

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 639 798**

51 Int. Cl.:

C07D 295/14 (2006.01)

C07D 295/13 (2006.01)

A61K 31/495 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.07.2014 PCT/EP2014/065351**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.01.2015 WO15007830**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.07.2014 E 14739472 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2017 EP 3022188**

54 Título: **Derivados de espiro[2.4]heptano con puente sustituidos con piperazina como agonistas del receptor ALX**

30 Prioridad:
18.07.2013 WO PCT/IB2013/055906

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.10.2017

73 Titular/es:
**IDORSIA PHARMACEUTICALS LTD (100.0%)
Hegenheimermattweg 91
4123 Allschwil, CH**

72 Inventor/es:
**CORMINBOEUF, OLIVIER;
CREN, SYLVAIN y
POZZI, DAVIDE**

74 Agente/Representante:
CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 639 798 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados de espiro[2.4]heptano con puente sustituidos con piperazina como agonistas del receptor ALX

La presente invención se refiere a un derivado de espiro[2.4]heptano con puente sustituido con piperazina de fórmula (I) y su uso como compuesto farmacéutico. La invención se refiere también a aspectos relacionados que incluyen los procedimientos para la preparación del compuesto, las composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto de fórmula (I), y especialmente su uso como agonistas del receptor ALX (ALXR).

ALXR (que es el seudónimo del receptor de la lipoxina A4, FPRL1, FPR2; divulgado en el documento WO2003/082314 como la secuencia de nucleótidos SEQ ID NO:1 y la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO:2) es un miembro de la familia de receptores acoplados a la proteína G. Se ha descubierto que ALXR media en la movilización del calcio en respuesta a una elevada concentración del péptido de formil-metionina-leucil-fenilalanina. Adicionalmente, se ha descubierto que un metabolito lipídico, lipoxina A4 (LXA4), y sus análogos, se unía a ALXR con una elevada afinidad y un aumento en la producción de ácido araquidónico y activación de la proteína G en células transfectadas con ALXR (Chiang y col., *Pharmacol. Rev.*, 2006, 58, 463-487). Los efectos de LXA4 se han evaluado en una variedad de modelos animales de enfermedades; y se ha demostrado que LXA4 tiene potentes actividades antiinflamatorias y prorrresolución. Los modelos de enfermedad donde LXA4, o sus derivados, o análogos estables, demostraron actividades *in vivo* son por ejemplo la inflamación cutánea, bolsas de aire dorsal, lesión por isquemia/reperfusión, peritonitis, colitis, nefritis mesangioproliferativa, pleuritis, asma, fibrosis quística, septicemia, lesión de córnea, angiogénesis, periodontitis, hiperalgnesia inducida por carragenatos, y enfermedad de hospedador frente a injerto (GvHD) (Schwab y Serhan, *Current Opinion in Pharmacology*, 2006, 414-420). Lipoxina A4 inhibe la expresión de IL-6 en sinoviocitos análogos a los fibroblastos humanos (Sodin-Semrl y col., *Int J Immunopathol Pharmacol* (2004) 17:15-25) y un agonista de FPR2 estable, BML-111, redujo la gravedad de la artritis inducida por colágeno (Zhang y col., (2008) *Inflamm Res* 57:157-162) demostrando un posible uso de los agonistas de FPR2 en el tratamiento de la artritis reumatoide. Los ratones con lesión de pulmón aguda (ALI) mostraron una inflamación pulmonar reducida cuando se trataron con una lipoxina A4 estable (Jin y col., (2007) *Anesth Analg* 104:369-377). Se han descrito niveles menores de la lipoxina A4 en asma grave (Celik y col., (2007) *Clin Exp Allergy* 37:1494-1501; Planaguma y col., (2008) *Am J Respir Crit Care Med* 178:574-582) y una mejora de las respuestas del asma en modelos animales mediante análogos de la lipoxina A4 estables (Levy y col., (2002) *Nat Med* 8:1018-1023; Levy y col., (2007) *FASEB J* 21:3877-3884). En la fibrosis quística se ha mostrado que los niveles de lipoxina A4 pulmonar están disminuidos tanto en el pulmón de los pacientes con fibrosis quística como en modelos animales de la enfermedad (Karp y col., (2004) *Nat Immunol* 5:388-392); el tratamiento con un análogo de lipoxina estable mejoró la acumulación de células inflamatorias en el pulmón enfermo y redujo la pérdida de peso corporal en los mismos animales (Karp y col., (2004) *Nat Immunol* 5:388-392). El tratamiento tópico con lipoxina A4 aumenta la reepitelización y disminuye la inflamación de la superficie de la córnea seca (Gronert, (2005) *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 73:221-229; Gronert y col., (2005) *J Biol Chem* 280:15267-15278) demostrando un posible uso de los agonistas de FPR2 en el tratamiento de la queratoconjuntivitis seca. La administración oral de análogos de la lipoxina A4 reduce la gravedad de la colitis en un modelo de ratón de la enfermedad inflamatoria del intestino (Gewirtz y col., (2002) *Eicosanoids and other Bioactive Lipids in Cancer, Inflammation, and Radiation Injury*, Kluwer Academic/Plenum Publishers, 229-236).

El ALXR se ha identificado también como un receptor funcional de numerosos péptidos diversos, incluyendo un fragmento de la proteína priónica, un péptido derivado de gp120 de la cepa (VIH)-1L_{AI} del virus de la inmunodeficiencia humana, y el amiloide beta 1-42 (Ab42) (para una revisión, véase Le y col., *Protein Pept Lett.*, 2007, 14, 846-853), y se ha sugerido que participa en la patogénesis de la enfermedad de Alzheimer (EA) de algunas maneras fundamentales (Yazawa y col., *FASEB J.*, 2001, 15, 2454-2462). La activación de ALXR en los macrófagos y las células de la microglía inicia una cascada de señalización mediada por la proteína G que aumenta la migración direccional de las células, la fagocitosis, y la liberación de mediadores. Estos episodios pueden tenerse en cuenta para el reclutamiento de células mononucleares en la proximidad de placas seniles en las zonas cerebrales enfermas con EA donde Ab42 se produce y acumula en exceso. Aunque la acumulación de leucocitos en los sitios de lesiones tisulares puede considerarse una respuesta inmunitaria innata destinada a la eliminación de agentes nocivos, los fagocitos mononucleares activados liberan también una variedad de sustancias tales como aniones superóxido, que pueden ser tóxicos para las neuronas. De este modo, ALXR pueden mediar en las respuestas proinflamatorias estimuladas por Ab42 en el cerebro con EA y exacerbar la progresión de la enfermedad. Adicionalmente, la humanina es un ligando de elevada afinidad por ALXR y es neuroprotectora en modelos de la enfermedad de Alzheimer (Mamiya y col., (2001) *Br J Pharmacol* 134:1597-1599; Ying y col., (2004) *J Immunol* 172:7078-7085; Miao y col., (2008) *Neuropeptides* 42:557-567).

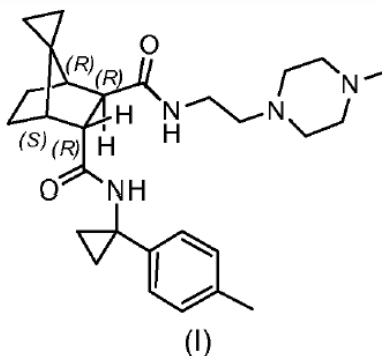
Las propiedades biológicas de agonistas de ALXR incluyen, aunque no de forma limitativa, la migración/activación de monocitos/macrófagos/microglía/células dendríticas, migración/activación de neutrófilos, regulación de la activación, proliferación y diferenciación de linfocitos, regulación de la inflamación, regulación de la producción y/o liberación de citoquinas, regulación de la producción y/o liberación de mediadores proinflamatorios, regulación de la reacción inmunitaria.

