

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 651 962**

51 Int. Cl.:

C07D 295/088 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **04.12.2014 PCT/EP2014/076524**

87 Fecha y número de publicación internacional: **11.06.2015 WO15082590**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2014 E 14806300 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.09.2017 EP 3077379**

54 Título: **Derivados de bis-MMF**

30 Prioridad:

05.12.2013 EP 13005665
20.12.2013 EP 13198729

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.01.2018

73 Titular/es:

RATIOPHARM GMBH (100.0%)
Graf-Arco-Strasse 3
89079 Ulm, DE

72 Inventor/es:

ALBRECHT, WOLFGANG;
SELIG, ROLAND;
RABE, SEBASTIAN;
MAIER, ANNEMARIE y
GUSERLE, RICHARD

74 Agente/Representante:

ARIAS SANZ, Juan

ES 2 651 962 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 bis-MMF

- 5 La presente invención se refiere a compuestos novedosos, preferentemente para su uso como un medicamento. En particular, la presente invención se refiere a profármacos novedosos de fumarato de monometilo (MMF) adecuados como un medicamento, preferentemente en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades sistémicas, enfermedades autoinmunes y/o enfermedades inflamatorias, por ejemplo, esclerosis múltiple y psoriasis. Adicionalmente, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende dichos compuestos.

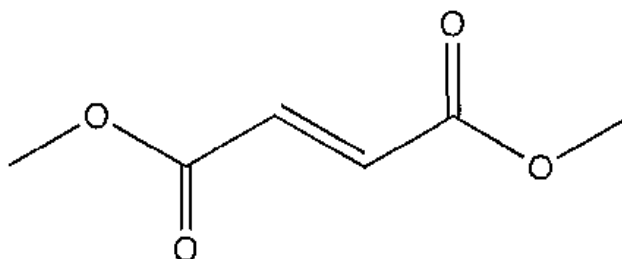
10

Antecedentes de la invención

El fumarato de dimetilo (DMF) es un agente terapéutico oral que se ha descrito que reduce el rechazo que ocurre con frecuencia en relación con el trasplante de órganos (reacción de hospedador contra injerto). Adicionalmente, se aprueba que el DMF es adecuado como medicamento para el tratamiento o la prevención de una diversidad de enfermedades. Por ejemplo, se propone el DMF en el tratamiento de enfermedades autoinmunes tales como la esclerosis múltiple. Adicionalmente, se sugiere que el DMF es un agente farmacéutico activo adecuado en el tratamiento de la psoriasis.

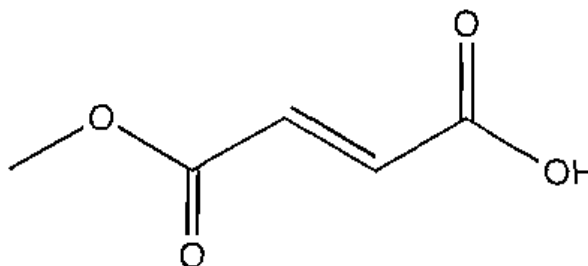
15

- 20 El DMF se caracteriza por la siguiente fórmula química (1):



Fórmula (1)

- 25 Se ha descrito que el DMF, cuando se toma por vía oral, es hidrolizado, por ejemplo, por el ambiente ácido del estómago o por esterases en el intestino, a fumarato de monometilo (MMF). El MMF puede considerarse como un metabolito del DMF y puede caracterizarse por la siguiente fórmula química (2):



Fórmula (2)

- 30 Se ha descrito que el mecanismo de acción del DMF o de su metabolito, el MMF, incluye la inhibición de la translocación nuclear inducida por citocinas del factor nuclear kappa B (NF-κB), la apoptosis de los linfocitos T estimulados y el aumento de la producción de las citocinas T_H2 IL-4 y IL-5 en linfocitos T estimulados, mientras que se supone que la generación de la citocina T_H1 interferón gamma (IFN-γ) no se ve afectada. Se describe que el DMF activa el factor de transcripción Nrf2 (factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide 2), que se une a elementos de respuesta antioxidantes en los promotores de genes protectores, tales como la NADPH-quinona-oxidoreductasa-1 (NQO1) y la hemoxygenasa-1. Por tanto, en última instancia, éste eleva los niveles del importante antioxidante intracelular glutatión (consúltese Albrecht P. et al., *Journal of Neuroinflammation* 2012, 9: 163).

35

- 40 Adicionalmente, se alega que el tratamiento de animales o cultivos primarios de células del SNC con DMF o MMF dio como resultado un aumento de los niveles nucleares de Nrf2 activo, con la posterior regulación positiva de genes diana antioxidantes canónicos. El tratamiento con DMF o MMF aumentó el potencial redox celular, el glutatión, los niveles de ATP y el potencial de membrana mitocondrial de una manera dependiente de la concentración. El

tratamiento de astrocitos o neuronas con DMF o MMF también mejoró significativamente la viabilidad celular después de la prueba oxidativa tóxica de una manera dependiente de la concentración. Este efecto sobre la viabilidad se perdió en las células que tenían el Nrf2 eliminado o reducido. Estos datos indican que el DMF y el MMF son citoprotectores para las neuronas y los astrocitos frente a la lesión y la pérdida celulares inducidas por el estrés oxidativo, potencialmente a través de la regulación positiva de una respuesta antioxidante dependiente de Nrf2. Por tanto, en resumen, se indica que el DMF y el MMF in vivo muestran aproximadamente la misma eficacia, en particular sobre el factor de transcripción Nrf2.

