuspendió con un tampón de resuspensión y se homogeneizó de nuevo con el disruptor de tejidos Polytron.

30 La concentración de proteínas de la suspensión de membrana se determinó mediante el procedimiento descrito en Lowry et al., 1951, Journal of Biochemistry, 193, 265. Todas las membranas se almacenaron congeladas en alícuotas a -80°C o se usaron inmediatamente.

Las alícuotas de las membranas de receptor hM₅ preparadas se adquirieron en PerkinElmer, Inc. (Wellesley, MA) y se almacenaron a -80°C hasta su uso.

Ejemplo B

35 **Ensayo de unión de radioligando para los receptores muscarínicos**

40 Los ensayos de unión de radioligandos para los receptores muscarínicos clonados se realizaron en placas de microtitulación de 96 pocillos en un volumen total de ensayo de 100 µl. Se diluyeron membranas de células CHO que expresaban, de manera estable, cada uno de los subtipos muscarínicos hM₁, hM₂, hM₃, hM₄ o hM₅ en tampón de ensayo a las siguientes concentraciones de proteína diana (µg/pocillo): 10 µg para hM₁, 10-15 para hM₂, 10-20 µg para hM₃, 10-20 µg para hM₄ y 10-12 µg para hM₅, para obtener señales similares (cpm). Las membranas se homogeneizaron brevemente usando un disruptor de tejido Polytron (10 segundos) antes del ensayo de adición en placa.

45 Se realizaron estudios de unión de saturación para determinar los valores K_D del radioligando usando L-[N-metil-³H]escopolamina-cloruro de metileno ([³H]-NMS) (TRK666, 84,0 Ci/mmol, Amersham Pharmacia Biotech, Buckinghamshire, Inglaterra) a concentraciones comprendidas entre 0,001 nM y 20 nM.

Se realizaron ensayos de desplazamiento para determinar los valores K_i de los compuestos de ensayo con [³H]-NMS a un 1 nM y once diferentes concentraciones de compuestos de ensayo. Los compuestos de ensayo se disolvieron

- inicialmente a una concentración de 400 μM en tampón de dilución y, a continuación, se disolvieron en serie 5 x con tampón de dilución a concentraciones finales comprendidas entre 10 pM y 100 μM . El orden de adición y los volúmenes añadidos a las placas de ensayo eran: 25 μl de radioligando, 25 μl de compuesto de ensayo diluido y 50 μl de membranas. Las placas de ensayo se incubaron durante 6 horas a 37°C. Las reacciones de unión se terminaron mediante filtración rápida sobre placas de filtro de fibra de vidrio GF/B (Perkin Elmer, Inc.), pre-tratadas en 1% de BSA. Las placas de filtro se lavaron tres veces con tampón de lavado (HEPES 10 mM) para eliminar la radioactividad no unida. A continuación, las placas se secaron con aire y se añadieron 50 μl de fluido de centelleo Microsint-20 Liquid Scintillation Fluid (PerkinElmer, Inc.) a cada pocillo. A continuación, las placas se sometieron a recuento en un contador de centelleo para líquidos PerkinElmer Topcount Liquid Scintillation Counter (PerkinElmer, Inc.).
- Los datos de enlace o unión se analizaron mediante un análisis de regresión no lineal con el paquete de software GraphPad Prism Software (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) usando un modelo de competición de un sitio. Los valores K_i para los compuestos de ensayo se calcularon a partir de los valores IC_{50} observados y el valor K_D del radioligando usando la ecuación de Cheng-Prusoff (Cheng Y; Prusoff WH. (1973) *Biochemical Pharmacology*, 22(23):3099-108). Los valores K_i se convirtieron a valores pK_i para determinar la media geométrica y los intervalos de confianza del 95%. A continuación, estas estadísticas resumidas se convirtieron de nuevo a valores K_i para informar acerca de los datos.

En este ensayo, un valor más bajo de K_i significa que el compuesto de ensayo tiene una mayor afinidad de unión para el receptor. Los datos de unión (K_i) del receptor hM_3 para el compuesto de fórmula la es de 0,1 nM (redondeado al 0,1 nM más cercano).