La presente invención proporciona derivado de espiro[2.4]heptano con puente sustituidos con piperazina, que es un agonista no peptídico del receptor de ALX humano. Se han divulgado otros derivados de espiro[2.4]heptano con

puente con actividad agonista sobre el receptor ALX humano en los documentos WO 2010/134014, WO2011/163502, WO2012/066488, WO2013/009543, WO2013/171694 y WO2013/171687. Se han divulgado en el documento WO95/02587 diferentes derivados de espiro[2.4]heptano con puente. El compuesto es útil para la prevención o el tratamiento de enfermedades que responden a la modulación del receptor ALX tales como enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, dolencias alérgicas, infecciones retrovíricas mediadas por VIH, trastornos cardiovasculares, neuroinflamación, trastornos neurológicos, dolor, enfermedades mediadas por priones y trastornos mediados por amiloide (especialmente enfermedad de Alzheimer); además, es útil para la prevención o el tratamiento de enfermedades autoinmunitarias y para la modulación de respuestas inmunitarias (especialmente aquellas estimuladas mediante vacunación).

10 El compuesto de la presente invención muestra una elevada estabilidad en plasma humano.

1) La presente invención se refiere a un compuesto de fórmula (I), cuyo compuesto es (5*R*)-*N*⁶-(1-(*p*-tolil)ciclopropil)-(6*R*)-*N*⁶-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)-(4*S*,7*R*)-[4,7-etileno-spiro[2.4]heptano]-5,6-dicarboxamida;



y a las sales (en particular las sales farmacéuticamente aceptables) de dicho compuesto.

15 La presente invención describe también compuestos marcados isotópicamente, especialmente, compuestos marcados con ²H (deuterio) de fórmula (I), cuyos compuestos son idénticos al compuesto de fórmula (I) excepto que uno o más átomos se han sustituido por un átomo que tiene el mismo número atómico pero una masa diferente de la masa atómica que se encuentra usualmente en la naturaleza. Los compuestos marcados isotópicamente, especialmente los compuestos marcados con ²H (deuterio) de fórmula (I) y sus sales están comprendidos en el alcance de la presente invención. La sustitución del hidrógeno por el isótopo más pesado ²H (deuterio) puede conducir a una mayor estabilidad metabólica, dando como resultado, por ejemplo, una semivida aumentada *in vivo* o menores requisitos de dosificación, o puede conducir a una menor inhibición de las enzimas del citocromo P450, dando como resultado, por ejemplo, un perfil de seguridad mejorado. En una realización de la invención, el compuesto de fórmula (I) no está isotópicamente marcado, o está marcado solo con uno o más átomos de deuterio. En una realización secundaria, el compuesto de fórmula (I) no está isotópicamente marcado en forma alguna. Se pueden preparar compuestos marcados isotópicamente de fórmula (I) en analogía con los procedimientos descritos a partir de ahora en el presente documento, pero utilizando la variación isotópica apropiada de los reactivos o materiales de partida adecuados.

30 La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal que retiene la actividad biológica deseada del compuesto sujeto y presenta efectos toxicológicos mínimos. Dichas sales incluyen sales inorgánicas u orgánicas y/o sales de adición de base dependiendo de la presencia de grupos básicos y/o grupos ácidos en el compuesto sujeto. Como referencia, véase por ejemplo 'Handbook of Pharmaceutical Salts. Properties, Selection and Use.', P. Heinrich Stahl, Camille G. Wermuth (Eds.), Wiley-VCH, 2008 and 'Pharmaceutical Salts and Co-crystals', Johan Wouters y Luc Quéré (Eds.), RSC Publishing, 2012.

35 Cuando se utiliza la forma plural para los compuestos, sales, composiciones farmacéuticas, enfermedades y similares, se pretende también significar un solo compuesto, sal, composición farmacéutica, enfermedad o similar.

40 El compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso como medicamento. En particular, el compuesto de fórmula (I) modula el receptor ALX, es decir, actúa como los agonistas del receptor ALX, y es útil para la prevención o el tratamiento de enfermedades que responden a la activación del receptor ALX tales como enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, dolencias alérgicas, infecciones retrovíricas mediadas por VIH, trastornos cardiovasculares, neuroinflamación, trastornos neurológicos, dolor, enfermedades mediadas por priones, leucemias y trastornos mediados por el amiloide (especialmente la enfermedad de Alzheimer); además, el compuesto es útil para la modulación de respuestas inmunitarias (especialmente aquellas estimuladas mediante vacunación).

45 En particular, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en la prevención o el tratamiento de enfermedades seleccionadas entre

enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y dolencias alérgicas.

Las enfermedades inflamatorias, las enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y las dolencias alérgicas incluyen, aunque no de forma limitativa, uno, varios o todos de los siguientes grupos de enfermedades y trastornos:

- 5 1) Lesión pulmonar aguda (ALI); síndrome de estrés respiratorio agudo en adultos (ARDS); enfermedad pulmonar obstructiva crónica, de las vías respiratorias o del pulmón (EPOC, COAD o COLD), incluyendo bronquitis crónica o disnea asociada a la anterior; enfisema; así como exacerbación de la hiperreactividad de las vías respiratorias consecuente a otro tratamiento farmacológico, en particular, otro tratamiento farmacológico inhalado. Especialmente, las enfermedades inflamatorias, las enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y las dolencias alérgicas incluyen EPOC, COAD y COLD.
- 10 2) Las enfermedades inflamatorias adicionales, las enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y las dolencias alérgicas incluyen bronquitis de cualquier tipo o génesis.
- 3) Las enfermedades inflamatorias adicionales, las enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y las dolencias alérgicas incluyen bronquiectasias, y neumoconiosis de cualquier tipo o génesis.
- 15 4) Las enfermedades inflamatorias adicionales, las enfermedades obstructivas de las vías aérea y las dolencias alérgicas incluyen asma de cualquier tipo o génesis, incluyendo asma intrínseca (no alérgica) y asma extrínseca (alérgica), asma leve, asma moderada, asma grave, asma bronquítica, asma inducida por ejercicio, asma laboral y asma inducida tras infección bacteriana.
- 20 5) En una realización adicional, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con las realizaciones 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es particularmente adecuado para su uso en la prevención o el tratamiento de enfermedades inflamatorias. Las enfermedades inflamatorias incluyen uno, varios o todos de los siguientes grupos de enfermedades y trastornos:
- 5a) En particular, las enfermedades inflamatorias se refieren a trastornos relacionados con neutrófilos, especialmente trastornos de las vías respiratorias relacionados con neutrófilos incluida la hiperneutrofilia, que afecta a las vías respiratorias y/o los pulmones. Los trastornos relacionados con neutrófilos adicionales incluyen gingivitis, periodontitis, glomerulonefritis, y fibrosis quística.
- 25 5b) Las enfermedades inflamatorias adicionales incluyen enfermedades de la piel tales como psoriasis, dermatitis de contacto, dermatitis atópica, dermatitis herpetiforme, escleroderma, angitis por hipersensibilidad, urticaria, lupus eritematoso, lupus dicoide y epidermolisis.
- 30 5c) Las enfermedades inflamatorias adicionales se refieren también a enfermedades o dolencias que tienen un componente inflamatorio. Las enfermedades o dolencias que tienen un componente inflamatorio incluyen, aunque no de forma limitativa, enfermedades y dolencias que afectan al ojo tal como la uveítis (anterior, intermedia y posterior), uveítis por síndrome de Behçet, conjuntivitis, queratoconjuntivitis seca, queratoconjuntivitis seca por síndrome de Sjögren, y conjuntivitis vernal; enfermedades que afectan a la nariz, incluyendo rinitis y rinitis alérgica (y especialmente rinitis alérgica); y enfermedades inflamatorias en las que las reacciones autoinmunitarias están implicadas o tienen un componente o etiología autoinmunitaria, tales como lupus sistémico eritematoso, espondilitis anquilosante, síndrome de Behçet, síndrome de Sjögren, policondritis, escleroderma, granulomatosis de Wegener, arteritis de células gigantes, dermatosis neutrófila, dermatomiositis, hepatitis crónica activa, miastenia grave, síndrome de Stevens-Johnson, esprúe idiopático, enfermedad inflamatoria del intestino autoinmunitaria (por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn), oftalmopatía endocrina, neumonitis por hipersensibilidad crónica, cirrosis biliar primaria, queratoconjuntivitis seca y queratoconjuntivitis vernal, fibrosis pulmonar intersticial, artritis psoriásica y glomerulonefritis.
- 40 5d) Las enfermedades inflamatorias en las que están implicadas reacciones autoinmunitarias o tienen un componente o etiología autoinmunitaria incluyen, tiroiditis de Hashimoto y diabetes de tipo I o II.

