

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 655 455**

51 Int. Cl.:

**C07C 235/34** (2006.01)

**A61K 31/165** (2006.01)

**A61P 9/12** (2006.01)

**A61P 13/12** (2006.01)

12

## TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.09.2014 PCT/AU2014/000923**

87 Fecha y número de publicación internacional: **26.03.2015 WO15039173**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.09.2014 E 14845373 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.10.2017 EP 3046901**

54 Título: **Composiciones para el tratamiento de hipertensión y/o fibrosis**

30 Prioridad:

**17.09.2013 AU 2013903573**

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

**20.02.2018**

73 Titular/es:

**VECTUS BIOSYSTEMS LIMITED (100.0%)  
3-11 Primrose Avenue  
Rosebery, NSW 2018, AU**

72 Inventor/es:

**DUGGAN, KAREN ANNETTE**

74 Agente/Representante:

**CONTRERAS PÉREZ, Yahel**

**ES 2 655 455 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**

Composiciones para el tratamiento de hipertensión y/o fibrosis

**5 Campo de la invención**

La presente invención se refiere a nuevos compuestos y a su uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de la enfermedad cardiovascular y, en particular, en el tratamiento de la prehipertensión, la hipertensión y/o enfermedades fibróticas.

10

La invención se ha desarrollado principalmente para el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de la enfermedad cardiovascular y se describirá más adelante en referencia a esta aplicación. Sin embargo, se apreciará que la invención no se limita a este campo particular de uso.

**15 Antecedentes de la invención**

Cualquier discusión de la técnica anterior a lo largo de toda la memoria no se debería considerar de ninguna manera como una admisión de que tal técnica anterior es ampliamente conocida o forma parte del conocimiento general común en el campo.

20

La hipertensión (alta tensión sanguínea) afecta al 26% de la población adulta mundial con una incidencia del 30-33% en países occidentales. Se espera que la incidencia mundial de la hipertensión alcance el 29% en 2025 como consecuencia de la occidentalización de India y China. Estudios actuales indican que menos del 20% de los pacientes con hipertensión logran su objetivo de presión sanguínea (PS) recomendado y que para alcanzar estos objetivos >75% de los pacientes requieren terapia con agentes antihipertensivos múltiples. La prehipertensión (presión sanguínea ligeramente elevada) afecta el 31% de los adultos en los EEUU y puede convertirse en hipertensión si no se trata.

25

Todas las terapias actualmente disponibles tienen efectos secundarios:

30

- Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (IECA) – tos, edema angioneurótico, hiperkalemia;
- Bloqueadores del Receptor de Angiotensina (BRA) – edema angioneurótico, hiperkalemia;
- Bloqueadores del Canal de Calcio (BCC) – dilatación, edema de pierna/tobillo, estreñimiento;
- Diuréticos de tiazida – diabetes de nueva aparición, gota, hiponatremia;
- 35 • Bloqueadores beta ( $\beta$ ) – diabetes de nueva aparición, incapacidad de hacer ejercicio, bradicardia, enmascaramiento de hipoglicemia en diabéticos; y
- Antagonistas de aldosterona – ginecomastia, menorragia, hiperkalemia.

35

La necesidad de usar una terapia de combinación incrementa la probabilidad de que los pacientes experimenten efectos secundarios como consecuencia de no lograr su PS objetivo.

40

La hipertensión y la prehipertensión son un factor muy importante en el desarrollo del daño de vasos sanguíneos, del corazón y del riñón, teniendo como resultado el reemplazo de tejido funcional normal por tejido cicatricial o fibrosis. Algunos de los actuales agentes antihipertensivos – inhibidores de ECA, inhibidores de renina de BRA y antagonistas de la aldosterona son capaces de retrasar la progresión del reemplazamiento del tejido funcional por fibrosis, ninguno ha mostrado que invierta la fibrosis existente y restaure la arquitectura de tejido normal. Por tanto, hay una necesidad de agentes que tengan la eficacia de reducir la PS significativamente y así permitir que una proporción mayor de pacientes logren la PS objetivo con terapia con un único agente y/o invertir la fibrosis existente y/o restaurar la arquitectura de tejido normal.

50

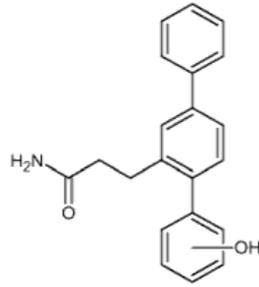
*Whitworth Expert Opin. Emerging Drugs* 2003, 8, 377-388 es un artículo de revisión sobre fármacos emergentes en el tratamiento de la hipertensión. El documento WO 2005/120545 describe el tratamiento de fibrosis de miocardio con péptido intestinal vasoactivo y fragmentos activos del mismo.

55 Es un objetivo de la presente invención superar o mejorar al menos una de las desventajas de la técnica anterior, o proporcionar una alternativa útil.

**Resumen de la invención**

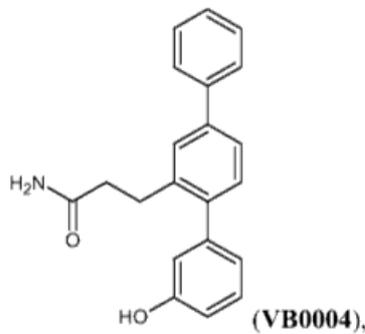
60 Sorprendentemente, los presentes inventores han encontrado que ciertos nuevos compuestos de terfenilo tienen efectos reductores de la presión sanguínea y/o antifibróticos. Estos efectos se pueden ver en estudios intravenosos y/o de dosificación oral.

Según un aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de la fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 En una realización, el compuesto es



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

10

Según otro aspecto, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la presente invención y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

15 Según otro aspecto, la presente descripción se refiere a un método para el tratamiento terapéutico de la hipertensión o la prehipertensión en un sujeto que comprende administrar al sujeto un compuesto según la presente invención.

Según otro aspecto, la presente descripción se refiere a un método para el tratamiento terapéutico de la fibrosis en un sujeto que comprende administrar al sujeto un compuesto según la presente invención.

20 Según otro aspecto, la presente descripción se refiere a un método para el tratamiento profiláctico de la fibrosis en un sujeto que comprende administrar al sujeto un compuesto según la presente invención.

Según otro aspecto, la presente descripción se refiere a un método para el tratamiento terapéutico de la hipertensión y la fibrosis en un sujeto que comprende administrar al sujeto un compuesto según la presente invención.

25

Según otro aspecto, la presente descripción se refiere a un método para el tratamiento terapéutico de la prehipertensión y la fibrosis en un sujeto que comprende administrar al sujeto un compuesto según la presente invención.

30 En una realización, la fibrosis es fibrosis de miocardio o fibrosis de riñón.

En otra realización, la fibrosis es fibrosis de miocardio o fibrosis de riñón.

35 Según otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de la presente invención para su uso en el tratamiento terapéutico de la hipertensión o la prehipertensión.

Según otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de la presente invención para su uso en el tratamiento terapéutico de la fibrosis.

40 Según otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de la presente invención para su uso en el tratamiento profiláctico de la fibrosis.

Según otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de la presente invención para su uso en el tratamiento terapéutico de la hipertensión y la fibrosis.

Según otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de la presente invención para su uso en el 5 tratamiento terapéutico de la prehipertensión y la fibrosis.

Según otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento terapéutico de la hipertensión o la prehipertensión.

10 Según otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento terapéutico de la fibrosis.

Según otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento profiláctico de la fibrosis.

15 Según otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de la presente invención para la fabricación de un medicamento para el tratamiento terapéutico de la hipertensión y la fibrosis.

Según otro aspecto, la presente invención se refiere al uso de un compuesto de la presente invención para la 20 fabricación de un medicamento para el tratamiento terapéutico de la prehipertensión y la fibrosis.

A menos que el contexto requiera claramente lo contrario, por toda la descripción y las reivindicaciones, las palabras “comprenden”, “que comprenden”, y similares son para ser interpretadas en un sentido inclusivo en lugar de un sentido exclusivo o exhaustivo; es decir, en el sentido de “que incluye, pero no se limita a”.

25

#### Breve descripción de las figuras

Figura 1: Síntesis de VB0004.