Sin embargo, el uso comercial del DMF está restringido debido a varias razones.

Adicionalmente se informó que el DMF tiene que administrarse en cantidades bastante altas y que el agente farmacéuticamente activo con frecuencia muestra efectos secundarios no deseados tales como la rubefacción y especialmente síntomas relacionados con el tracto gastrointestinal tales como la irritación del estómago y la diarrea.

El documento US 2013/203753 A1 se refiere a fumaratos de morfolinoalquilo y a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos fumaratos de morfolinoalquilo. Adicionalmente, el documento se refiere a métodos de uso de fumaratos de morfolinoalquilo y a composiciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, inflamatorias y autoinmunes incluyendo la esclerosis múltiple, la psoriasis, el trastorno del intestino irritable, la colitis ulcerosa, la artritis, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, el asma, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Huntington y la esclerosis lateral amiotrófica.

El documento WO 2013/175359 A2 se refiere a compuestos específicos o a sus sales farmacéuticamente aceptables, así como a polimorfos, solvatos, enantiómeros, estereoisómeros e hidratos de los mismos. Las composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad eficaz de dichos compuestos específicos pueden formularse para la administración oral, bucal, rectal, tópica, transdérmica, transmucosa, intravenosa, la administración parenteral, en jarabe o inyección. Dichas composiciones pueden usarse en el tratamiento o la prevención de enfermedades neurodegenerativas y otras enfermedades neuroinflamatorias, tales como la esclerosis múltiple.

En consecuencia, existe una necesidad de nuevos compuestos que sean bioequivalentes al DMF (o que muestren una disociación similar en condiciones in vitro respectivas), preferentemente para su uso como un medicamento, más preferentemente en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades sistémicas, enfermedades autoinmunes, y/o enfermedades inflamatorias, por ejemplo, la esclerosis múltiple y la psoriasis. Adicionalmente, dichos medicamentos deben ser susceptibles de aplicarse en dosis apropiadas y no deben provocar efectos secundarios no deseados significativos.

Era un objeto de la presente invención proporcionar compuestos para que se usasen como un medicamento para las enfermedades mencionadas anteriormente, en las que dichos compuestos muestran propiedades farmacocinéticas bioequivalentes en comparación con el DMF.

Además, deben proporcionarse compuestos que se hidrolicen dentro del intestino con sustancialmente la misma velocidad de hidrólisis que el DMF (o en condiciones in vitro respectivas).

Adicionalmente, el compuesto debe provocar, preferentemente, pocos efectos secundarios no deseados.

Además, el compuesto debe mostrar un comportamiento de permeación similar en comparación con el del DMF.

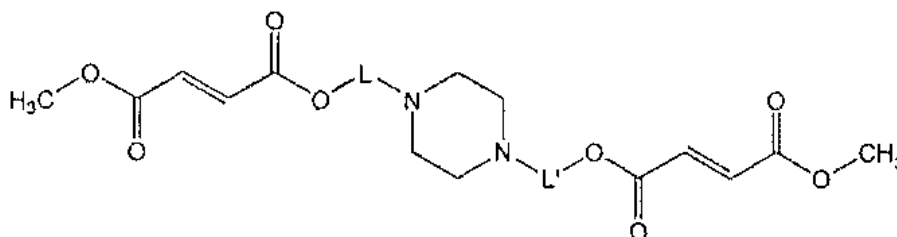
Adicionalmente, era un objeto de la presente invención proporcionar compuestos que puedan utilizarse en el tratamiento de la fase temprana de una enfermedad autoinmune, en particular de la esclerosis múltiple.

Sumario de la invención

De acuerdo con la presente invención, los objetivos anteriores se consiguen mediante los compuestos específicos descritos en el presente documento por la Fórmula (I). Dichos compuestos pueden utilizarse como un medicamento para el tratamiento y/o la prevención de enfermedades sistémicas, enfermedades autoinmunes y/o enfermedades inflamatorias, por ejemplo, la esclerosis múltiple y la psoriasis.

Los compuestos de la presente invención pueden considerarse profármacos. En general, un profármaco puede considerarse una sustancia que se administra a un sujeto (preferentemente un ser humano) en una forma farmacológicamente inactiva o farmacológicamente menos que totalmente activa y, posteriormente, se convierte en el cuerpo del sujeto en un fármaco activo, preferentemente a través de procesos metabólicos que ocurren en el cuerpo del sujeto. En otras palabras, un profármaco por lo general sirve como un tipo de 'precursor' del fármaco previsto.

Por tanto, son el objeto de la presente invención compuestos de acuerdo con la siguiente Fórmula (I):



Fórmula (I),

en la que L y L' son cada uno un resto alcanodiilo con de 1 a 6 átomos de carbono, como alternativa de 2 a 6 átomos de carbono.

5 Se descubrió que los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I) de la presente invención muestran propiedades farmacéuticas y/o farmacocinéticas excelentes. En particular, los compuestos muestran la velocidad de hidrólisis deseada que es sustancialmente la misma que la del DMF.

10 Otro objeto de la invención es un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) para su uso como un medicamento.