45 Adicionalmente, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en la prevención o el tratamiento del rechazo al trasplante de órganos o tejidos, por ejemplo, para el tratamiento de receptores del corazón, pulmón, corazón pulmón combinados, hígado, riñón, páncreas, piel o trasplantes de la córnea, y la prevención de la enfermedad del hospedador frente al injerto, tal como algunas veces se produce tras el trasplante de médula ósea, particularmente en el tratamiento del rechazo agudo o crónico del aloinjerto o en el trasplante de células productoras de insulina, por ejemplo, células de islotes pancreáticos.

55 Adicionalmente, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en la prevención o el tratamiento de infecciones retrovíricas mediadas por VIH. Las infecciones retrovíricas mediadas por VIH incluyen, aunque no de forma limitativa, uno, varios o todos los grupos de enfermedades y trastornos producidos por las cepas de VIH-1 y VIH-2 tales como GUN-4v, GUN-7wt, AG204, AG206, AG208, HCM305, HCM308, HCM342, mSTD104, y HCM309.

60 Adicionalmente, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en la prevención o el tratamiento de trastornos cardiovasculares. Los trastornos cardiovasculares se refieren a una o más patologías del árbol cardiovascular (incluyendo el corazón) y a enfermedades de los órganos dependientes. Las patologías del árbol cardiovascular y las enfermedades de los órganos dependientes incluyen, aunque no de forma limitativa, trastornos del músculo cardíaco (cardiomiopatía o miocarditis) tales como cardiomiopatía idiopática, cardiomiopatía metabólica que incluye cardiomiopatía diabética,

cardiomiopatía alcohólica, cardiomiopatía inducida por fármacos, cardiomiopatía isquémica, y cardiomiopatía hipertensiva; trastornos ateromatosos de los vasos sanguíneos mayores (enfermedad macrovascular) tales como la aorta, las arterias coronarias, las arterias carótidas, las arterias cerebrovasculares, las arterias renales, las arterias ilíacas, las arterias femorales, y las arterias poplíteas; los trastornos tóxicos, inducidos por fármacos, y metabólicos (incluyendo hipertensivos y diabéticos) de los vasos sanguíneos pequeños (enfermedad microvascular) tales como las arteriolas retinales, las arteriolas glomerulares, los vasos nerviosos, las arteriolas cardíacas, y los lechos capilares asociados del ojo, el riñón, el corazón, y los sistemas nerviosos centrales y periféricos; y, la ruptura de placas de lesiones ateromatosas de los vasos sanguíneos principales tales como la aorta, las arterias coronarias, las arterias carótidas, las arterias cerebrovasculares, las arterias renales, las arterias ilíacas, las arterias femorales y las arterias poplíteas.

Adicionalmente, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en la prevención o el tratamiento de la neuroinflamación.

La neuroinflamación se refiere a la producción de moléculas de señalización de células, la activación de la glía o la activación de rutas y respuestas gliales, citoquinas o quimioquinas proinflamatorias, activación de astrocitos o activación de rutas y respuestas de astrocitos, activación de la microglía o activación de rutas y respuestas microgliales, respuestas relacionadas con el estrés oxidativo tales como la producción de la sintasa del óxido nítrico y la acumulación de óxido nítrico, proteínas en fase aguda, pérdida de sinaptofisina y densidad postsináptica de proteína 95 (PSD-95), componentes de la cascada del complemento, pérdida o reducción de la función sináptica, actividad de la proteína quinasa (por ejemplo, muerte asociada a la actividad de la proteína quinasa), déficits conductuales, daño celular (por ejemplo, daño de células neuronales), muerte celular (por ejemplo, muerte de células neuronales), y/o deposición del amiloide 3 de placas de amiloide.

Adicionalmente, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en la prevención o el tratamiento de trastornos neurológicos. En particular, los trastornos neurológicos incluyen, aunque no de forma limitativa, epilepsia, accidente cerebrovascular, isquemia cerebral, parálisis cerebral, esclerosis múltiple remitente con recidivas, esclerosis múltiple progresiva, neuromielitis óptica, síndrome clínicamente aislado, enfermedad de Alper, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), demencia senil, demencia con cuerpos de Lewis, síndrome de Rett, traumatismo de la médula espinal, lesión cerebral traumática, neuralgia del trigémino, polineuropatía desmielinante inflamatoria crónica, síndrome de Guillain-Barre, neuralgia glossofaríngea, parálisis de Bell, miastenia grave, distrofia muscular, atrofia muscular progresiva, atrofia muscular heredada bulbar progresiva, síndrome de los discos intervertebrales con hernias, rotos o prolapsados, espondilosis cervical, trastornos del plexo, síndromes de obstrucción de la salida torácica, neuropatías periféricas, declive cognitivo leve, declive cognitivo, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, y corea de Huntington.

Adicionalmente, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en la prevención o el tratamiento del dolor. El dolor incluye, aunque no de forma limitativa, dolor neuropático ilustrado por dolencias tales como neuropatía diabética, neuralgia postherpética, neuralgia del trigémino, polineuropatía diabética dolorosa, dolor posterior a accidente cerebrovascular, dolor posterior a amputación, dolor mielopático y radiculopático, dolor facial atípico y síndromes de tipo causalgia.

Adicionalmente, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en la prevención o el tratamiento de enfermedades mediadas por priones. Las enfermedades mediadas por priones, conocidas también como encefalopatías espongiiformes transmisibles (TSE), incluyen, aunque no de forma limitativa, kuru, síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS), insomnio familiar fatal (FFI) y enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD). Adicionalmente, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en el tratamiento de enfermedades mediadas por amiloide.

Los trastornos mediados por amiloide se definen como enfermedades y trastornos que están producidos o asociados con amiloide o proteínas de tipo amiloide. Las enfermedades y trastornos producidos o asociados con amiloide o proteínas de tipo amiloide incluyen, aunque no de forma limitativa, enfermedad de Alzheimer (EA), incluyendo enfermedades o dolencias caracterizadas por una pérdida de capacidad cognitiva de memoria tales como, por ejemplo, deterioro cognitivo leve (MCI); demencia con cuerpos de Lewy; síndrome de Down; hemorragia cerebral con amiloidosis. En otra realización, las enfermedades y trastornos producidos o asociados con amiloide o proteínas de tipo amiloide incluyen parálisis supranuclear progresiva, amiloidosis de la cadena ligera de amiloide, neuropatías amiloidosas familiares, esclerosis múltiple, enfermedad de Creutzfeldt Jakob, enfermedad de Parkinson, demencia relacionada con VIH, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), miositis con cuerpos de inclusión (IBM), diabetes de inicio en el adulto, y amiloidosis cardíaca senil.