30 Figura 2: Síntesis de carbamoilmetilfosfonato de dietilo.

Figura 3: Se observaron respuestas de impedancia negativa para el compuesto VB0004 a una concentración de 62,5  $\mu$ M, 125  $\mu$ M y 250  $\mu$ M cuando se incubó con células de músculo liso vascular A10 en un xCELLigence de Roche.

35

Figura 4: Presiones sanguíneas sistólicas en SHR con una dieta de sal al 2,2% después de 4 semanas de tratamiento con administración oral de VB0004 a 10, 100 y 500 pmol/kg/min.

Figura 5: Se observaron respuestas de impedancia negativa para el compuesto VB0004 a una concentración de 62,5  $\mu$ M, 125  $\mu$ M y 250  $\mu$ M cuando se incubó con células endoteliales aórticas bovinas en un xCELLigence de Roche.

40

Figura 6: Presiones sanguíneas sistólicas en SHR con una dieta de sal al 2,2% después de 4 semanas de tratamiento con infusión intravenosa de VB0004 a 10 y 20 pmol/kg/min.

45

Figura 7: Descenso en la presión sanguínea sistólica media después de 4 semanas de tratamiento con diversas dosis de VB0004 que oscilan desde 10 a 2.500 pmol/kg/min oralmente en comparación con la presión sanguínea sistólica media de animales control.

Figura 8: Descenso en la presión sanguínea sistólica media en SHR con una dieta de sal al 2,2% tratada con VB0004 a 2.500 pmol/kg/min oralmente en comparación con controles a diversos plazos hasta 8 semanas.

50

Figura 9: La fibrosis en el corazón después de 4 semanas de tratamiento con VB0004 oralmente en SHR de 18 semanas de vida con una dieta de sal al 2,2% a dosis desde 10 a 500 pmol/kg/min (barras sombreadas) se disminuye en comparación con la fibrosis en controles de 14 y 18 semanas (barras abiertas) en SHR con una dieta de sal al 2,2%. \*  $p < 0,005$ , \*\*  $p < 0,0005$  frente a control de 18 semanas, #  $p < 0,05$  frente a control de 14 semanas.

55

Figura 10: La fibrosis en el riñón después de 4 semanas de tratamiento con VB0004 oralmente en SHR de 18 semanas de vida con una dieta de sal al 2,2% a dosis desde 10 a 500 pmol/kg/min (barras sombreadas) se disminuye en comparación con la fibrosis en controles de 14 y 18 semanas (barras abiertas) en SHR con una dieta de sal al 2,2%. \*  $p < 0,005$ , \*\*  $p < 0,0005$  frente a control de 18 semanas, #  $p < 0,05$ , ##  $p < 0,005$ , ###  $p < 0,0005$  frente a control de 14 semanas.

60

Figura 11: Micrografías del corazón de ratas control y ratas tratadas durante cuatro semanas con 500

65

pmol/kg/min de VB0004. El panel superior muestra la sección del corazón control donde el tejido fibroso aparece gris en la tinción tricrómica de Masson (véase flechas). El panel inferior muestra que virtualmente el tejido fibroso no está presente en secciones de animales tratados con VB0004.

- 5 Figura 12: Micrografías de riñón de ratas control y ratas tratadas durante cuatro semanas con 500 pmol/kg/min de VB0004. El panel superior muestra la sección del riñón control donde el tejido fibroso aparece gris en la tinción tricrómica de Masson (véase flechas). El panel inferior muestra que virtualmente el tejido fibroso no está presente en secciones de animales tratados con VB0004.

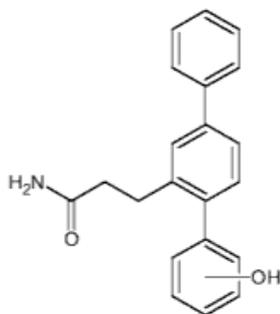
## 10 Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a ciertos nuevos compuestos de terfenilo que muestran efectos reductores de la presión sanguínea y antifibróticos en estudios de dosificación intravenosa y/u oral en un modelo animal experimental. Con respecto a la actividad antifibrótica, los compuestos de la presente invención son eficaces en

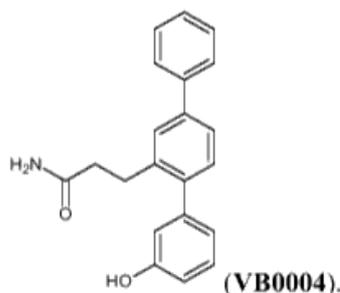
15 prevenir la fibrosis, retrasar la progresión de la fibrosis establecida y/o reducir el grado (inversión) de la fibrosis establecida. Hay importantes descubrimientos con respecto al rango y gravedad de las afecciones que se pueden tratar con los compuestos de la presente invención.

Los compuestos de la presente invención están representados por la fórmula:

20



El siguiente compuesto es un ejemplo específico, pero no limitante, de los compuestos de la presente invención:



25

El compuesto también puede estar representado por el siguiente nombre: 2'-[3-hidroxi-(1,1':4',1''-terfenil)]propanamida.

30 En general, los compuestos de la presente invención se pueden preparar por los métodos ilustrados en los esquemas de reacción general como, por ejemplo, los descritos más adelante, o por modificaciones de los mismos, usando materiales de partida fácilmente disponibles, reactivos y procedimientos de síntesis convencional. En estas reacciones, también es posible hacer uso de variantes que son en sí mismas conocidas, pero no se mencionan en el presente documento.

35

La presente invención también contempla sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos. El término "sal farmacéuticamente aceptable" incluye tanto sales de adición de ácido como de base y se refiere a sales que conservan la eficacia biológica y las propiedades de las bases o ácidos libres, y que no son biológicamente o de otra manera indeseables. Las sales farmacéuticamente aceptables se forman con ácidos o bases inorgánicos u

40 orgánicos, y se pueden preparar *in situ*, durante el aislamiento final y la purificación de los compuestos, o haciendo reaccionar por separado un compuesto purificado en su forma de base o ácido libre con un ácido o base orgánico o inorgánico adecuado, y aislando la sal así formada.

El término “fibrosis” como se usa en el contexto de la presente invención incluye, pero no se limita a, fibrosis de miocardio y/o fibrosis de riñón.

Además del tratamiento de la fibrosis establecida, los compuestos de la presente invención se pueden usar 5 profilácticamente en sujetos en riesgo de fibrosis en desarrollo. Como ejemplo de sujetos en la categoría de riesgo para fibrosis en desarrollo son aquellos que tienen hipertensión, diabetes, miocarditis, enfermedad cardíaca isquémica, Síndrome de Conn, feocromocitoma, dieta alta en sal predisposición genética y/o que recibe fármacos usados en quimioterapia de cáncer (tal como daunorrubicina). El término “profiláctico” como se usa en el contexto de la presente invención pretende entre otros abarcar los tratamientos usados para prevenir o retrasar el desarrollo de 10 fibrosis en el grupo de riesgo. Los sujetos a los que se puede dar tratamiento profiláctico pueden tener ya signos de insuficiencia cardíaca temprana en la ecocardiografía.

El término “hipertensión” como se usa en el contexto de la presente invención indica una presión sanguínea adulta de por encima aproximadamente 139 mmHg sistólica y/o por encima aproximadamente 89 mmHg diastólica.

15 El término “prehipertensión” como se usa en el contexto de la presente invención indica una presión sanguínea adulta en el intervalo aproximadamente 120 a 139 mmHg sistólica y/o aproximadamente 80 a 89 mmHg diastólica.

La presente invención también contempla composiciones farmacéuticas que incluyen los compuestos de la presente 20 invención, junto con excipientes farmacéuticos aceptables. El término “excipiente farmacéuticamente aceptable” como se usa en el contexto de la presente invención significa cualquier componente inactivo farmacéuticamente aceptable de la composición. Como es bien conocido en la técnica excipientes incluyen diluyentes, tampones, aglutinantes, lubricantes, disgregantes, colorantes, antioxidantes/conservantes, reguladores del pH, etc. Los excipientes se seleccionan basándose en los aspectos físicos deseados de la forma final: por ejemplo, obteniendo 25 un comprimido con dureza y friabilidad deseada que fácilmente se dispersa y fácilmente se traga, etc. La tasa de liberación deseada de la sustancia activa de la composición después de su ingestión también juega un papel en la elección de excipientes. Las composiciones farmacéuticas pueden incluir cualquier tipo de forma farmacéutica tal como comprimidos, cápsulas, polvos, formulaciones líquidas, liberación retrasada o sostenida, parches, polvos para inhalar (*snuff*), aerosoles nasales y similares. La forma física y el contenido de las composiciones farmacéuticas 30 contempladas son preparaciones convencionales que pueden estar formuladas por los expertos en el campo de la formulación farmacéutica y se basan en los principios bien establecidos y las composiciones descritas en, por ejemplo, “Remington: The Science and Practice of Pharmacy”, 19ª Edición, 1995; “British Pharmacopoeia” 2000 y textos y manuales de formulación similares.