Adicionalmente, la presente invención se refiere a un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) para su uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades sistémicas, enfermedades autoinmunes y/o enfermedades inflamatorias, preferentemente para su uso en el tratamiento de la esclerosis múltiple o la psoriasis, en particular de la esclerosis múltiple.

Otro objeto es una composición farmacéutica que comprende el compuesto mencionado anteriormente de acuerdo con la Fórmula (I).

20 Otro objeto de la presente invención es el proceso de producción de un compuesto de acuerdo con la presente invención haciendo reaccionar una forma activada de fumarato de monometilo con una sustancia que comprende dos grupos hidroxilo.

Descripción detallada de la invención

25 En el contexto de la presente invención, el compuesto de la presente invención se representa mediante la Fórmula (I) anterior. Adicionalmente, en la presente invención el compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) también se refiere a sus polimorfos, estereoisómeros, solvatos o hidratos, así como a sales farmacéuticamente aceptables y mezclas de los mismos.

30 El compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) puede comprender preferentemente las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables del compuesto de la invención. Los ácidos que se usan para preparar las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables son preferentemente los que forman sales de adición de ácido no tóxicas, es decir sales que contienen aniones farmacológicamente aceptables, tales como cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, sulfato, bisulfato, fosfato, fosfato ácido, acetato, lactato, citrato, tartrato, (D,L)- y L-malato, bitartrato, succinato, maleato, fumarato, gluconato, sacarato, benzoato, ascorbato, tosilato, mesilato, besilato, aspartato, D-gluconato, glicolato. Una sal preferida es el diclorhidrato de un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I).

40 En una realización particularmente preferida de la presente invención, puede utilizarse un solo compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) como medicamento.

Lo mismo puede aplicarse a la composición farmacéutica que comprende el compuesto de acuerdo con la Fórmula (I).

45 L y L' son cada uno independientemente un resto alcanodiilo con de 1 a 6 átomos de carbono o, como alternativa, de 2 a 6 átomos de carbono.

Los restos alcanodiilo comprenden restos alcanodiilo lineales y ramificados. Son ejemplos para restos alcanodiilo, por ejemplo, $-\text{CH}_2-$, $-(\text{CH}_2)_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-(\text{CH}_2)_3-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2-$, $-(\text{CH}_2)_4-$, $(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)(\text{CH}_2)_2-$, $-\text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{C}_2\text{H}_5)-$, $-\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2-$, $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-\text{CH}(\text{C}_3\text{H}_7)-$, $-(\text{CH}_2)_5-$, $-(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-(\text{CH}_2)_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CHCH}_3(\text{CH}_2)_2-$, $-\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-$, $-(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{CH}_3)_2-$, $-(\text{CH}_2)_6-$, $-(\text{CH}_2)_4\text{CH}(\text{CH}_3)-$, $-(\text{CH}_2)_3\text{CH}(\text{CH}_3)\text{CH}_2-$, $-\text{CH}_2\text{CHCH}_3(\text{CH}_2)_3-$, $-(\text{CH}_2)_3\text{C}(\text{CH}_3)_2-$ y $-(\text{CH}_2)_2\text{C}(\text{CH}_3)_2\text{CH}_2-$

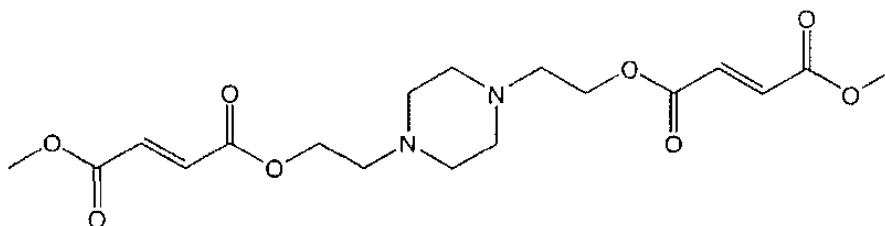
55 En una realización preferida L y L' pueden ser el mismo resto alcanodiilo. Los compuestos que tienen el mismo

enlazador pueden prepararse preferentemente de una manera más fácil y más económica.

5 Se prefiere adicionalmente que L, así como L' sean independientemente restos alcanodiilo lineales con de 2 a 6 átomos de carbono, preferentemente con 2, 3 o 4 átomos de carbono, más preferentemente con 2 o 4 átomos de carbono, en particular con 2 átomos de carbono.

Se prefiere más que L y L' sean ambos restos alcanodiilo lineales con de 1 a 6 átomos de carbono, preferentemente con 2, 3 o 4 átomos de carbono.

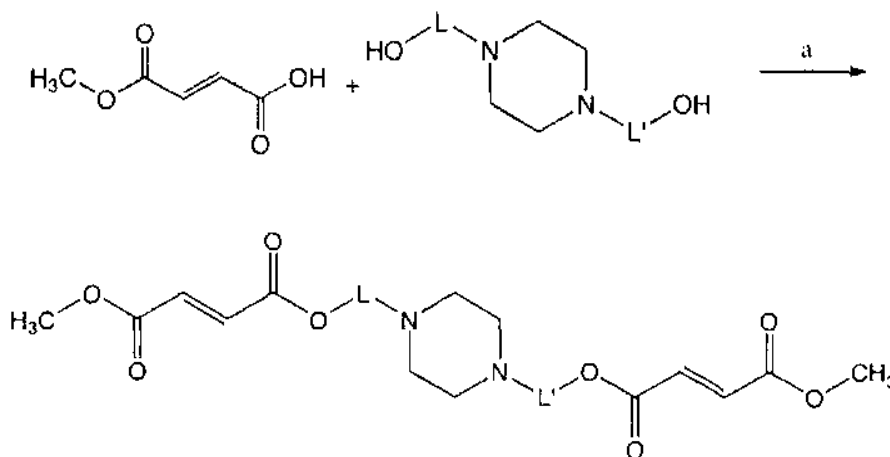
10 En una realización preferida, el compuesto de la invención se representa por la siguiente Fórmula (Ia)



Fórmula (Ia)

En la Fórmula (Ia) L y L' son $-(CH_2)_2-$.