Adicionalmente, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en la modulación de respuestas inmunitarias. La modulación de respuestas inmunitarias incluye, aunque no de forma limitativa, procedimientos basados en la administración a un sujeto de una composición de al menos un antígeno y el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En algunos casos, la composición que contiene antígeno se administra en primer lugar, seguido por la administración de la composición del compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la

realización 1), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo. En otros casos, la composición que contiene antígeno se administra en último lugar. Las diferentes composiciones pueden administrarse simultáneamente, muy cercanas en secuencia, o separadas en el tiempo. Dichos procedimientos y composiciones se proporcionan para inmunización terapéutica y profiláctica (es decir, la provocación deliberada, la potenciación, la intensificación o la modulación de una respuesta inmunitaria adaptativa y/o innata). Las ventajas concretas pueden incluir una o más de las siguientes:

- 1) Una respuesta inmunitaria acelerada tras la administración del compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1) o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y el antígeno, en comparación con la única administración del antígeno;
- 2) Una mayor sensibilidad a pequeñas cantidades de antígeno (por ejemplo, toxina o patógeno) o a antígenos que no inducen habitualmente respuestas inmunitarias fuertes; y
- 3) Tratamientos antitumorales más eficaces.

Adicionalmente, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en la prevención o el tratamiento de la fibrosis quística, fibrosis pulmonar, hipertensión pulmonar, cicatrización de heridas, nefropatía diabética, reducción de la inflamación en el tejido trasplantado, y enfermedades inflamatorias producidas por organismos patógenos.

Especialmente, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en la prevención o el tratamiento de enfermedades seleccionadas entre uno, varios o todos de los siguientes grupos de enfermedades y trastornos:

- 1) Enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias y dolencias alérgicas tales como lesión pulmonar aguda (ALI); síndrome de estrés respiratorio agudo en adultos (ARDS); enfermedad pulmonar obstructiva crónica, de las vías respiratorias o del pulmón (EPOC, COAD o COLD), incluyendo bronquitis crónica o disnea asociada a la anterior; y asma de cualquier tipo o génesis, incluyendo asma intrínseca (no alérgica) y asma extrínseca (alérgica), asma leve, asma moderada, asma grave, asma bronquítica, asma inducida por ejercicio, asma laboral y asma inducida tras infección bacteriana;
- 2) Enfermedades inflamatorias tales como trastornos relacionados con neutrófilos, especialmente trastornos de las vías respiratorias relacionados con neutrófilos incluida la hiperneutrofilia, que afecta a las vías respiratorias y/o los pulmones; periodontitis; glomerulonefritis; fibrosis quística; y enfermedades de la piel tales como psoriasis, dermatitis de contacto, dermatitis atópica, dermatitis herpetiforme, escleroderma, angitis por hipersensibilidad, urticaria, lupus eritematoso, y epidermolisis;
- 3) Enfermedades que tienen un componente inflamatorio tales como enfermedades y dolencias que afectan al ojo tales como conjuntivitis, queratoconjuntivitis seca, y conjuntivitis vernal; enfermedades inflamatorias en las que las que están implicadas reacciones autoinmunitarias o tienen un componente o etiología autoinmunitario; y enfermedad inflamatoria del intestino autoinmunitaria (por ejemplo, colitis ulcerosa y enfermedad de Crohn);
- 4) Infecciones retrovirales mediadas por VIH tales como enfermedades y trastornos producidos por las cepas de VIH-1 y VIH-2 tales como GUN-4v, GUN-7wt, AG204, AG206, AG208, HCM305, HCM308, HCM342, mSTD104, y HCM309;
- 5) Neuroinflamación se refiere a la producción de moléculas de señalización de células, la activación de la glía o la activación de rutas y respuestas gliales, citoquinas o quimioquinas proinflamatorias, activación de astrocitos o activación de rutas y respuestas de astrocitos, activación de la microglía o activación de rutas y respuestas microgliales, respuestas relacionadas con el estrés oxidativo tales como deposición del amiloide β de placas de amiloide;
- 6) Trastornos neurológicos tales como accidente cerebrovascular, isquemia cerebral, enfermedad de Alzheimer, y enfermedad de Parkinson;
- 7) Enfermedades mediadas por priones, conocidas también como encefalopatías espongiiformes transmisibles (TSE), tales como kuru, síndrome de Gerstmann-Sträussler-Scheinker (GSS), insomnio familiar fatal (FFI) y enfermedad de Creutzfeldt-Jakob (CJD);
- 8) Trastornos mediados por amiloide;
- 9) Fibrosis quística, cicatrización de heridas y enfermedades inflamatorias producidas por organismos patógenos.

De manera más preferida, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, es adecuado para su uso en la prevención o el tratamiento de enfermedades seleccionadas entre el grupo que consiste en lesión pulmonar aguda (ALI); asma; fibrosis quística; queratoconjuntivitis seca; enfermedad inflamatoria del intestino; artritis reumatoide; y enfermedad de Alzheimer.

La invención se refiere también al uso del compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1) para la preparación de composiciones farmacéuticas para el tratamiento y/o la profilaxis de las enfermedades anteriormente mencionadas.

La presente invención se refiere también a sales farmacéuticamente aceptables y a composiciones y formulaciones farmacéuticas del compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1).

Una composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención contiene el compuesto de fórmula (I) de

acuerdo con la realización 1) (o una de sus sales farmacéuticamente aceptables) como el principio activo y opcionalmente transportadores y/o diluyentes y/o adyuvantes.

5 El compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1) y sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden usar como medicamentos, por ejemplo, en la forma de composiciones farmacéuticas para administración enteral (tal como especialmente oral) o parenteral (incluyendo aplicación o inhalación tópica).

10 La producción de las composiciones farmacéuticas se puede llevar a cabo de una forma que sea conocida de cualquier persona experta en la técnica (véase por ejemplo Remington, The Science and Practice of Pharmacy, 21^a Edición (2005), Parte 5, "Pharmaceutical Manufacturing" [publicada por Lippincott Williams & Wilkins]) incluyendo el compuesto de fórmula (I) descrito o sus sales farmacéuticamente aceptables, opcionalmente combinados con otras sustancias valiosas desde el punto de vista terapéutico, en una forma farmacéutica junto con transportadores sólidos o líquidos adecuados, no tóxicos, inertes, terapéuticamente compatibles y, si se desea, con los adyuvantes farmacéuticos habituales.

15 La presente invención describe también un procedimiento para la prevención o el tratamiento de una enfermedad o trastorno mencionado en el presente documento que comprende administrar a un sujeto una cantidad farmacéuticamente activa del compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la realización 1), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

20 Debe entenderse que cualquier referencia al compuesto de fórmula (I) en este texto se refiere también a las sales (y especialmente las sales farmacéuticamente aceptables) del compuesto, según sea adecuado y apropiado. Las preferencias indicadas por el compuesto de fórmula (I) se aplican por supuesto de manera análoga haciendo los cambios necesarios a las sales y a las sales farmacéuticamente aceptables del compuesto de fórmula (I). Lo mismo se aplica a estos compuestos como medicamentos, a las composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos como principios activos o a los usos de estos compuestos para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de las enfermedades de acuerdo con la presente invención.

25 Salvo que se use con respecto a las temperaturas, el término "aproximadamente" (o de forma alternativa "alrededor") colocado antes de un valor numérico "X" se refiere en la solicitud actual a un intervalo que se extiende desde el X menos 10 % de X a X más el 10 % de X, y preferentemente a un intervalo que se extiende desde X menos 5 % de X a X más 5 % de X. En el caso concreto de temperaturas, el término "aproximadamente" (o de forma alternativa "alrededor") colocado antes de una temperatura "Y" se refiere en la solicitud actual a un intervalo que se extiende desde la temperatura Y menos 10 °C a Y más 10 °C, y preferentemente a un intervalo que se extiende desde Y menos 5 °C a Y más 5 °C. Además, el término "temperatura ambiente" (ta) como se usa en el presente documento se refiere a una temperatura de aproximadamente 25 °C.