35 Por ejemplo, cuando los compuestos o las composiciones son para ser administrados oralmente, se pueden formular como comprimidos, cápsulas, gránulos, polvos o jarabes; o para la administración parenteral, se pueden formular como inyecciones (intravenosas, intramusculares o subcutáneas), preparaciones de infusión por goteo o supositorios. Para la aplicación por la vía de membrana mucosa oftálmica, se pueden formular como gotas oftálmicas o pomadas para ojos. Estas formulaciones se pueden preparar por medios convencionales, y, si se 40 desea, el principio activo se puede mezclar con cualquier aditivo convencional, tal como un excipiente, un aglutinante, un agente disgregante, un lubricante, un correctivo, un agente de solubilización, un ayudante de suspensión, un agente emulsionante o un agente de revestimiento.

45 Cuando el(los) compuesto(s) de la presente invención se administran como compuestos farmacéuticos, a humanos y animales, se pueden dar *per se* o como una composición farmacéutica que contiene, por ejemplo, 0,1 a 99,5% (más preferiblemente, 0,5 a 90%) de principio activo en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable.

La dosificación de un compuesto y la frecuencia de administración que se debería usar también pueden ser 50 fácilmente determinadas por el médico para producir la respuesta deseada.

Aunque la dosificación variará dependiendo de los síntomas, la edad y el peso corporal del paciente, la naturaleza y gravedad del trastorno a tratar o prevenir, la vía de administración y la forma del fármaco, en general, una dosis diaria de desde 0,0001 mg a 200 mg del compuesto de la presente invención puede ser una cantidad efectiva adecuada para un paciente humano adulto, y esto se puede administrar en una sola dosis o en dosis divididas.

55 Un “paciente” o “sujeto” a tratar por el método objeto puede significar o bien un sujeto humano o no humano.

Una “cantidad efectiva” de un compuesto objeto, con respecto a un método de tratamiento, se refiere a una cantidad del compuesto terapéutico en una preparación que, cuando se aplica como parte de una posología deseada 60 proporciona un beneficio según patrones clínicamente aceptables para el tratamiento o profilaxis de un trastorno particular.

A continuación, la presente invención se describirá con más detalle en referencia a ejemplos específicos pero no limitantes que describen composiciones específicas y métodos de uso. Sin embargo, hay que entender que la 65 descripción detallada de los procedimientos específicos, composiciones y métodos se incluye solamente con el

propósito de ilustrar la presente invención. No se debería entender de ningún modo como una restricción sobre la descripción general del concepto inventivo anteriormente expuesto.

## Ejemplos

5

### Ejemplo 1 – Síntesis del compuesto

#### Compendio de la síntesis

- 10 La ruta sintética usada para preparar VB0004 se muestra en la Figura 1. En resumen, se preparó 5-fenilsalicilaldehído (10) por una reacción de acoplamiento cruzado de Suzuki entre 5-bromosalicilaldehído y ácido fenilborónico. A continuación, este fenol se convirtió al correspondiente triflato de arilo (11) (usando *N*-feniltriflimida e irradiación de microondas), el cual se sometió a otra reacción de Suzuki con ácido 3-(benciloxi)fenilborónico para formar terfenil aldehído (12). Una reacción de Horner-Wadsworth-Emmons entre aldehído (12) y fosfonato (F)
- 15 proporcionó amida  $\alpha,\beta$ -insaturada (13), que posteriormente se redujo para formar VB0004.

Se generó carbamoilmetilfosfonato de dietilo (F) a partir de una reacción de Arbuzov entre 2-cloroacetamida y trietil fosfito (preparado como se muestra en la Figura 2).

#### 20 Síntesis de 2-hidroxi-5-fenilbenzaldehído (10)

- Se agitaron 5-bromosalicilaldehído (2,49 g, 12,4 mmol), ácido fenil borónico (1,51 g, 12,4 mmol), acetato de paladio (II) (14 mg, 0,5 mol%) y carbonato de potasio (5,14 g, 37,2 mmol) en agua desgasificada (75 ml) a temperatura ambiente durante 2 h, bajo una atmósfera de argón. Se hizo un seguimiento de la reacción por TLC
- 25 (diclorometano/pentano 1:1). Se añadió agua (75 ml) y la mezcla de reacción se acidificó (pH 6) con HCl al 10%, a continuación, se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, a continuación, se secaron y concentraron. El material bruto se pasó a través de una columna corta de sílice, eluyendo con diclorometano/pentano 1:1, a continuación, se recristalizó a partir de acetato de etilo/pentano para proporcionar 2-hidroxi-5-fenilbenzaldehído (1,89 g, 77%) como cristales amarillos oscuros (se pueden triturar con pentano en lugar
- 30 de recristalizar si se desea); mp 100-101 °C,  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10,99 (s, 1H); 9,97 (s, 1H); 7,78-7,73 (m, 2H); 7,56-7,52 (m, 2H); 7,47-7,41 (m, 2H); 7,37-7,32 (m, 1H); 7,09-7,04 (m, 1H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  196,9, 161,2, 139,6, 136,0, 133,6, 132,1, 129,2, 127,6, 126,8, 121,0, 118,4. EIMS: m/z 198 [M]<sup>+</sup>. HRMS calculado para  $\text{C}_{13}\text{H}_{10}\text{O}_2$  198,0675, encontrado 198,0677.

#### 35 Síntesis de 3-formilbifenil-4-il-trifluorometanosulfonato (11)

- Se agitaron 2-hidroxi-5-fenilbenzaldehído (100 mg, 0,50 mmol), *N*-feniltriflimida (180,0 mg, 0,51 mmol) y carbonato de potasio (209 mg, 1,51 mmol) en THF seco en un tubo sellado, y se calentaron a 120 °C durante 6 min, usando irradiación de microondas. El disolvente se separó bajo presión reducida; se añadieron agua y diclorometano y las
- 40 capas se separaron. La capa acuosa se extrajo más con diclorometano (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (1x), a continuación, se secaron y concentraron. Purificados por cromatografía radial, eluyendo con diclorometano/pentano 1:1, para proporcionar 3-formilbifenil-4-il-trifluorometanosulfonato (143 mg, 86%) como aceite claro e incoloro.  $^1\text{H}$  RMN (200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10,32 (s, 1H); 8,17 (d, 1H,  $J=2,4$  Hz); 7,89 (dd, 1H,  $J=8,6, 2,5$  Hz); 7,63-7,36 (m, 6H).  $^{13}\text{C}$  RMN (125 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  186,5, 149,1, 142,3, 138,0, 134,1, 129,2, 129,1, 128,8, 128,6,
- 45 127,2, 122,9, 118,7 (c,  $J_{\text{CF}}=320,9$  Hz).  $^{19}\text{F}$  RMN (188 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  -73,2. EIMS: m/z 330 [M]<sup>+</sup>. HRMS calculado para  $\text{C}_{14}\text{H}_9\text{F}_3\text{O}_2\text{S}$  330,0168, encontrado 330,0163.