15 Un compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) preferentemente puede sintetizarse a través de la siguiente vía:



Fórmula (I)

20 Preferentemente, en la etapa a, el MMF y el derivado de bis (hidroxialquil) piperazina pueden someterse a una esterificación en un disolvente orgánico en presencia de un agente de acoplamiento. Un agente de acoplamiento es preferentemente una sustancia que en general facilita la formación de un éster o una amida. El agente de acoplamiento reacciona con un grupo carboxi mediante la formación de un intermedio reactivo que posteriormente se hace reaccionar adicionalmente con un alcohol o una amina para formar el producto final, es decir, un éster o una amida. Se informa que se usan agentes de acoplamiento en caso de que uno o ambos de los eductos lleven adicionalmente un grupo que sea lábil en medio ácido o alcalino, puesto que la reacción se realiza en condiciones neutras. Pueden ser agentes de acoplamiento adecuados, por ejemplo, DCC (N,N'-diciclohexilcarbodiimida), DIC (N,N'-diisopropilcarbodiimida), EDC (N-etil-N'-(3-metilaminopropil)carbodiimida), CDI (carbonildiimidazol), preferentemente EDC en combinación con DMAP (4-(dimetilamino)piridina).

25 Un disolvente orgánico adecuado puede ser, por ejemplo, diclorometano, cloroformo, dioxano, acetonitrilo, tetrahidrofurano y dimetilformamida.

35 Como alternativa, el MMF puede hacerse reaccionar preferentemente con cloruro de tionilo o cloruro de oxalilo, preferentemente cloruro de oxalilo, para formar el cloruro de ácido correspondiente. Posteriormente, el cloruro de ácido correspondiente puede someterse a una reacción con un derivado de bis (hidroxialquil) piperazina, preferentemente en un disolvente orgánico, tal como dioxano, tetrahidrofurano, cloroformo o diclorometano.

Adicionalmente, la reacción del cloruro de ácido con el derivado de bis (hidroxialquil) piperazina se realiza preferentemente en presencia de un compuesto alcalino auxiliar. Los compuestos alcalinos adecuados son, por ejemplo, piridina y aminas, tales como trietilamina y diisopropiletilamina, preferentemente trietilamina.

- 5 El compuesto de acuerdo con la Fórmula (I) muestra excelentes propiedades farmacocinéticas, en el que estas propiedades son sustancialmente bioequivalentes a las del DMF. A las dos horas los compuestos muestran una hidrólisis a MMF en el que la hidrólisis es sustancialmente la misma que la del DMF. Como resultado, se libera la misma cantidad de MMF a las dos horas y, por tanto, los compuestos pueden denominarse compuestos (profármacos de MMF) con sustancialmente la misma liberación potenciada de MMF. Adicionalmente, no se espera que el resto orgánico restante dañe el organismo del paciente.

Adicionalmente, la presente invención se refiere a los compuestos de acuerdo con la Fórmula (I) para su uso como un medicamento.

- 15 Un objeto adicional de la invención es el compuesto de la invención para su uso en el tratamiento y/o la prevención de enfermedades sistémicas, enfermedades autoinmunes y/o enfermedades inflamatorias.

Las enfermedades sistémicas no solo afectan a órganos individuales. En su lugar, se sabe que estas enfermedades afectan a varios órganos y tejidos o incluso al cuerpo como un todo.

- 20 Las personas que tienen una enfermedad autoinmune por lo general padecen que su sistema inmunitario erróneamente ataca sus propias células de su organismo y, por tanto, responde de forma incorrecta a sustancias normalmente presentes en el cuerpo.

- 25 Una inflamación puede definirse como la respuesta del cuerpo a la aparición de estímulos nocivos que pueden dar como resultado dolor, calor, enrojecimiento, hinchazón y pérdida de función del órgano afectado.

Es posible que algunas de las enfermedades mencionadas anteriormente no puedan asignarse a un único grupo de los grupos anteriormente mencionados, ya que muestran los síntomas de más de uno de ellos.

- 30 En una realización preferida adicional, el compuesto de la invención es para su uso en el tratamiento de la esclerosis múltiple y la psoriasis, preferentemente la esclerosis múltiple. El compuesto de la presente invención puede usarse, por ejemplo, en el tratamiento de los siguientes tipos de esclerosis múltiple, recidivante-remitente, primaria-progresiva, secundaria-progresiva y progresiva-recidivante. En una realización preferida, el compuesto de la presente invención se usa en el tratamiento de la esclerosis múltiple recidivante-remitente.

Adicionalmente, la presente invención también proporciona una composición farmacéutica que comprende los compuestos de acuerdo con la presente invención, es decir, una composición farmacéutica que comprende un profármaco de MMF de acuerdo con la Fórmula (I) y opcionalmente excipientes farmacéuticos.