20 Ejemplo C

Cultivo de células y preparación de membranas a partir de células que expresan los receptores β_1 , β_2 o β_3 adrenérgicos humanos

- Se cultivaron líneas celulares de riñón embrionario humano (HEK-293) que expresaban, de manera estable, los receptores β_1 o β_2 adrenérgicos humanos clonados o líneas celulares de ovario de hamster chino (CHO) que expresaban, de manera estable, los receptores β_3 adrenérgicos humanos clonados, hasta casi la confluencia, en medios DMEM o Hams F-12, con 10% de FBS en presencia de 500 $\mu\text{g/ml}$ de Geneticina. La monocapa celular se estimuló con EDTA 2 mM en PBS. Las células se granularon mediante centrifugación a 1.000 rpm y los gránulos celulares se almacenaron congelados a -80°C o se prepararon inmediatamente membranas para su uso.

- Para la preparación de membranas que expresaban los receptores β_1 y β_2 , los gránulos celulares se resuspendieron en un tampón de lisis (10 mM HEPES/HCl, EDTA 10 mM, pH 7,4 a 4°C) y se homogeneizaron usando un homogeneizador de vidrio Dounce, de ajuste hermético (30 golpes) en hielo.

- Para las membranas que expresaban receptor β_3 más sensible a la proteasa, los gránulos celulares se homogeneizaron en tampón de lisis (10 mM Tris/HCl, pH 7,4) suplementado con una tableta "Complete Protease Inhibitor Cocktail Tablets with 2 mM EDTA" por cada 50 ml de tampón (Roche Molecular Biochemicals, Indianapolis, IN). El homogeneizado se centrifugó a 20.000 x g, y el sedimento resultante se lavó una vez con tampón de lisis, mediante resuspensión y centrifugación, tal como se ha descrito anteriormente. A continuación, el gránulo final se resuspendió en tampón de ensayo de unión enfriado en hielo (75 mM Tris/HCl, pH 7,4, MgCl_2 12,5 mM, EDTA 1 mM).

- La concentración de proteínas de la suspensión de membrana se determinó mediante los procedimientos descritos en Lowry et al., 1951, *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265; y en Bradford, *Analytical Biochemistry*, 1976, 72, 248-54. Todas las membranas se almacenaron congeladas en alícuotas a -80°C, o se usaron inmediatamente.

Ejemplo D

Ensayo para determinar la potencia del agonista del receptor adrenérgico

- Se realizaron ensayos de cAMP en un formato de radioinmunoensayo usando el sistema de activación de adenilil ciclasa, Flashplate Adenylyl Cyclase Activation Assay System, [^{125}I]-cAMP (NEN SMP004, PerkinElmer Life Sciences Inc Boston, MA), según las instrucciones del fabricante. Para este ensayo, se cultivaron líneas celulares HEK-293 que expresaban, de manera estable, los receptores β_1 o β_2 humanos, clonados, hasta la casi confluencia en DMEM suplementado con 10% de PBS y Geneticina (250 $\mu\text{g/ml}$); o se cultivaron líneas celulares CHO-K1 que expresaban, de manera estable, receptores β_3 adrenérgicos humanos clonados, hasta casi la confluencia en medio F-12 de Hams suplementado con 10% de FBS y Geneticina (250 $\mu\text{g/ml}$). Las células se lavaron con PBS y se separaron en dPBS (solución salina tamponada de fosfato de Dulbecco, sin CaCl_2 ni MgCl_2) que contenía EDTA 2 mM o solución de Tripsina-EDTA (0,05% tripsina/EDTA 0,53 mM). Tras un recuento de células en un contador de células Coulter, las células se granularon mediante centrifugación a 1.000 rpm y se volvieron a suspender en un tampón de estimulación que contenía IBMX (kit PerkinElmer) precalentado a temperatura ambiente a una concentración comprendida entre $1,6 \times 10^6$ y $2,8 \times 10^6$ células/ml. En este ensayo, se usaron aproximadamente 40.000 a 80.000 células por pocillo. Los

5 compuestos de ensayo (10 mM en DMSO) se diluyeron en PBS que contenía 0,1% de BSA en Beckman Biomek-2000 y se ensayaron a 11 concentraciones diferentes comprendidas entre 100 μ M y 1 pM. Las reacciones se incubaron durante 10 minutos a 37°C y se inactivaron mediante la adición de 100 μ l de tampón de detección que contenía [¹²⁵I]-cAMP (NEN SMP004, PerkinElmer Life Sciences, Boston, MA). La cantidad de cAMP producida (pmol/pocillo) se calculó en base a los recuentos observados para las muestras y los estándares de cAMP, tal como se describe en el manual del usuario proporcionado por el fabricante.