#### Síntesis de 2'-[3-benciloxi-(1,1':4',1''-terfenil)]carbaldehído (12)

- 50 Se colocaron en un matraz Schlenk 3-formilbifenil-4-il-trifluorometanosulfonato (153 mg, 0,463 mmol), ácido 3-benciloxifenilborónico (116 mg, 0,51 mmol), tetrakis(trifenilfosfina)paladio(0) (13 mg, 2,5 mol%) y fosfato de potasio anhidro (147 mg, 0,695 mmol), bajo una atmósfera de argón. Se añadió 1,4-dioxano desgasificado (2 ml) y la mezcla se purgó con argón. La mezcla de reacción se calentó a 85 °C hasta que se observó conversión completa (seguimiento por GCMS); tiempo de reacción durante la noche generalmente requerido. La mezcla de reacción se
- 55 diluyó con benceno (4 ml) y se trató con peróxido de hidrógeno acuoso al 30% (10 ml). El producto se extrajo con dietil éter (3x); los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, a continuación, se secaron y concentraron. Purificados por cromatografía radial, eluyendo con diclorometano/pentano 1:1 para proporcionar 2'-[3-benciloxi-(1,1':4',1''-terfenil)]carbaldehído (122 mg, 72%) como un aceite claro, incoloro, viscoso.  $^1\text{H}$  RMN (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  10,02 (s, 1H); 8,24 (dd, 1H,  $J=2,1, 0,3$  Hz); 7,86 (dd, 1H,  $J=8,0, 2,1$  Hz); 7,68-7,64 (m, 2H); 7,56-7,30 (m,
- 60 10H); 7,08-7,02 (m, 2H); 7,01-6,97 (m, 1H); 5,11 (s, 2H).  $^{13}\text{C}$  RMN (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  192,6, 159,0, 144,8, 141,0, 139,7, 139,1, 136,9, 134,2, 132,2, 131,4, 129,8, 129,2, 128,9, 128,4, 128,2, 127,8, 127,3, 126,1, 123,2, 116,9, 114,9, 70,4. EIMS: m/z 364 [M]<sup>+</sup>. HRMS calculado para  $\text{C}_{26}\text{H}_{20}\text{O}_2$  364,1458, encontrado 364,1450.

*Síntesis de 2'-[3-benciloxi-(1,1':4',1''-terfenil)]acrilamida (13)*

Se disolvieron 2'-[3-benciloxi-(1,1':4',1''-terfenil)]carbaldehído (201 mg, 0.552 mmol) y dietil(carbamoilmetil)fosfonato (108 mg, 0,55 mmol) en THF seco (7 ml), y lentamente se añadió a una suspensión vigorosamente agitada de hidróxido de potasio en polvo (62 mg, 1,10 mmol) en THF (2 ml). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, bajo una atmósfera de argón, haciendo un seguimiento por TLC (diclorometano/pentano 1:1). El THF se separó bajo presión reducida, y el residuo se recogió en agua y se extrajo con diclorometano (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (1x), a continuación, se secaron y concentraron. La recristalización a partir de acetato de etilo/pentano proporcionó 2'-[3-benciloxi-(1,1':4',1''-terfenil)]acrilamida (137 mg, 61%) como cristales amarillos claro; mp 175-176 °C. <sup>1</sup>H RMN (400 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,95 (d, 1H, J=2,0 Hz); 7,78-7,22 (m, 3H); 7,55-7,31 (m, 12H); 7,17-7,07 (m, 2H); 6,99 (m, 1H); 6,92 (m, 1H); 6,79 (d, J=15,8 Hz, 1H); 5,16 (s, 2H). <sup>13</sup>C RMN (125 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 166,5, 158,3, 140,8, 140,7, 139,8, 139,4, 137,5, 137,0, 133,2, 130,9, 129,5, 129,1, 128,5, 127,9, 127,8, 127,8, 127,6, 126,8, 124,5, 123,8, 122,2, 115,9, 114,0, 69,4. EIMS: m/z 405 [M]<sup>+</sup>. HRMS calculado para C<sub>28</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>2</sub> 405,1723, encontrado 405,1714.

*Síntesis de 2'-[3-hidroxi-(1,1':4',1''-terfenil)]propanamida (VB0004)*

Se agitaron 2'-[3-benciloxi-(1,1':4',1''-terfenil)]acrilamida (740 mg, 1.82 mmol) y paladio al 10% sobre catalizador de carbono (100 mg) a temperatura ambiente durante 20 h, bajo una atmósfera de hidrógeno. El catalizador se separó por filtración sobre papel de filtro de vidrio seguido de filtración sobre Celite, a continuación, se concentró. Purificado por cromatografía radial, eluyendo con diclorometano/pentano 1:1, seguido de recristalización a partir de acetato de etilo/pentano para proporcionar 2'-[3-hidroxi-(1,1':4',1''-terfenil)]propanamida (224 mg, 39%) como cristales incoloros, mp 167,2-168,9 °C. <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 9,52 (s, 1H); 7,77-7,15 (m, 10H); 6,87-6,65 (m, 4H); 2,84 (m, 2H); 2,31 (m, 2H). <sup>13</sup>C RMN (50 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 173,4, 157,1, 142,1, 140,6, 140,0, 139,1, 139,1, 130,2, 129,2, 128,9, 127,4, 127,2, 126,6, 124,1, 119,6, 115,8, 114,0, 36,2, 28,2. EIMS: m/z 317 [M]<sup>+</sup>. HRMS calculado para C<sub>21</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub> 317,1410, encontrado 317,1411.

*Síntesis de carbamoilmetilfosfonato de dietilo (F)*

Se calentaron 2-cloroacetamida (5,01 g, 53,6 mmol) y trietil fosfito (9,19 ml, 53,6 mmol) a reflujo en o-xileno (14 ml) durante 3,5 h. El disolvente se separó bajo presión reducida para proporcionar un residuo similar a alquitrán marrón oscuro. El residuo se recogió en diclorometano y se filtró a través de una columna corta de sílice. El filtrado se concentró y el sólido se recristalizó a partir de acetato de etilo/pentano para proporcionar carbamoilmetilfosfonato de dietilo (3,42 g, 33%) como cristales marrones claros. <sup>1</sup>H RMN (200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 7,35 (s. a, 1H); 7,02 (s. a, 1H); 4,02 (dc, 4H, J=7,1 Hz, <sup>3</sup>J<sub>PH</sub>=1,1 Hz); 2,80 (d, 2H, <sup>2</sup>J<sub>PH</sub>=21,4 Hz); 1,23 (t, 6H, J=7,0 Hz). <sup>13</sup>C RMN (50 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 166,0 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>=5,1 Hz); 61,5 (d, <sup>2</sup>J<sub>CP</sub>=6,0 Hz); 34,5 (d, <sup>1</sup>J<sub>CP</sub>=131,6 Hz); 16,2 (d, <sup>3</sup>J<sub>CP</sub>=6,0 Hz). <sup>31</sup>P RMN (81 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) 23,8. ESIMS: m/z 218 [M+Na]<sup>+</sup>. HRMS calculado para C<sub>6</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>4</sub>P 195,0655, encontrado 195,0653.

Ejemplo 2- cribado *in vitro*

Se usó el sistema xCELLigence SP (Roche) para medir los cambios en la impedancia celular (índice celular) seguido del tratamiento de células del músculo liso vascular embrionario (ATCC, CRL-1476) con VB0004. Este ensayo *in vitro* se correlacionó con los datos de la presión sanguínea obtenidos en el modelo animal descrito más adelante en el Ejemplo 3, de manera que se puede usar para cribado más rápido de mayor número de compuestos. En este sistema experimental basado en célula *in vitro* un perfil de impedancia negativo se correlaciona con la reducción de la presión sanguínea en ratas – un descenso en la impedancia está asociada con la vasodilatación y un incremento en la impedancia está asociada con la vasoconstricción (Stallaert W., Dorn JF., van der Westhuizen E., Audet M. & Bouvier M. "Impedance responses reveal β-adrenergic signaling pluridensitometry and allow classification of ligands with distinct signalling profiles" *PLoS ONE* 2012; 7(1):e29420, doi:10.1371/journal.pone.0029420).

Brevemente, se añadió 50 µl de medio de cultivo celular (DMEM bajo en glucosa complementado con suero fetal bovino al 10% a 37 °C) a cada pocillo de una E-Placa 96 (Roche), y se midió la impedancia de fondo en cada pocillo. A continuación, se añadió 50 µl de suspensión celular A-10 (10.000 células/pocillo) a los pocillos apropiados de la E-Placa 96. Se hizo un seguimiento del índice celular para cada pocillo de la E-Placa 96 en la Estación de RTCA SP dentro del incubador de cultivo celular. Después de incubación durante la noche durante 16 a 20 horas a CO<sub>2</sub> al 5% y humedad al 95%, se añadió 100 µl de solución de VB0004 (se preparó VB0004 en DMSO y se diluyó con medio de cultivo celular a una concentración de DMSO final de 0,25%) a los pocillos apropiados de la E-Placa 96 y se midieron los valores de índice celular inmediatamente después del tratamiento de compuesto cada 20 segundos durante 3 horas. El valor del índice celular se corrigió según el valor basal sustrayendo el índice celular de células tratadas con vehículo y se normalizó dividiendo por el índice celular en el momento inmediatamente antes de la adición del compuesto. El índice celular normalizado según el valor basal en función del tiempo se traza en una gráfica usando el programa informático RTCA de Roche.