- 40 En una realización preferida la composición farmacéutica comprende
- (i) de 0,01 a 10 mmol, más preferentemente de 0,05 a 5 mmol, aún más preferentemente de 0,25 a 3,5 mmol y particularmente preferida de 0,5 a 2,5 mmol de un compuesto de acuerdo con la presente invención;
 - (ii) excipiente o excipientes farmacéuticos.

- 45 En una realización preferida adicional, la presente composición puede comprender uno o más excipientes adicionales, preferentemente excipientes farmacéuticos como se describen en la Farmacopea Europea (Ph. Eur., por sus siglas en inglés) y/o en la Farmacopea de los EE.UU. (USP, por sus siglas en inglés).

- 50 Son ejemplos de excipientes farmacéuticos vehículos, aglutinantes, cargas, disgregantes, agentes de efecto de mecha, sustancias de deslizamiento y/o lubricantes.

En una realización preferida, los excipientes se eligen de manera que la formulación resultante sea una formulación resistente al jugo gástrico. En una realización preferida, la formulación de la presente invención no muestra la liberación significativa del fármaco en condiciones ácidas. En particular, la liberación del fármaco in-vitro después de 2 horas es inferior al 10 %, preferentemente del 0 al 9,9 %, más preferentemente del 0 al 5 %, aún más preferentemente del 0,001 al 3 %, medida de acuerdo con la USP, Aparato II, Paleta, HCl 0,1 N, 37 °C, 50 rpm.

- 60 La composición farmacéutica puede estar en una forma adecuada para la administración oral, preferentemente en forma de un comprimido o cápsula, en particular en forma de un comprimido.

Se prefiere adicionalmente que el comprimido esté recubierto con un recubrimiento pelicular. Como alternativa, la cápsula también puede recubrirse.

- 65 En la presente invención, son posibles los siguientes tres tipos de recubrimientos peliculares:

- recubrimiento pelicular sin afectar a la liberación del principio activo,
- recubrimientos peliculares resistentes a los jugos gástricos,
- recubrimientos peliculares retardantes.

5 En general, pueden prepararse recubrimientos peliculares mediante el uso de agentes formadores de película tales como ceras, derivados de celulosa, poli(met)acrilato, polivinilpirrolidona, ftalato de acetato de polivinilo y/o goma laca o cauchos naturales tales como carragenina.

10 Se prefiere que el presente comprimido esté recubierto con un recubrimiento pelicular resistente a los jugos gástricos. Como alternativa, puede usarse una cápsula que comprenda un recubrimiento pelicular resistente a los jugos gástricos.

15 El recubrimiento pelicular resistente a los jugos gástricos es, preferentemente, un recubrimiento pelicular que es estable en el intervalo de pH de aproximadamente 0,7 a 3,0, que se supone que es el valor de pH del jugo gástrico humano que se encuentra en el estómago. Sin embargo, en un entorno con un valor de pH de 5 a 9, que se supone que está presente en el intestino (delgado) del cuerpo humano, el recubrimiento pelicular resistente a los jugos gástricos se disuelve preferentemente y el fármaco puede liberarse.

20 El recubrimiento pelicular resistente a los jugos gástricos (con frecuencia también denominado recubrimiento entérico) puede comprender agentes formadores de película que son, por ejemplo, grasas, ácidos grasos, ceras, alginatos, goma laca, ftalato de acetato de polivinilo, derivados de celulosa tales como carboxi metil etil celulosa, succinato de acetato de celulosa, ftalato de acetato de celulosa, ftalato de hidroxipropil metil celulosa, succinato de acetato de hidroxipropil metil celulosa, trimelitato de acetato de etilo y copolímeros de ácido met(acrílico) tales como copolímeros de acrilato de metilo-ácido metacrílico, copolímeros de metacrilato de metilo-ácido metacrílico, Eudragits (por ejemplo, Eudragit® L30D, Eudragit® L, Eudragit® S).

El recubrimiento está preferentemente libre de principio activo. Se prefiere adicionalmente que el espesor del recubrimiento sea por lo general de 10 µm a 2 mm, preferentemente de 50 a 500 µm.

30 El recubrimiento preferido puede comprender un agente formador de película y uno o más de los siguientes: lubricante, agente tensioactivo, agente de deslizamiento, pigmento y agua.

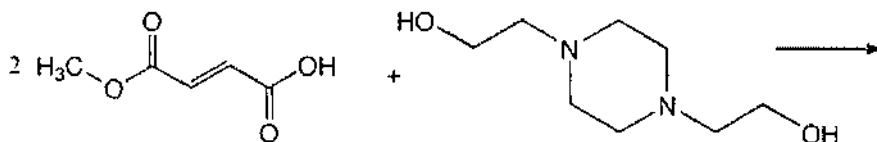
35 El recubrimiento preferido de acuerdo con una realización de la presente invención puede comprender, junto con el agente formador de película, por ejemplo, ácido esteárico como lubricante para plastificar y disolver el polímero, lauril sulfato de sodio como un agente tensioactivo para humectar y dispersar, talco como sustancia de deslizamiento, óxido de titanio y/u óxido de hierro de color amarillo como pigmento o pigmentos y, opcionalmente, agua purificada.