Los datos se analizaron mediante un análisis de regresión no lineal con el paquete de software GraphPad Prism Software package (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA) con la ecuación sigmoideal. Se usó la ecuación de Cheng-Prusoff (Cheng Y y Prusoff WH, Biochemical Pharmacology, 1973, 22, 23, 3099-108) para calcular los valores EC₅₀.

10 En este ensayo, un valor más bajo de EC₅₀ significa que el compuesto de ensayo tiene una actividad funcional más alta en el receptor ensayado. Los datos de eficacia de h β ₂ (EC₅₀) para el compuesto de fórmula la es 1 nM (redondeado al 1 nM más cercano).

Ejemplo E

Ensayo de Einthoven

15 Este ensayo mide la capacidad de un compuesto de ensayo para proporcionar broncoprotección contra la broncoconstricción inducida por metacolina (MCh).

Se usaron ratas Sprague-Dawley (Harlan, Indianapolis, IN) con un peso de 200 a 300 g para todos los estudios.

20 Se dosificó un compuesto de ensayo o vehículo (agua desionizada estéril) mediante inhalación (IH) durante un periodo de 10 minutos en una cámara de inhalación con forma circular (R+S Molds, San Carlos, CA) usando 5 ml de solución de dosificación. Las ratas, se expusieron a un aerosol generado por un nebulizador LC Star Nebulizer Set Model 22F51 (PARI Respiratory Equipment, Inc. Midbthian, VA) accionado por Bioblend (5% de CO₂/95% aire atmosférico) a una presión de 149,6 kPa. Las ratas se dosificaron con 100 μ de compuesto de ensayo, a menos que se indique lo contrario.

25 En puntos de tiempo predeterminados, las ratas se anestesiaron con una inyección intraperitoneal (IP) de 120 mg/kg de inactiva (tiobutabarbital). Se administró una dosis suplementaria (40 mg/kg, IP) si el animal respondía a los estímulos físicos (por ejemplo, un pinchazo en el dedo gordo del pie). El sitio quirúrgico se afeitó y se realizó una incisión de 1-2 cm de la línea media del aspecto ventral del cuello. La vena yugular se aisló y se entubó con un catéter de polietileno cargado con solución salina (PE-50) para permitir la infusión IV de MCh. La tráquea se diseccionó dejándola libre y se entubó con una aguja 14G (#NE-014, Small Parts, Miami Lakes, FI). Tras la colocación de la cánula tráguela, cada rata se ventiló usando un conjunto respirador (Model 683, Harvard Apparatus, Inc., MA) a un volumen de carrera de 1 ml/100 g de peso corporal (pero sin exceder un volumen de 2,5 ml) y a una tasa de 90 carreras por minuto. Se colocó un conector T a lo largo del entubado expiratorio del respirador para permitir la medición de los cambios en la presión de ventilación (VP) usando un transductor BioPac conectado a un pre-amplificador Biopac (TSD 137C). La temperatura corporal se mantuvo a 37°C usando una almohadilla de calentamiento.

35 Los cambios en la VP (presión de ventilación) se registraron usando el software Acknowledge Data Collection Software (Santa Bárbara, CA). Se recogieron valores de referencia durante al menos 2,5 minutos. A continuación, las ratas se estimularon con infusiones intravenosas (IV) no acumulativas de 40 y 80 μ g/kg de MCh. La MCh, se infundió intravenosamente durante 2,5 minutos desde una bomba de jeringa (sp210iw, World Precision Instruments, Inc. Sarasota, FL) a una tasa de 2 ml/kg/minuto, con un intervalo de 2 minutos ente las dos dosis de MCh. Los cambios en la presión de ventilación (cm de H₂O) en los animales tratados se expresan como % de inhibición de la respuesta a MCh con relación a los animales de control.