Los compuestos pueden alcanzar las reducciones en la presión sanguínea mediante la interacción con células del

músculo liso vascular causando que estas células se relajen dando como resultado vasodilatación y una reducción en la presión sanguínea. Estos se denominan vasodilatadores directos. La respuesta de impedancia negativa observada para células de músculo liso vasculares A10 tratadas con VB0004 a concentraciones de 62,5, 125 y 250  $\mu\text{M}$  (Figura 3) demuestra que VB0004 es un vasodilatador directo. Estos resultados se correlacionan bien con la presión sanguínea sistólica media en SHR con una dieta de sal al 2,2% después de 4 semanas de tratamiento con 10, 100 y 500 pmol/kg/min de VB0004 oralmente (véase Figura 4 y más adelante).

El sistema xCELLigence SP (Roche) también se usó para medir cambios en la impedancia celular (índice celular) seguido del tratamiento de células endoteliales aórticas bovinas ("European Collection of Cell Cultures") con compuesto de ensayo. El método empleado es el mismo para las células del músculo liso vascular embrionarias A10 anteriormente descrito pero con el medio de cultivo celular complementado con suero fetal bovino al 15% en lugar del 10%.

Los compuestos pueden interactuar con células endoteliales vasculares que causan la liberación de sustancias tales como óxido nítrico y factor de hiperpolarización derivado de endotelio, el cual actúa por turnos sobre las células del músculo liso vascular causando vasodilatación y reduciendo la presión sanguínea. Tales compuestos se denominan vasodilatadores indirectos. La respuesta de impedancia negativa observada para células endoteliales aórticas bovinas tratadas con VB0004 a concentraciones de 62,5, 125 y 250  $\mu\text{M}$  (Figura 5), demuestra que VB0004 es también un vasodilatador indirecto.

### Ejemplo 3 – cribado *in vivo*

#### *Estudios orales*

SHR de cuatro semanas de vida (con una dieta de sal al 2,2%; Glen Forrest Stockfeeders) se asignaron al azar para control de tiempo cero, tratamiento con VB0004 (10, 100, 500, 1,000 y 2,500 pmol/kg/min) en la solución de bebida o solución de bebida control (etanol al 5% en agua destilada desionizada) (n=5 cada grupo). Las ratas asignadas para el grupo de control de tiempo cero se anestesiaron y se habían extraído su corazón y riñones mientras las ratas asignadas para control y tratamiento con VB0004 se pesaban dos veces por semana y se había hecho un seguimiento de su ingestión de solución de bebida para permitir el ajuste de la concentración de VB0004 en la solución de bebida para mantener una dosis constante durante los periodos de estudio de 4, 6 o 8 semanas. Se midió la presión sanguínea dos veces por semana por pletismografía por manguito en la cola (PowerLab, ADInstruments, Castle Hill, NSW, Australia). Después de 4, 6 o 8 semanas las ratas se anestesiaron, y se extrajeron su corazón y riñones para la cuantificación de la fibrosis.

#### *Administración intravenosa*

SHR de catorce semanas de vida (con una dieta de sal al 2,2%; Glen Forrest Stockfeeders) se asignaron al azar para el control de tiempo cero, infusión de VB0004 (10 y 20 pmol/kg/min) o infusión de vehículo (DMSO al 20% en solución salina normal, Baxter Healthcare, Sydney NSW Australia) (n=5 cada grupo). Las ratas se anestesiaron y a las ratas asignadas para el grupo de control de tiempo cero se habían extraído su corazón y riñones mientras que las ratas asignadas para infusión de VB0004 o vehículo tenían una cánula insertada dentro de la vena iliaca que estaba conectada a una minibomba osmótica de Alzet (Durect Corporation, Cupertino, CA, EEUU) que contenía VB0004 o vehículo. La presión sanguínea se midió dos veces semanalmente por pletismografía por manguito en la cola (PowerLab, ADInstruments, Castle Hill, NSW, Australia). Después de 4 semanas las ratas se anestesiaron de nuevo, se extrajeron su corazón y riñones para la cuantificación de la fibrosis.

#### *Cuantificación de la fibrosis*

Para cuantificar la fibrosis, se fijaron rodajas de tejido de  $\leq 3$  mm de grosor en formalina tamponada al 10% durante 24 horas, se procesaron y sumergieron en parafina. Tres micro secciones transversales se tiñeron usando colorante tricómico de Masson. Un mínimo de 20 campos aleatorios a aumento x20 de las secciones transversales (5 en cada uno de los 2 niveles) se digitalizaron y se determinó el grado de fibrosis como porcentaje del área de campo de cada imagen digitalizada usando Image-Pro Plus V.5 (Media Cybernetics, Bethesda, MD, EEUU), a continuación, se hizo el promedio para determinar el nivel de fibrosis para tejido para cada rata.

#### *Resultados*

La presión sanguínea sistólica media en SHR con una dieta de sal al 2,2% después de 4 semanas de tratamiento con 10, 100 y 500 pmol/kg/min de VB0004 oralmente mostró presión sanguínea disminuida en comparación con los controles (Figura 4).

La administración intravenosa de VB0004 a 10 y 20 pmol/kg/min durante 4 semanas disminuyó PSS por 20 mmHg en comparación con el control con vehículo (Figura 6).

La presión sanguínea sistólica en SHR con una dieta de sal al 2,2% tratada con VB0004 a 10 a 2.500 pmol/kg/min dado oralmente durante 4 semanas mostró presión sanguínea disminuida con dosis incrementada en comparación con los controles (Figura 7). Ya que la presión sanguínea sistólica continúa disminuyendo con dosis creciente sin alcanzar el nivel estable aún no se ha definido la dosis máxima.

5

La presión sanguínea sistólica media en SHR con una dieta de sal al 2,2% tratada con VB0004 a 2.500 pmol/kg/min dado oralmente continuó disminuyendo con el tiempo indicando que aún no se ha alcanzado el efecto máximo para esta dosis después de terapia de 8 semanas (Figura 8).

10 La fibrosis en el corazón después de 4 semanas de tratamiento con VB0004 oralmente en SHR de 18 semanas de vida con una dieta de sal al 2,2% a dosis de 10 a 500 pmol/kg/min (barras sombreadas) disminuyeron en comparación con la fibrosis en los controles de 14 y 18 semanas (barras abiertas) en SHR con una dieta de sal al 2,2% (Figura 9).

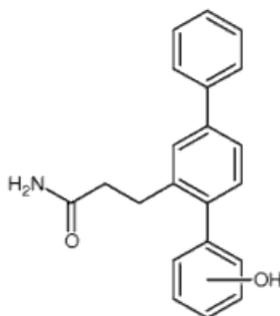
15 La fibrosis en el riñón después de 4 semanas de tratamiento con VB0004 oralmente en SHR de 18 semanas de vida con una dieta de sal al 2,2% a dosis desde 10 a 500 pmol/kg/min (barras sombreadas) disminuyeron en comparación con la fibrosis en los controles de 14 y 18 semanas (barras abiertas) en SHR con una dieta de sal al 2,2% (Figura 10).

20 El corazón de animales control (SHR de 18 semanas de vida con una dieta de sal al 2,2%) mostraron tejido de fibrosis extensa (aparece gris en la tinción tricrómica de Masson) mientras que el corazón de animales tratados con VB0004 no tenían presente virtualmente tejido fibroso (Figura 11).

25 El riñón de animales control (SHR de 18 semanas de vida con una dieta de sal al 2,2%) mostraron tejido de fibrosis extensa (aparece gris en la tinción tricrómica de Masson) mientras que el riñón de animales tratados con VB0004 no tenían presente virtualmente tejido fibroso (Figura 12).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula

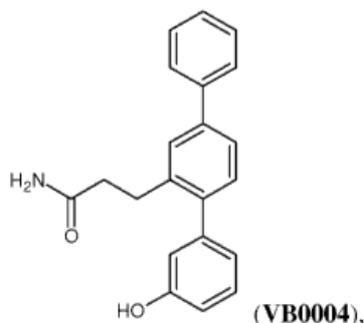


5

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. El compuesto según la reivindicación 1 donde el compuesto es de la fórmula

10



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 3. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto, o un esteroisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 1 o reivindicación 2 y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

4. Un compuesto, o un esteroisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 1 o reivindicación 2 para su uso en el tratamiento terapéutico de la hipertensión o la prehipertensión.