40 En una realización preferida, la composición farmacéutica puede administrarse de una a tres veces al día, preferentemente una vez o dos veces al día, más preferentemente una vez al día.

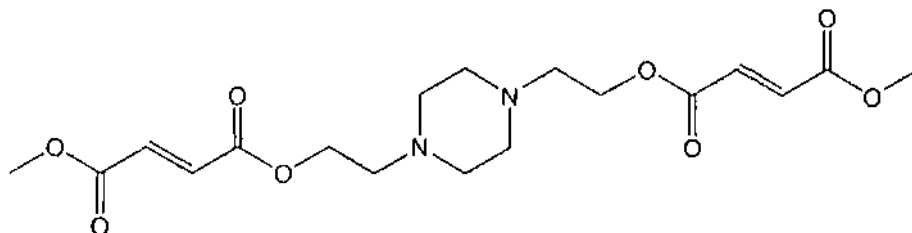
La invención se ilustra mediante los siguientes ejemplos.

Ejemplos

45 **Ejemplo 1: Éster metílico del éster 2-{4-[2-((E)-3-metoxicarbonil-acriloiloxi)-etil]piperazin-1-il}-etilico del ácido (E)-but-2-enodioico**



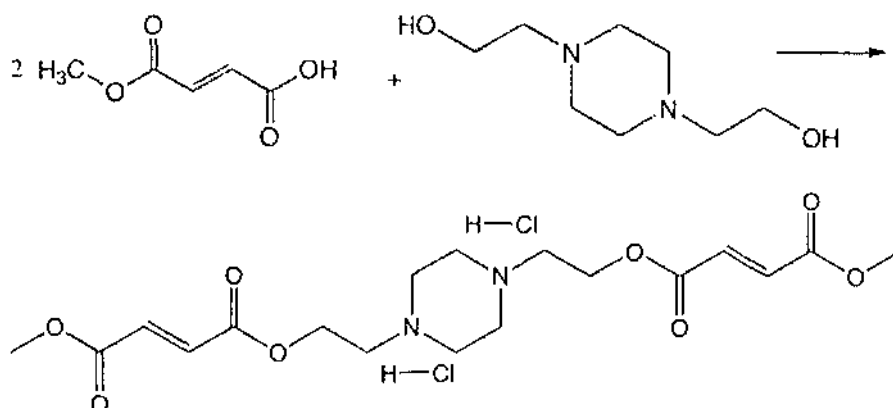
50



A una suspensión agitada de fumarato de monometilo (1,64 g; 12,6 mmol) en diclorometano seco (30 ml) se le añadieron sucesivamente N-etil-N'-(3-metilaminopropil)carbodiimida (2,4 g; 12,6 mmol), 1,4-bis(2-hidroxiethyl)piperazina (1 g; 5,7 mmol) y DMAP (70 mg; 0,6 mmol) a 0 °C. Se dejó que la suspensión se calentase a temperatura ambiente (23 °C) y se continuó agitando durante la noche (durante 14 horas). La mezcla se diluyó con diclorometano adicional (50 ml), se lavó con agua (70 ml, 2 veces) y se secó sobre sulfato de sodio. Después de la retirada del disolvente, el producto en bruto resultante se purificó a través de cromatografía en gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/trietilamina 99:1).

Rendimiento: 970 mg (2,4 mmol; 42 %)

Ejemplo 2: Diclorhidrato del éster metílico del éster 2-{4-[2-((E)-3-metoxicarbonil-acriiloixi)-etil]piperazin-1-il}-etilico del ácido (E)-but-2-enodioico



A una suspensión agitada de fumarato de monometilo (1,64 g; 12,6 mmol) en diclorometano seco (30 ml) se le añadieron sucesivamente N-etil-N'-(3-metilaminopropil)carbodiimida (2,4 g; 12,6 mmol), 1,4-bis(2-hidroxiethyl)piperazina (1 g; 5,7 mmol) y DMAP (70 mg; 0,6 mmol) a 0 °C. Se dejó que la suspensión se calentase a temperatura ambiente (23 °C) y se continuó agitando durante la noche (durante 14 horas). La mezcla se diluyó con diclorometano adicional (50 ml), se lavó con agua (70 ml, 2 veces) y se secó con sulfato de sodio. Después de la retirada del disolvente, el producto en bruto resultante se purificó a través de cromatografía en gel de sílice (eluyente: acetato de etilo/trietilamina 99:1). La sustancia resultante se disolvió en diclorometano y se añadió HCl (3 M en BuOH; 4 eq.). El producto precipitado se recogió por filtración.

Rendimiento: 1,14 g (2,4 mmol; 42 %)

Ejemplo 3: Investigación y comparación de la cinética de la liberación de MMF de los diferentes compuestos de la presente invención y DMF durante la incubación en fluido intestinal del cerdo enano

1. Materiales

1.1. Compuestos de ensayo

Los compuestos de la presente invención se sintetizaron como se ha descrito anteriormente.

1.2. Fluido intestinal

Se prepararon muestras de fluido intestinal en CiToxLAB Scantox A/S. Las muestras se tomaron de 1 un cerdo enano hembra Götting SPF de la reserva patrón de CiToxLAB Scantox A/S, obtenida originalmente de Ellegaard

Göttingen Minipigs A/S, DK-4261 Dalmose, Dinamarca. La cerda enana tenía 10 meses de edad y el peso corporal era de 21 kg. La cerda enana se identificó mediante un número individual etiquetado en el pabellón auricular de una oreja (el número del animal se documenta en los datos en bruto).