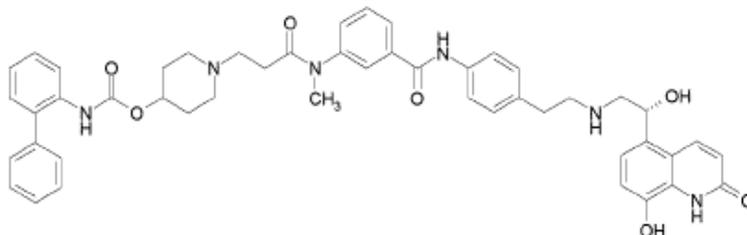
40 En este ensayo, pueden usarse otros broncoconstrictores, tales como histamina y acetilcolina, en lugar de la MCh. Además, pueden usarse conejillos de indias en lugar de ratas.

45 En este ensayo, un % de inhibición más alto de la respuesta a la MCh indica el hecho de que, el compuesto de ensayo proporcionó un mayor efecto broncoprotector. Una inhibición mayor o igual al 30%, a las 24 horas es indicativa de una larga duración de acción. Se obtuvieron datos de broncoprotección que indicaban un efecto broncoprotector presente a las 24 horas, por ejemplo, \geq 30% de inhibición de la respuesta a la MCh a las 24 horas en el ensayo de Einthoven con ratas (100 μ g) para el compuesto de fórmula la.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula la

5



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10

2. Compuesto según la reivindicación 1, que es éster 1-(2-[[3-(4-(2-[(R)-2-hidroxi-2-(8-hidroxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-5-il)etilamino]etil)fenilcarbamoil)-fenil]metilcarbamoil)etil]piperidin-4-il de ácido bifenil-2-ilcarbámico.

3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según una cualquiera de entre la reivindicación 1 o la reivindicación 2 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

4. Composición farmacéutica según la reivindicación 3, en la que la composición comprende un agente terapéutico adicional.

15

5. Composición farmacéutica según la reivindicación 4, en la que el agente terapéutico es un agente anti-inflamatorio esteroideo o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

6. Composición farmacéutica según la reivindicación 5, en la que el agente anti-inflamatorio esteroideo es un corticosteroideo o una sal o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

20

7. Composición farmacéutica según la reivindicación 6, en la que el corticosteroideo es furoato de fluticasona o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

8. Compuesto según cualquiera de entre la reivindicación 1 o la reivindicación 2, para su uso en terapia.

9. Compuesto según cualquiera de entre la reivindicación 1 o la reivindicación 2, para su uso en el tratamiento de un trastorno pulmonar.

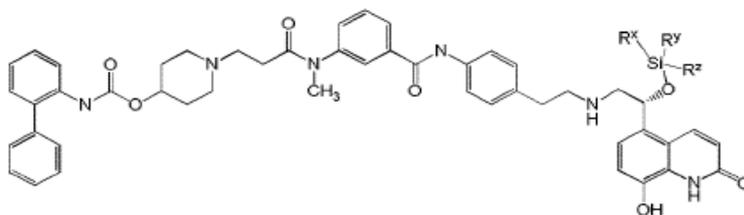
25

10. Compuesto para su uso según la reivindicación 9, en el que el trastorno pulmonar es la enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

11. Compuesto para su uso según la reivindicación 9, en el que el trastorno pulmonar es asma.

12. Compuesto intermedio para preparar un compuesto según la reivindicación 1, en el que el compuesto intermedio tiene la fórmula:

30



35

en la que

R^x y R^y se seleccionan independientemente de entre alquilo C_{1-4} , fenilo y -alquil C_{1-4} -(fenilo);

R^z se selecciona de entre alquilo C_{1-4} , fenilo, -alquil C_{1-4} -(fenilo) y -O-(alquilo C_{1-4});

o una sal del mismo.

13. Compuesto según la reivindicación 12, en el que R^x y R^y son metilo; y R^z es tert-butilo.

14. Un procedimiento de preparación de un compuesto según la reivindicación 1, que comprende desproteger un compuesto según la reivindicación 12 o la reivindicación 13.