20

5. Un compuesto, o un esteroisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 1 o reivindicación 2 para su uso en el tratamiento profiláctico de la fibrosis.

25 6. Un compuesto, o un esteroisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 1 o reivindicación 2 para su uso en el tratamiento terapéutico de la fibrosis.

7. Un compuesto, o un esteroisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 1 o reivindicación 2 para su uso en el tratamiento terapéutico de la hipertensión y la fibrosis.

30 8. Un compuesto, o un esteroisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 1 o reivindicación 2 para su uso en el tratamiento de la prehipertensión y la fibrosis.

9. El compuesto, o un esteroisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8 en donde la fibrosis es fibrosis de miocardio o fibrosis de riñón.

35

10. El compuesto, o un esteroisómero o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso según una cualquiera de las reivindicaciones 5 a 8 en donde la fibrosis es fibrosis de miocardio o fibrosis de riñón.

40 11. Una composición farmacéutica según la reivindicación 3 para su uso en el tratamiento terapéutico de la hipertensión o la prehipertensión.

12. Una composición farmacéutica según la reivindicación 3 para su uso en el tratamiento profiláctico de la fibrosis.

13. Una composición farmacéutica según la reivindicación 3 para su uso en el tratamiento terapéutico de la fibrosis.

14. Una composición farmacéutica según la reivindicación 3 para su uso en el tratamiento terapéutico de la hipertensión y la fibrosis o la prehipertensión y la fibrosis.