35 Cuando la palabra "entre" se usa para describir un intervalo numérico, debe entenderse que los puntos finales del intervalo indicado se incluyen explícitamente en el intervalo. Por ejemplo: si se describe que una temperatura está comprendida entre 40 °C y 80 °C, esto significa que los puntos finales 40 °C y 80 °C se incluyen en el intervalo; o si se define una variable como un número entero entre 1 y 4, esto significa que la variable es el número entero 1, 2, 3, o 4.

40 El compuesto de fórmula (I) puede fabricarse mediante los procedimientos proporcionados en los Ejemplos o mediante procedimientos análogos. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar según los reactivos o disolventes concretos utilizados, pero una persona experta en la materia puede determinar dichas condiciones mediante procedimientos de optimización rutinarios.

Parte experimental

Abreviaturas (como se usa en el presente documento y en la descripción anterior)

45	ac.	acuoso
	pe	punto de ebullición
	ca.	circa
	COAD	enfermedad de las vías respiratorias obstructiva crónica
	COLD	enfermedad del pulmón obstructiva crónica
	EPOC	enfermedad pulmonar obstructiva crónica
	DAD	detector de matriz de diodos
50	DIPEA	diisopropiletilamina
	DMEM	medio de Eagle modificado por Dulbecco
	DMF	dimetilformamida
	DMSO	dimetilsulfóxido
	EA	acetato de etilo
55	CE ₅₀	concentración eficaz semimáxima
	EDC	<i>N</i> -(3-dimetilaminopropil)- <i>N'</i> -etil-carbodiimida
	ELSD	detección evaporativa mediante dispersión de luz
	Et	etilo

	Éter	o Et ₂ O dietiléter
	FC	cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice
	FLIPR	lector de placas mediante obtención de imágenes de fluorescencia
	FPRL1	receptor de tipo 1 del péptido de formilo
5	FPR2	receptor 2 del péptido de formilo
	GSH	Glutación
	h	hora u horas
	HEPES	ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazina etanosulfónico
	hept	heptano
10	VIH	virus de la inmunodeficiencia humana
	HOBt	hidroxibenzotriazol
	HPLC	cromatografía líquida de alto rendimiento
	CL-EM	cromatografía líquida - espectrometría de masas
	lem	longitud de onda de emisión
15	lex	longitud de onda de excitación
	Me	metilo
	MeOH	metanol
	min	minuto o minutos
	mM	milimolar
20	EM	espectrometría de masas
	nm	nanómetro
	nM	nanomolar
	RMN	resonancia magnética nuclear
	org.	orgánico
25	<i>p</i>	<i>para</i>
	fr	factor de retención
	rpm	revolución por minuto
	ta	temperatura ambiente
	sat.	saturado
30	TFA	ácido trifluoroacético
	THF	tetrahidrofurano
	TLC	cromatografía en capa fina
	TMS	trimetil-sililo
	t _R	tiempo de retención
35	UV	ultravioleta
	Vis	visible

I Química

General. Todas las temperaturas se indican en grados Celsius (°C). Salvo que se indique otra cosa, las reacciones tienen lugar a ta.

40 La cromatografía en capa fina analítica (TLC) se llevó a cabo en placas de 0,2 mm: Merck, Gel de sílice 60 F₂₅₄. La cromatografía en capa fina preparativa (TLC) se llevó a cabo en placas de 0,2 a 0,5 mm: Merck, Gel de sílice 60 F₂₅₄. La detección se llevó a cabo con UV o con una solución de KMnO₄ (3 g), K₂CO₃ (20 g), NaOH al 5 % (3 ml) y H₂O (300 ml) con calentamiento posterior.

45 La cromatografía en columna ultrarrápida (FC) y la filtración se llevaron a cabo utilizando gel de sílice 60 de Merck (0,063-0,200 mm) o gel de sílice Macherey-Nagel (0,063-0,200 mm): elución con EA, Et₂O, hept, hexano, éter de petróleo, CH₂CH₂, CHCl₃, MeOH, NH₄OH o sus mezclas.

50 CL-EM-condiciones 02 (si no se indica otra cosa): Analítica: Thermo Finnigan MSQ Plus MS con bomba binaria 1100 de Agilent y DAD. Columna: Zorbax SB-AQ 5 µm, 4,6x50 mm DI de Agilent Technologies. Eluyentes: A: H₂O + TFA al 0,04 %; B: CH₃CN; Gradiente: 5 % de B → 95 % B durante 1 min. Caudal: 4,50 ml/min. Detección: UV/Vis y/o ELSD, y EM, t_R se proporciona en min.

55 CL-EM-condiciones 07b (si no se indica otra cosa): Analítica. Bomba: Dionex HPG-3200RS, EM: Thermo MSQ Plus, DAD: Dionex DAD-3000RS, ELSD: Sedere Sedex 85. Columna: Zorbax SB-Ac 3,5 µm, 4,6x50 mm DI de Agilent Technologies, termostatzada en el compartimento Dionex TCC-3200. Eluyentes: A: H₂O + TFA al 0,04 %; B: CH₃CN. Procedimiento: Gradiente: 5 % de B → 95 % B durante 1,00 min. Caudal: 4,5 ml/min. Detección: UV/Vis y/o ELSD, y EM, t_R se proporciona en min.

HPLC preparativa: X-Bridge C18 5 µm, 50x19 mm DI de Waters. Eluyentes: A: H₂O + NH₄OH al 0,5 %; B: CH₃CN; Gradiente: 10 % de B → 90 % B durante 5 min. Caudal: 40,0 ml/min. Detección: UV/Vis y/o ELSD, y EM, t_R se proporciona en min.

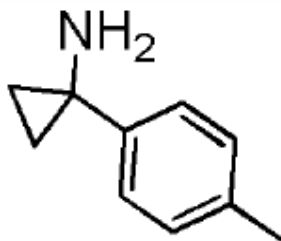
RMN: *BrukerAvance 400* (400 MHz); *Varian Mercury 300* (300 MHz); se proporcionan cambios químicos en ppm

con respecto al disolvente utilizado; multiplicidades: s = singlete, d = doblete, t = triplete, q = cuádruplete, p = pentuplete, hex = hexeto, hept = hepteto, m = multiplete, br = amplio, las constantes de acoplamiento se proporcionan en Hz.

Los siguientes ejemplos ilustran la invención pero no en todo el límite de su alcance.

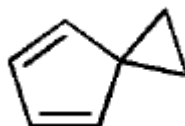
5 **Síntesis de los compuestos intermedios**

1-(*p*-Tolil)ciclopropanamina:



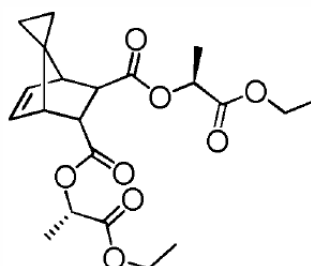
10 En un matraz de fondo redondo secado a la llama provisto de barra agitadora magnética y en atmósfera inerte (N_2), una solución de *p*-tolunitrilo (1195 mg, 10,00 mmol) en Et_2O seco (50 ml) se trató a $-78\text{ }^\circ C$ con $Ti(Oi-Pr)_4$ (3,22 ml, 11,00 mmol) seguido por $EtMgBr$ (7,33 ml de una solución 3,0 M en Et_2O , 22,00 mmol). La suspensión resultante de color amarillo se agitó a $-78\text{ }^\circ C$ durante 10 min, a continuación se calentó hasta ta. A la suspensión de color negro resultante se añadió $BF_3 \cdot Et_2O$ (2,47 ml, 20,00 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a ta durante 1 h. Se añadió cuidadosamente una suspensión acuosa de HCl 1 N (30 ml), seguido por Et_2O y a continuación una solución acuosa de NaOH al 10 % (100 ml). Las capas se separaron, y la capa ac. se extrajo con Et_2O . La combinación de extractos org. se secó con $MgSO_4$, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante FC (15 $CH_2Cl_2/MeOH/NH_4OH$, 1:0:0 \rightarrow 90:10:0,5) para dar la amina del título como un aceite de color amarillo. TLC: fr ($CH_2Cl_2/Me-OH/NH_4OH$, 95:5:0,5) = 0,46. Cl-EM-condiciones 07b: $t_R = 0,49$ min; $[M+H]^+ = 148,29$.