- 5 La cerda enana se mantuvo en ayunas durante aproximadamente 28 horas antes del muestreo de fluido intestinal. En el día del muestreo, la cerda enana se pesó y se anestesió mediante una inyección intramuscular en el cuello o en la pata trasera izquierda (aproximadamente 0,3 ml por kg de peso corporal) de una mezcla de Zoletil 50 Vet., Virbac, Francia (125 mg de tiletamina y 125 mg de zolacepam), Rompun Vet., Bayer, Alemania (20 mg de xilazina/ml, 6,5 ml), Ketaminol Vet., Veterinaria AG, Suiza (100 mg de ketamina/ml, 1,5 ml) y Methadon DAK, Nycomed Danmark, Dinamarca (10 mg de metadona/ml, 2,5 ml).

10 Se obtuvo fluido intestinal mediante el lavado de un segmento del yeyuno, que medía 30,2 cm, con solución salina. El fluido intestinal junto con la solución salina utilizada para el lavado se colocó en tubos de centrifuga. Todas las muestras se congelaron a -70 °C y se enviaron en hielo seco al patrocinador para su uso posterior.

15

2. Métodos analíticos

2.1. Cuantificación de MMF mediante CL-EM

20 2.1.1. Instrumento analítico

Instrumento: sistema Acquity UPLC acoplado a un detector TQ (espectrómetro de masas triple cuádruple)

Método UPLC:

Columna: Phenomenex Kinetex C18, 100A, 2,6 µm (150 x 4,6 mm)

Flujo: 0,4 ml/min

División: aprox. 100 µl/min a EM

Temperatura: 30 °C

Sistema de disolvente (isocrático):

Disolvente A 25 % de agua con 0,1 % de ácido acético

Disolvente B 75 % de metanol con 0,1 % de ácido acético

Tiempo de parada: 6 min

Temperatura del automuestreador: 8 °C

Volumen de inyección: 4 µl

Tiempo de retención: MMF: 4,3 min

MEF: 4,7 min

Espectrometría de masas

software: Masslynx 4.1

modo de detección: electronebulización/iones negativos (ESP -)

tensión capilar: 2,3 kV

temperatura de la fuente: 100 °C

temperatura de desolvatación: 450 °C

tensión del cono: 18 V

gas de desolvatación: N₂, 650 l/h

gas del cono: N₂, 20 l/h

gas de colisión: argón, aprox. $3,3 \cdot 10^{-3}$ mbar (10^{-4} kPa)

energía de colisión: 11 eV

MRM [m/z]: 128,94 > 85,03 Permanencia del fumarato de monometilo: 200 mseg

142,99 > 99,06 Permanencia del fumarato de monoetilo (PI): 200 mseg

2.1.2. Soluciones madre y de calibración

- 25 Se prepararon soluciones madre (SM), de trabajo (ST) y de calibración del analito fumarato de monometilo (MMF) y del patrón interno (PI) fumarato de monoetilo (MEF) como se describe a continuación.

SM_{MMF}: En un matraz aforado de 10 ml, se disolvieron 6,5 mg de MMF (Lote: MKRJ0642V/Aldrich) en metanol y se completó el volumen (c = 650 µg/ml)

- 30 SM_{PI}: En un matraz aforado de 100 ml, se disolvieron 10 mg de MEF (Lote: STBC5219V/Aldrich) en metanol y se completó el volumen (c = 100 µg/ml)

ST_{PI}: se transfirieron 100 µl de SM_{PI} a un matraz aforado de 10 ml y se completó el volumen con acetonitrilo (c = 1.000 ng/ml);

Se prepararon soluciones de calibrado mediante dilución en serie de SM_{MMF}; se usó como matriz fluido de intestino

delgado diluido (diluido a 1/20 v/v con KH_2PO_4 50 mM, pH 6,8; (FI dil). El esquema de dilución se proporciona a continuación:

Solución de calibración	Preparación		Concentración	
			[ng/ml]	[μM]
cal6500	8 μl de SM_{MMF}	+ 792 μl de FI dil	6500	50
cal3250	50 μl de cal6500	+ 50 μl de FI dil	3250	25
cal650	20 μl de cal6500	+ 180 μl de FI dil	650	5,0
cal325	50 μl de cal650	+ 50 μl de FI dil	325	2,5
cal65	10 μl de cal650	+ 90 μl de FI dil	65	0.5

5 2.1.3. Preparación de la muestra

Se mezcló una muestra de 50 μl (solución de calibración o muestra de un experimento de incubación con profármacos de MMF) con 50 μl de ST_{PI} , 20 μl de ácido fórmico y 100 μl de acetonitrilo. Esta mezcla se agitó con formación de vórtice durante 15 s y se centrifugó (13.000 rpm, 3 min). A continuación, se sometieron 4 μl del sobrenadante a análisis por CL-EM.

2.2. Experimentos de incubación con DMF (referencia) y compuestos de la invención

2.2.1. Soluciones madre

Se prepararon soluciones madre de DMSO o, para un solo compuesto, en DMSO con un 10 % (v/v) de agua. Las concentraciones en las soluciones madre eran 5,00, 2,50 y 1,67 mmol para compuestos con uno, dos y tres equivalentes molares de MMF.