5

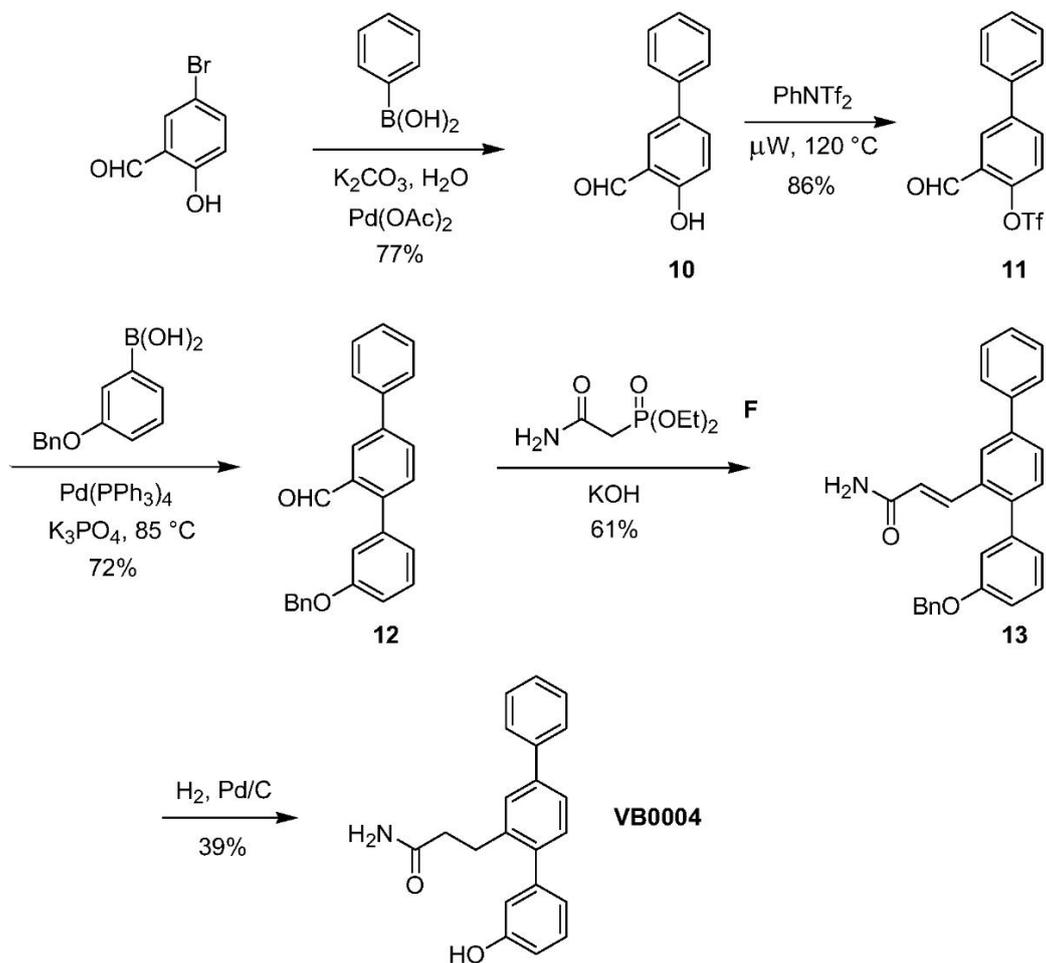


Figura 1

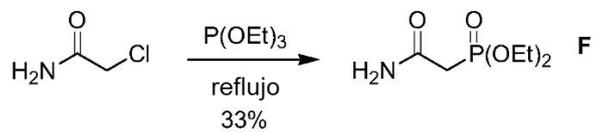


Figura 2

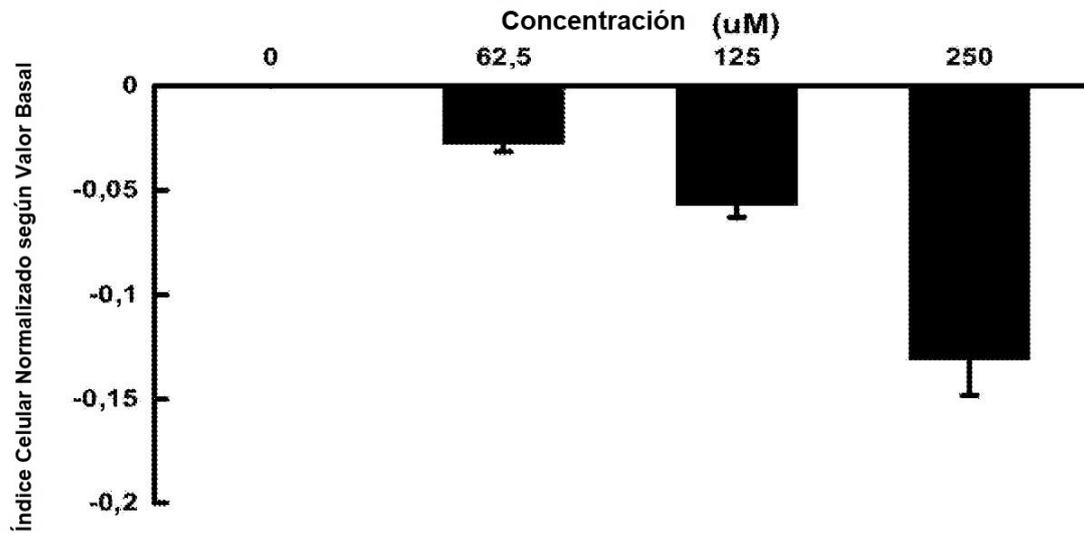


Figura 3

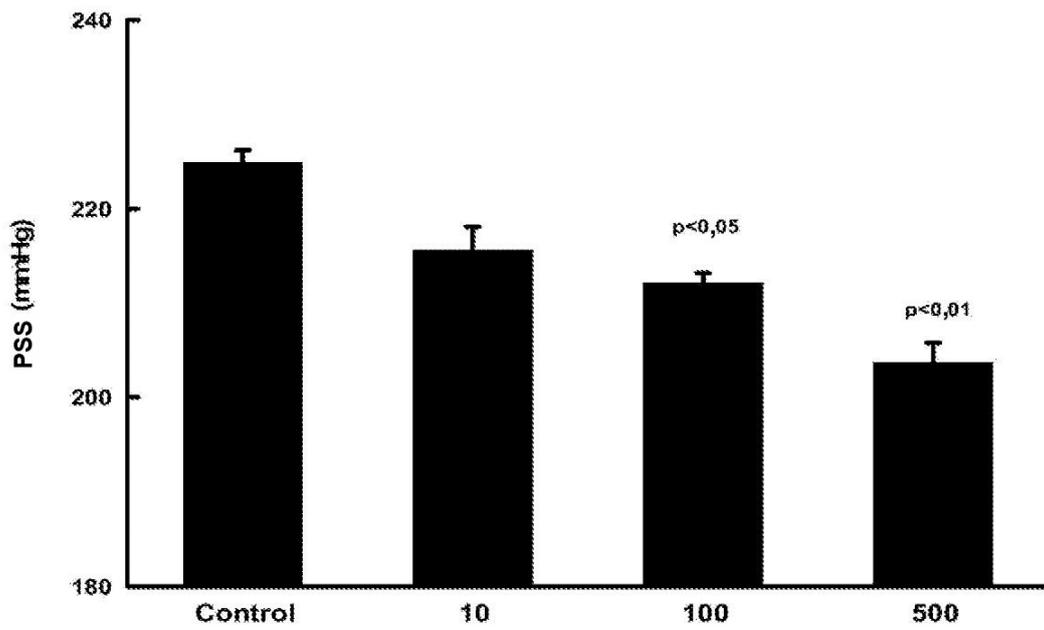


Figura 4

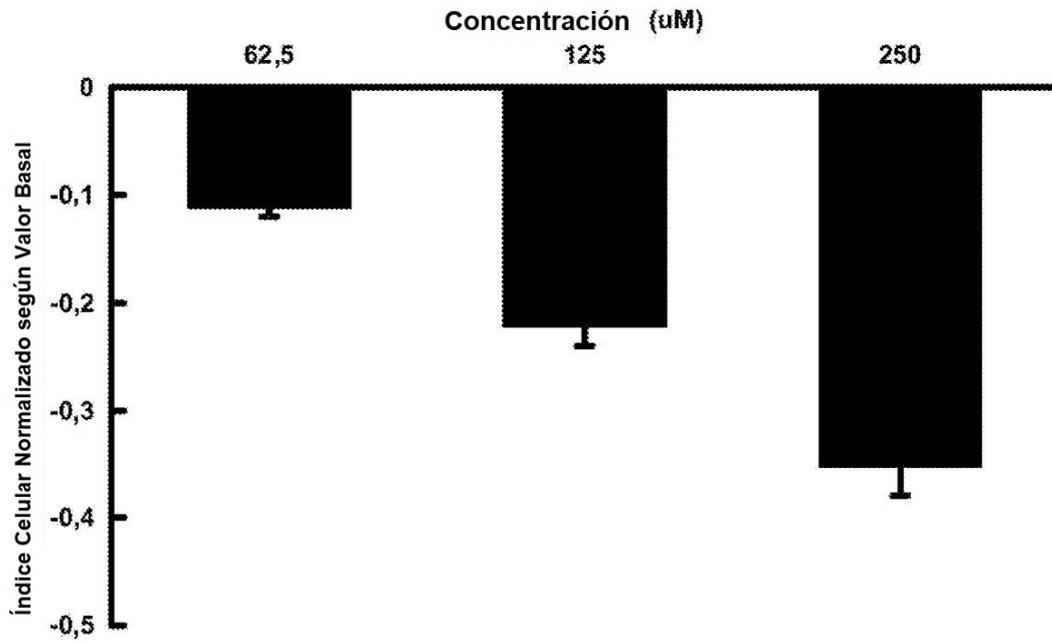


Figura 5