Espiro[2.4]hepta-4,6-dieno:



20 En un matraz de fondo redondo secado a la llama provisto de barra agitadora magnética y en atmósfera inerte (N_2), una mezcla de cloruro de benciltrietilamonio (18,0 g, 78 mmol) en una solución acuosa de NaOH al 50 % (1,2 l) se calentó a $45\text{ }^\circ C$. Una solución enfriada de ciclopentadieno (formada por craqueo de un dímero de ciclopentadieno a $180\text{ }^\circ C$, 140 ml, 1,70 mol) en 1,2-dicloroetano (122 ml, 1,55 mol) se añadió a la solución de NaOH agitada manteniendo a la vez la temperatura interna por debajo de $55\text{ }^\circ C$. Tras finalizar la adición (ca. 1,75 h), la mezcla de reacción se agitó a $50\text{ }^\circ C$ durante 2 h y se dejó enfriar a ta. Las capas se separaron, la capa orgánica se lavó con NaOH 1M, se secó (Na_2SO_4) y se filtró. El líquido bruto de color marrón se destiló a presión reducida (85-95 mbar; 8,5-9,5 kPa) y el compuesto del título se obtuvo como un líquido incoloro (pe = $45-50\text{ }^\circ C$ a 80 mbar (8,0 kPa)). RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6,58 (m, 2H), 6,19 (m, 2H), 1,71 (s, 4H).

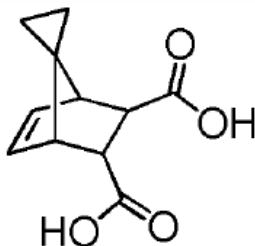
30 **Reacción de Diels Alder - formación de (5*R*,6*R*)-5,6-bis-[(1-(1*S*)-etoxicarbonil)-etoxi-carbonil]-(4*S*,7*R*)-[4,7-etenileno-espiro[2.4]heptano]:**



En un matraz de fondo redondo secado a la llama provisto de barra agitadora magnética y en atmósfera inerte (N_2),

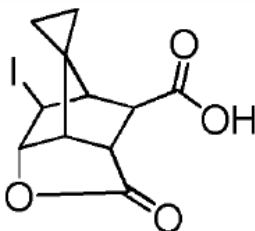
a una solución de (*E*)-1,2-bis-[(1*S*)-1-etoxicarbonil]-etoxi-carbonil]-eteno (7,40 g, 22,69 mmol) en *n*-hexano (76 ml) se añadió espiro[2.4]hepta-4,6-dieno (3,14 g, 34,04 mmol) a ta. La mezcla de reacción se agitó a esta temperatura durante la noche. La mezcla se concentró a presión reducida y el residuo bruto se purificó mediante FC (hept/EA, 9:1). Se obtuvo el compuesto del título como un aceite de color amarillo pálido. TLC: fr (hept/EA, 9:1) = 0,25. CL-EM-condiciones 02: $t_R = 1,12$ min; $[M+H]^+ = 409,00$. RMN 1H (400 MHz, $CDCl_3$) δ 6,44 (dd, $J = 5,5, 3,0$ Hz, 1 H), 6,32 (dd, $J = 5,5, 2,8$ Hz, 1 H), 5,12 (c, $J = 7,1$ Hz, 1 H), 5,06 (c, $J = 7,1$ Hz, 1 H), 4,28-4,14 (m, 4 H), 3,76 (app. t, $J = 4,0$ Hz, 1 H), 2,92 (d, $J = 4,8$ Hz, 1 H), 2,86 (m, 1 H), 2,80 (m, 1 H), 1,55-1,47 (m, 6 H), 1,29 (t, $J = 7,3$ Hz, 3 H), 1,29 (t, $J = 7,3$ Hz, 3 H), 0,70 (m, 1 H), 0,56-0,44 (m, 3 H).

Saponificación - formación de ácido (4*S*,7*R*)-[4,7-etenileno-espiro[2.4]heptano]-(5*R*,6*R*)-5,6-bis-carboxílico:



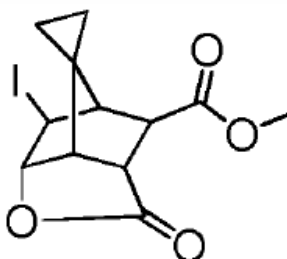
A una solución de (5*R*,6*R*)-5,6-bis-[(1-(1*S*)-etoxicarbonil)-etoxi-carbonil]-(4*S*,7*R*)-[4,7-etenileno-espiro[2.4]heptano] (9,51 g, 23,28 mmol) en THF/ H_2O (1:1, 232 ml) se añadió LiOH (3,91 g, 93,13 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante una noche. Se añadió HCl 1N a fin de ajustar el pH de la mezcla de reacción a pH = 3, se separaron las capas y la capa ac. se extrajo con EA (3x). La combinación de extractos org. se secó con $MgSO_4$, se filtró, y se concentró a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante FC ($CH_2Cl_2/MeOH$, 9:1) para dar el compuesto del título como un aceite incoloro. TLC: fr ($CH_2Cl_2/MeOH$, 9:1) = 0,31. CL-EM-condiciones 02: $t_R = 0,72$ min; $[M+CH_3CN+H]^+ = 250,18$.

Yodolactonización - formación de ácido 6-yodo-2-oxohexahidroespiro[3,5-metanociclopenta[b]furan-4,1'-ciclopropano]-7-carboxílico (yodolactona 2):



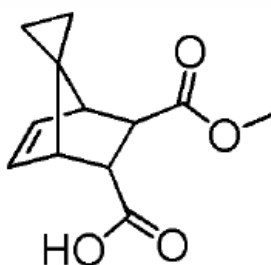
A una solución de ácido (4*S*,7*R*)-[4,7-etenileno-espiro[2.4]heptano]-(5*R*,6*R*)-5,6-bis-carboxílico (5,60 g, 22,32 mmol) en CH_2Cl_2 (33 ml) se añadieron $NaHCO_3$ (2,06 g, 24,56 mmol), agua (100 ml), KI (1,37 g, 82,60 mmol) y I_2 (6,80 g, 26,79 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 3 h. La reacción se inactivó rápidamente mediante la adición de una solución saturada acuosa de $Na_2S_2O_3$. Se separaron las capas y la capa ac. se extrajo con CH_2Cl_2 (3x). La combinación de extractos org. se secó con $MgSO_4$, se filtró, y se concentró a presión reducida. La espuma bruta se purificó mediante FC (EA) para dar el compuesto del título como un sólido de color blanco. TLC: fr (EA) = 0,33.

Esterificación - formación de 6-yodo-2-oxohexahidroespiro[3,5-metanociclopenta[b]furan-4,1'-ciclopropano]-7-carboxilato de metilo:



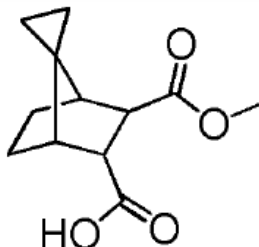
5 En un matraz de fondo redondo secado a la llama provisto de barra agitadora magnética y en atmósfera inerte (N_2), a una solución de yodo lactona 2 enantiopura (5,00 g, 14,96 mmol) en MeOH seco (75 ml) se añadió $TMSCH_2N_2$ (2.0 M en hexanos, 37,0 ml, 74,00 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante la noche, se concentró a presión reducida y se purificó mediante FC (hept/EA, 4:1) para dar el compuesto del título como un sólido de color blanco. TLC: fr (hept/EA, 4:1) = 0,18.