Compuesto	PM	Peso de la muestra [mg]	Disuelto en	Concentración	
				[mg/ml]	[mmol]
DMF	144,13	7,21	10 ml de DMSO	0,721	5,00
Ejemplo 1	398,42	4,98	5 ml de DMSO	0,996	2,50
Ejemplo 2	471,34	5,89	5 ml de DMSO + 10 % de H_2O	1,178	2,50

2.2.2. Experimento de incubación

En un vial de vidrio de HPLC, se mezclaron 8 μl de solución madre con 792 μl de FI dil y la mezcla se agitó (250 rpm) en un baño de agua ($T = 37^\circ\text{C}$).

Inmediatamente después de la mezcla, así como a $t = 15$ min, 30 min, 60 min, 90 min y 120 min, se retiraron 50 μl y se prepararon para el análisis por CL-EM como se describe en el capítulo 2.1.3.

Se continuó con las incubaciones y en el caso en que el resultado del análisis a los 120 min indicó la presencia de profármaco de MMF intacto restante, se tomaron muestras adicionales ($t = 360$ o 420 min y a 1.260 o 1.320 min) y se analizaron.

3. Resultados

3.1. Calibración del método analítico

Cada solución de calibración se analizó dos veces. El segundo análisis se realizó aproximadamente 18 h después del almacenamiento de la muestra en el automuestreador, que se enfrió a 8°C . Los resultados demuestran que la relación del área de los picos permanece esencialmente sin cambios entre el primer y el segundo análisis.

Los pares de datos de concentración/relación de área de los picos se sometieron a análisis por regresión con ponderación $1/x$ y la ecuación de calibración resultante se usó para cuantificar el contenido de MMF en las muestras de incubación.

Patrón de calibración	Concentración nominal [ng/ml]	Análisis	área/área (PI)	Media	RSD
cal6500	6500	1° análisis	3,569	3,567	0,07
		2° análisis	3,564		

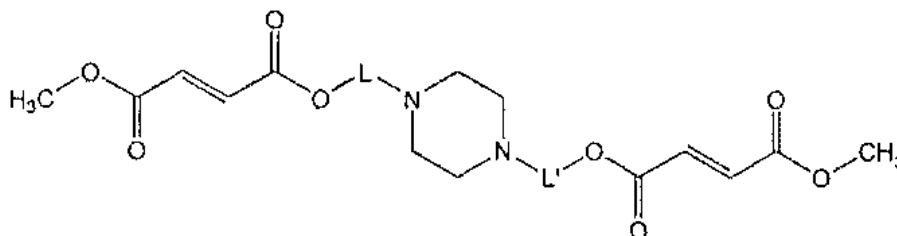
ES 2 651 962 T3

Patrón de calibración	Concentración nominal [ng/ml]	Análisis	área/área (PI)	Media	RSD
cal3250	3250	1º análisis	1,710	1,681	1,73
		2º análisis	1,652		
cal650	650	1º análisis	0,348	0,347	0,29
		2º análisis	0,346		
cal325	325	1º análisis	0,174	0,169	2,96
		2º análisis	0,164		
cal65	65	1º análisis	0,036	0,035	2,86
		2º análisis	0,034		
cal0	0	1º análisis	0,000	0,000	0,00
		2º análisis	0,000		

Como puede observarse a partir de la Figura 1 los compuestos de la invención de acuerdo con el Ejemplo 1 y 2 muestran sustancialmente la misma hidrólisis para el MMF que para el DMF.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de acuerdo con la Fórmula (I)



Fórmula (I),

5

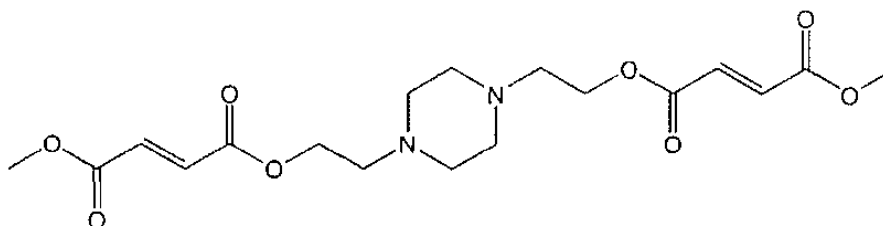
en la que L y L' son cada uno un resto alcanodiilo con de 1 a 6 átomos de carbono.

2. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que L y L' son el mismo resto alcanodiilo.

10

3. Compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que L y L' son restos alcanodiilo lineales.

4. Compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 representado por la Fórmula (Ia)



Fórmula (Ia)

15

5. Compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para su uso como un medicamento.

6. Compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso en el tratamiento de enfermedades sistémicas, enfermedades autoinmunes o enfermedades inflamatorias, preferentemente para el uso en el tratamiento de la esclerosis múltiple o la psoriasis.

20

7. Composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6.

25

8. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7, que comprende
(i) de 0,01 a 10 mmol de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, y
(ii) opcionalmente, excipientes farmacéuticos.

30

9. Composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 7 u 8, en la que la composición es una forma de dosificación oral sólida.

10. Composición farmacéutica de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9, en la que la liberación del fármaco in vitro después de 2 horas es inferior al 10 %, medida de acuerdo con la USP, Aparato II, paleta, HCl 0,1 N, 37 °C, 50 rpm.

35

Figura 1