Retroyodolactonización - formación de ácidos (6R)-6-metoxicarbonil-(4S,7R)-[4,7-etenileno-espiro[2.4]heptano]-(5R)-5-carboxílico:



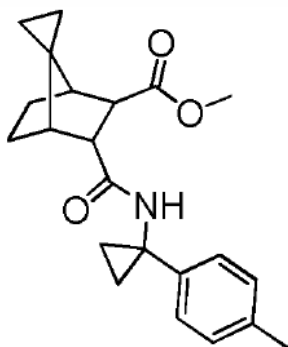
10 En un matraz de fondo redondo secado a la llama provisto de barra agitadora magnética y en atmósfera inerte (N_2), a una solución de 6-yodo-2-oxohexahidroespiro[3,5-metanociclopenta[b]furan-4,1'-ciclopropano]-7-carboxilato de metilo (2,86 g, 8,21 mmol) en ácido acético (29 ml) se añadió polvo de cinc (8,06 g, 123,23 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 65 °C durante 4 h, se enfrió a ta, se filtró y se repartió entre agua y EA. Se separaron las capas y la capa ac. se extrajo con EA (3x). La combinación de extractos org. se lavó con salmuera, se secó con $MgSO_4$, se filtró, y se concentró a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante FC (hept/EA, 1:1) y el compuesto del título se obtuvo como un aceite incoloro. TLC: fr (hept/EA, 1:1) = 0,41.

Reducción del doble enlace - formación de ácido (6R)-6-metoxicarbonil-(4S,7R)-[4,7-etileno-espiro[2.4]heptano]-(5R)-5-carboxílico (documento WO2010/134014):



20 En un matraz de fondo redondo secado a la llama provisto de barra agitadora magnética y en atmósfera inerte (N_2), una suspensión desoxigenada del ácido (6R)-6-metoxicarbonil-(4S,7R)-[4,7-etenileno-espiro[2.4]heptano]-(5R)-5-carboxílico (220 mg, 0,99 mmol), Pd/C al 10 % (44 mg) y ciclohexeno (0,20 ml, 1,98 mmol) en THF seco (2,5 ml) se agitó a temperatura de reflujo durante 2 h. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y la torta del filtro se lavó con THF. El filtrado se concentró a presión reducida y el compuesto del título se obtuvo como un sólido de color blanco. TLC: fr (hept/EA, 2:3) = 0,48.

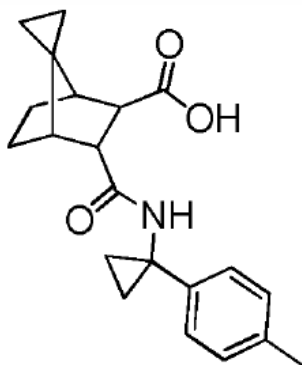
25 **Acoplamiento de la amidacon 1-(p-tolil)ciclopropanamina - formación de (5R)-N⁵-(1-(p-tolil)ciclopropil)-(6R)-6-metoxicarbonil-(4S,7R)-[4,7-etileno-espiro[2.4]heptano]-5-carboxamida:**



En un matraz de fondo redondo secado a la llama provisto de barraza agitadora magnética y en atmósfera inerte (N_2), a una solución de ácido (6*R*)-6-metoxicarbonil-(4*S*,7*R*)-[4,7-etileno-espiro[2.4]heptano]-(5*R*)-5-carboxílico (1565 mg, 6,98 mmol) en CH_2Cl_2 seco (24 ml) se añadieron unas pocas gotas de DMF y cloruro de oxalilo (0,74 ml, 8,38 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 30 minutos, se concentró a presión reducida y el residuo se secó a alto vacío.

5 A una suspensión agitada de 1-(*p*-tolil)ciclopropanamina (1028 mg, 6,98 mmol) en piridina (1,68 ml, 20,94 mmol) se añadió una solución de cloruro de acilo anterior en acetona seca (24 ml). La mezcla de reacción se agitó a ta durante 45 min, se diluyó con EA y se lavó sucesivamente con una solución ac. de HCl 1 N, una solución acuosa saturada de $NaHCO_3$ y salmuera. La capa org. se secó con $MgSO_4$, se filtró, y se concentró a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante FC (hept/EA, 1:0 -> 3:1) y el compuesto del título se obtuvo como un sólido de color amarillo. Cl-EM-condiciones 07b: $t_R = 0,93$ min; $[M+H]^+$ - 353,82.

Saponificación - formación de (5*R*)-*N*⁵-(1-(*p*-tolil)ciclopropil)-(6*R*)-6-hidroxicarbonil)-(4*S*,7*R*)-[4,7-etileno-espiro[2.4]heptano]-5-carboxamida:

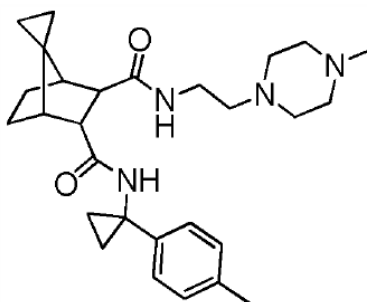


15 A una solución de (5*R*)-*N*⁵-(1-(*p*-tolil)ciclopropil)-(6*R*)-6-metoxicarbonil-(4*S*,7*R*)-[4,7-etileno-espiro[2.4]heptano]-5-carboxamida (1540 mg, 4,36 mmol) en THF (23 ml) se añadió una solución ac. de NaOH 2 N (12 ml, 24,00 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta hasta la finalización de la reacción. A continuación la mezcla se lavó con Et_2O , la capa ac. se acidificó y se extrajo con EA (3x). La combinación de extractos org. se lavó con salmuera, se secó con $MgSO_4$, se filtró, y se concentró a presión reducida para dar el compuesto del título como un sólido de color amarillo pálido. Cl-EM-condiciones 07b: $t_R = 0,84$ min; $[M+H]^+$ = 340,46.

20

Preparación del Ejemplo

Acoplamiento de la amida con 2-(4-metilpiperazin-1-il)etanamina - formación de (5*R*)-*N*⁵-(1-(*p*-tolil)ciclopropil)-(6*R*)-*N*⁶-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)-(4*S*,7*R*)-[4,7-etileno-espiro[2.4]heptano]-5,6-dicarboxamida:



25 En un matraz de fondo redondo secado a la llama provisto de barraza agitadora magnética y en atmósfera inerte (N_2), a (5*R*)-*N*⁵-(1-(*p*-tolil)ciclopropil)-(6*R*)-6-hidroxicarbonil-(4*S*,7*R*)-[4,7-etileno-espiro[2.4]heptano]-5-carboxamida (34 mg, 0,10 mmol) en CH_2Cl_2 (2 ml) se añadieron sucesivamente 2-(4-metilpiperazin-1-il)etanamina (29 mg, 0,20 mmol), EDC.HCl (39 mg, 0,20 mmol), HOBt (19 mg, 0,12 mmol) y DIPEA (0,09 ml, 0,50 mmol). La mezcla de reacción se agitó a ta hasta la finalización de la reacción. A continuación se añadió agua, se separaron las capas y la capa org. se secó con $MgSO_4$, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo bruto se purificó mediante HPLC preparativa para dar el compuesto del título como un sólido de color blanco. TLC: fr ($CH_2Cl_2/MeOH/NH_4OH$, 95:5:0.5) = 0,10. Cl-EM-condiciones 07b: $t_R = 0,63$ min; $[M+H]^+$ = 465,43.

30

II. Ensayos biológicos

Ensayo *in vitro*

Se determinó la actividad agonista del receptor ALX de los compuestos de fórmula (I) de acuerdo con el siguiente procedimiento experimental.

Procedimiento experimental:**5 Mediciones del calcio intracelular:**

Las células que expresan el receptor ALX humano recombinante y la proteína G Gα16 (HEK293-hALXR-Gα16) se hicieron crecer hasta un 80 % de confluencia en medio de crecimiento (MC). Las células se separaron de las placas de cultivo con un tampón de disociación de células (Invitrogen, 13151-014), y se recogieron mediante centrifugación a 1000 rpm a ta durante 5 min en tampón de ensayo (AB) (partes iguales de BSS de Hank (Gibco, 14065-049) y DMEM sin Rojo Fenol (Gibco, 11880-028)). Tras 60 min de incubación a 37 °C con CO₂ al 5 % en AB suplementado con Fluo-4 1 μM (AM) (Invitrogen, F14202) y HEPES 20 mM (Gibco, 15630-056), las células se lavaron y se volvieron a suspender en AB. A continuación se sembraron en placas de ensayo FLIPR de 384 pocillos (Greiner, 781091) a 50.000 células en 70 μl por pocillo y se sedimentaron mediante centrifugación a 1000 rpm durante 1 min. Se prepararon soluciones madre de compuestos de ensayo a una concentración 10 mM en DMSO, y se diluyeron en serie en AB a las concentraciones requeridas para activar las curvas de respuesta a la dosis. Se usó WKYMVm (Phoenix Peptides) como agonista de referencia. Se hizo funcionar un instrumento FLIPR Tetra (Molecular Devices) de acuerdo con las instrucciones convencionales del fabricante, añadiendo 4 μl del compuesto de ensayo disuelto a 10 mM en DMSO antes del experimento en el tampón de ensayo para obtener la concentración final deseada. Se controlaron los cambios en la fluorescencia antes y después de la adición de compuestos de ensayo a $\lambda_{\text{ex}}=488$ nm y $\lambda_{\text{em}}=540$ nm. Los valores de los picos de emisión por encima del nivel inicial después de la adición de los compuestos se exportaron tras la sustracción de la línea de base. Los valores se normalizaron a un nivel elevado del control (compuesto WKYMVm, concentración final 10 nM) tras la sustracción de la línea de base (adición de AB).

En la Tabla 1 se presentan las actividades agonísticas con respecto al receptor ALX (valores de CE₅₀, mediana de n replicaciones) de los compuestos ilustrados.

25

Tabla 1

Compuesto	CE ₅₀ [nM]
<i>Ejemplo 1:</i> (5R)-N5-(1-(p-tolil)ciclopropil)-(6R)-N ⁶ -(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)-(4S,7R)-[4,7-etileno-espiro[2.4]heptano]-5,6-dicarboxamida	9,4 (n = 17)

Ensayo de atrapamiento de dansil-glutatiónIncubación *in vitro*

Los compuestos de ensayo se preincubaron generalmente a 10 μM en tampón fosfato de potasio 0,1 M (pH 7,4) con 1 mg/ml de microsomas de hígado humano y dansil-GSH 1 mM durante 5 min a 37°C en tubos protegidos de la luz. La reacción se inició añadiendo un sistema regenerador de NADPH. Después de 60 min, la reacción se detuvo mediante la adición de dos volúmenes de metanol enfriado en hielo con ditioneitol 5 mM (DTT). Tras la centrifugación, los sobrenadantes se analizaron adicionalmente mediante HPLC con detección por fluorescencia. Se llevaron a cabo experimentos de control en presencia de GSH en vez de dansil-GSH a fin de identificar los precursores fluorescentes y/o los metabolitos como interferencia. Se llevó a cabo otro control en ausencia de fármaco precursor para determinar las señales de fondo debido a la degradación/impurezas del dansil-glutatión.

35

Analítica/cuantificación

Los sobrenadantes de las muestras incubadas se introdujeron en un sistema de HPLC Shimadzu con detector de fluorescencia (λ_{ex} 340, λ_{em} 525 nm) capaz de analizar con presión mayor (600 bar; 6 MPa). Se llevó a cabo la separación usando una columna 4,6x100 mm RP Kinetics (Phenomenex, 2,6 μm) a 1,5 ml/min. Se usó un gradiente completo con agua y acetonitrilo acidificados con ácido fórmico al 0,1 %. Se añadió posteriormente a la columna un volumen de 2 ml de acetonitrilo para reducir la fluorescencia dependiente del disolvente. Los compuestos atrapados en dansil-GSH se identificaron mediante comparación visual de cromatogramas de incubaciones y muestras de control. Se cuantificó la cantidad de material atrapado mediante una calibración externa con concentraciones conocidas de dansil-GSH y se expresaron en pmol/mg*h. Para el *ejemplo 1*, la cantidad de material atrapado fue menor de 100 pmol/mg*h.

45

Ensayo de estabilidad en plasma

Suero de rata o ser humano ajustado a pH 7,4 con ácido láctico o hidróxido de amonio se equilibraron a 37 °C con agitación orbital en una incubadora que contenía CO₂ al 5 %. La reacción se inició mediante la adición de 1 μM de compuestos (1,5 μM de solución madre 1 mM en DMSO en 1498,5 μM de plasma). A 0,01, 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 4 y 6 h, se transfirieron alícuotas (100 μl) a una placa de 96 pocillos que contenía 300 μl de MeOH colocado en hielo para

50

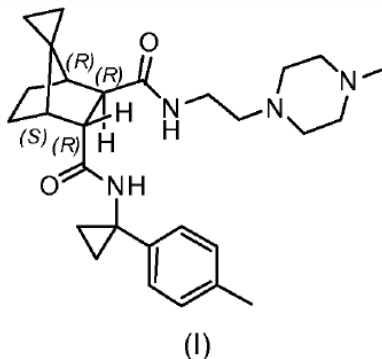
- 5 detener la reacción. Tras vortizar durante 20 min a 1400 rpm en un termomezclador Eppendorf, las placas se centrifugaron a 3220 g durante 20 min a 4°C y los sobrenadantes se analizaron con CL-EM/EM. Se prepararon muestras calibradas en plasma que contenían 0,1 % de diclorvos y se analizaron en paralelo a las muestras de incubación para permitir la cuantificación. A continuación se calcularon las semividas ($T_{1/2}$) en horas. Además, se ha determinado la concentración remanente del respectivo compuesto tras el T_{final} con respecto a la concentración al inicio (tabla 2).

Tabla 2: estabilidad en suero

compuesto	número de réplicas	especies	$T_{1/2}$ [h]	T_{final} [h]	concentración restante a T_{final} [%]
ejemplo 1	1	ser humano	>6	6	82
ejemplo 1	1	rata	>6	6	100

REIVINDICACIONES

1. El compuesto de fórmula (I), compuesto que es (5*R*)-*N*⁵-(1-(*p*-tolil)ciclopropil)-(6*R*)-*N*⁶-(2-(4-metilpiperazin-1-il)etil)-(4*S*,7*R*)-[4,7-etileno-espiro[2.4]heptano]-5,6-dicarboxamida;



- 5 o una sal del compuesto.
2. El compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para su uso como medicamento.
- 10 3. Una composición farmacéutica que contiene, como principio activo, el compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, y al menos un excipiente terapéuticamente inerte.
- 15 4. Uso del compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, o de una de sus sales farmacéuticamente aceptables, en la fabricación de un medicamento para la prevención o tratamiento de una enfermedad seleccionada entre enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, dolencias alérgicas, infecciones retrovíricas mediadas por VIH, trastornos cardiovasculares, neuroinflamación, trastornos neurológicos, dolor, enfermedades mediadas por priones y trastornos mediados por amiloide; y para la modulación de respuestas inmunitarias.
- 20 5. El compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, o una de sus sales farmacéuticamente aceptables, para su uso en la prevención o tratamiento de enfermedades seleccionadas entre enfermedades inflamatorias, enfermedades obstructivas de las vías respiratorias, dolencias alérgicas, infecciones retrovíricas mediadas por VIH, trastornos cardiovasculares, neuroinflamación, trastornos neurológicos, dolor, enfermedades mediadas por priones y trastornos mediados por amiloide; y para la modulación de respuestas inmunitarias.