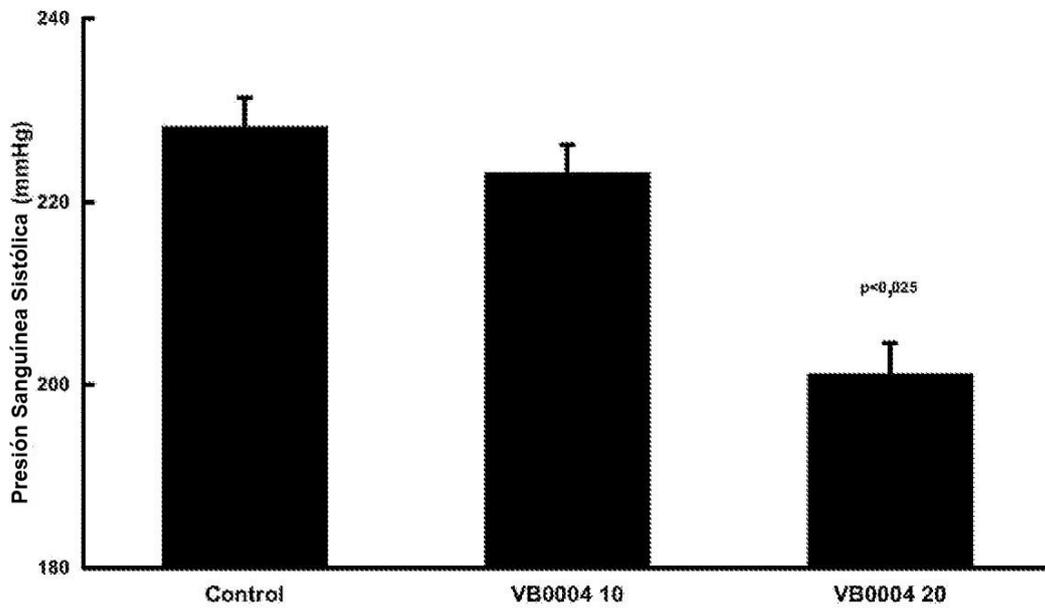


Figura 6

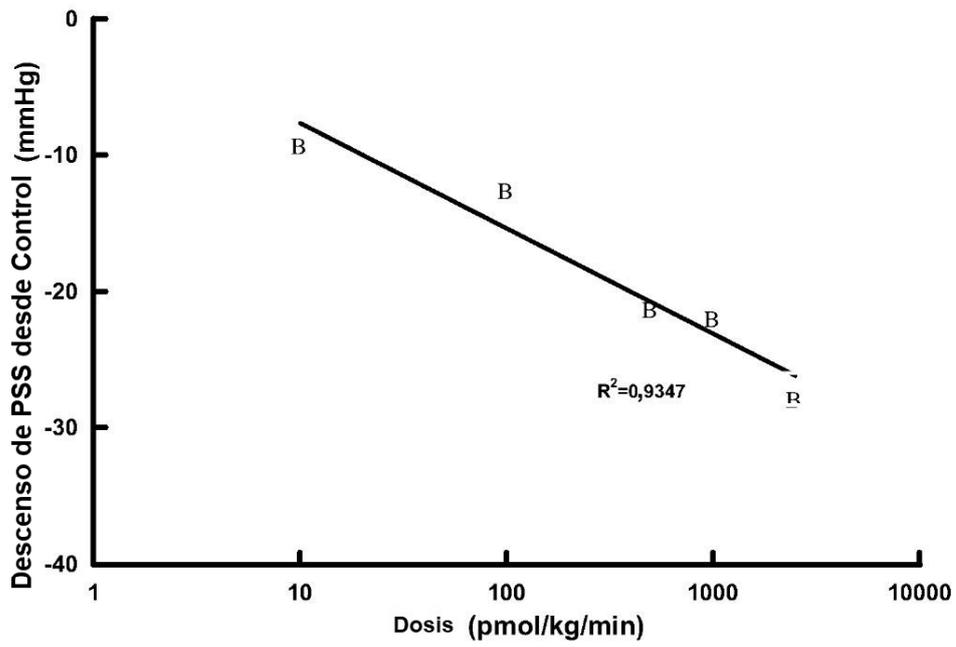


Figura 7

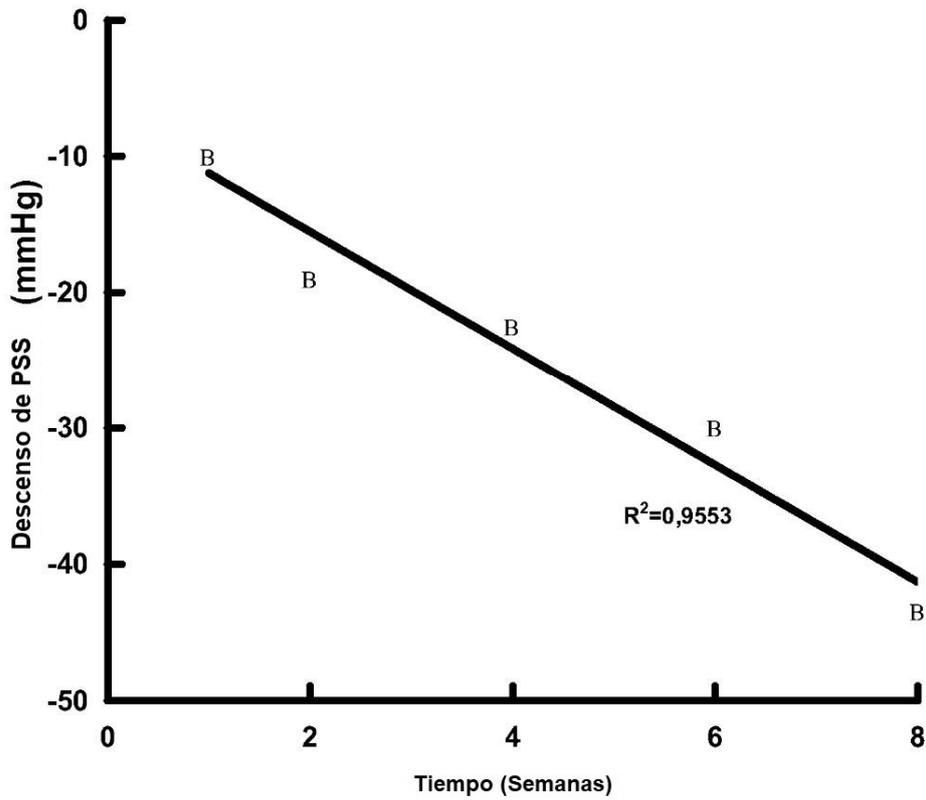


Figura 8

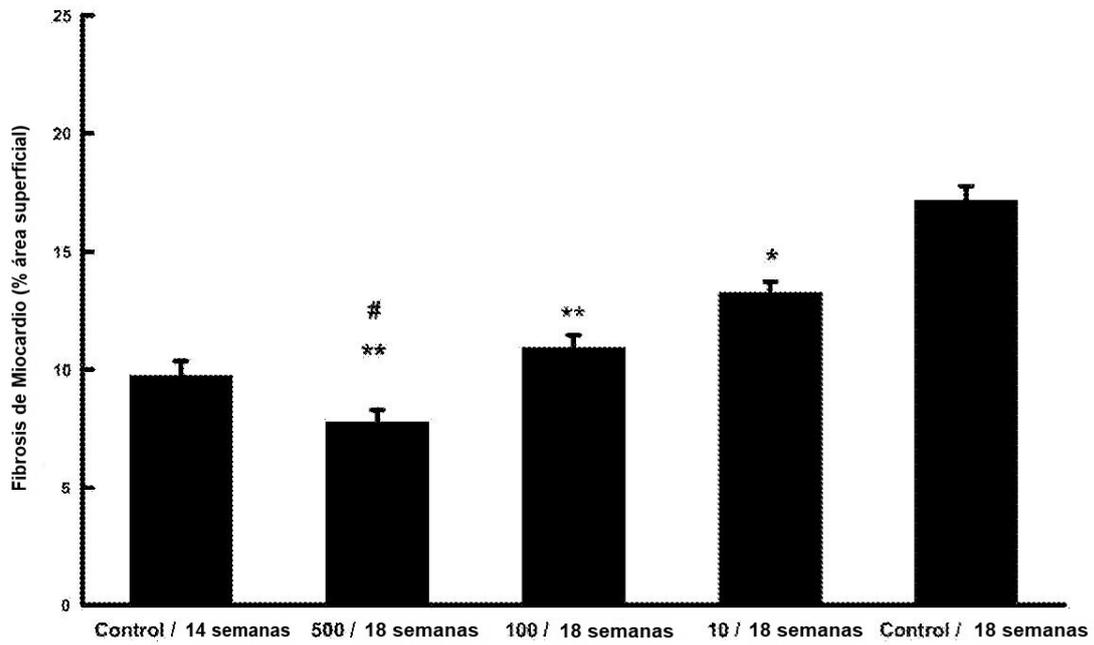


Figura 9

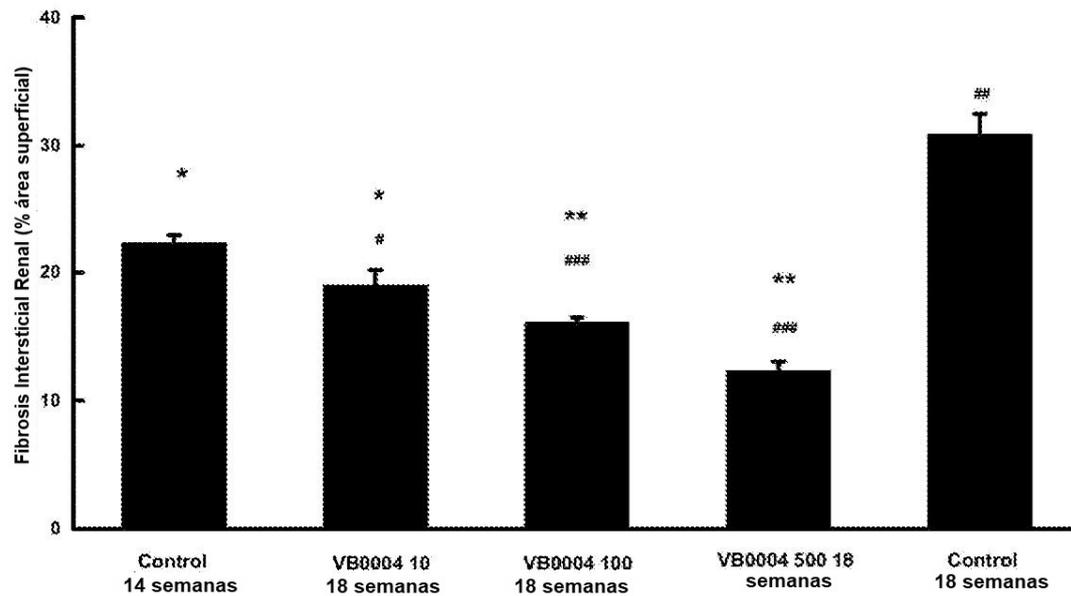
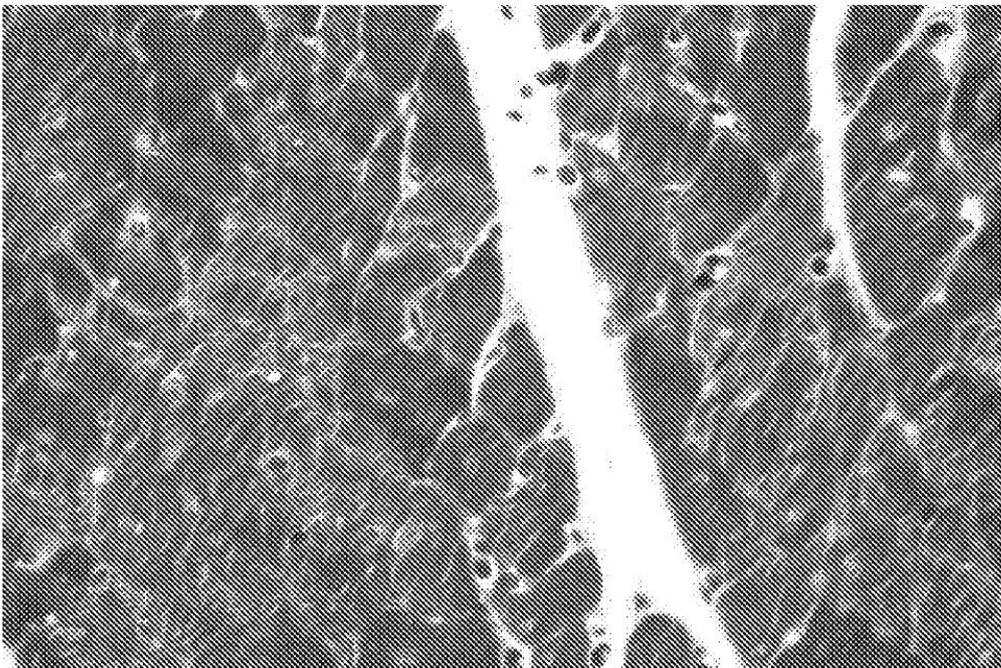
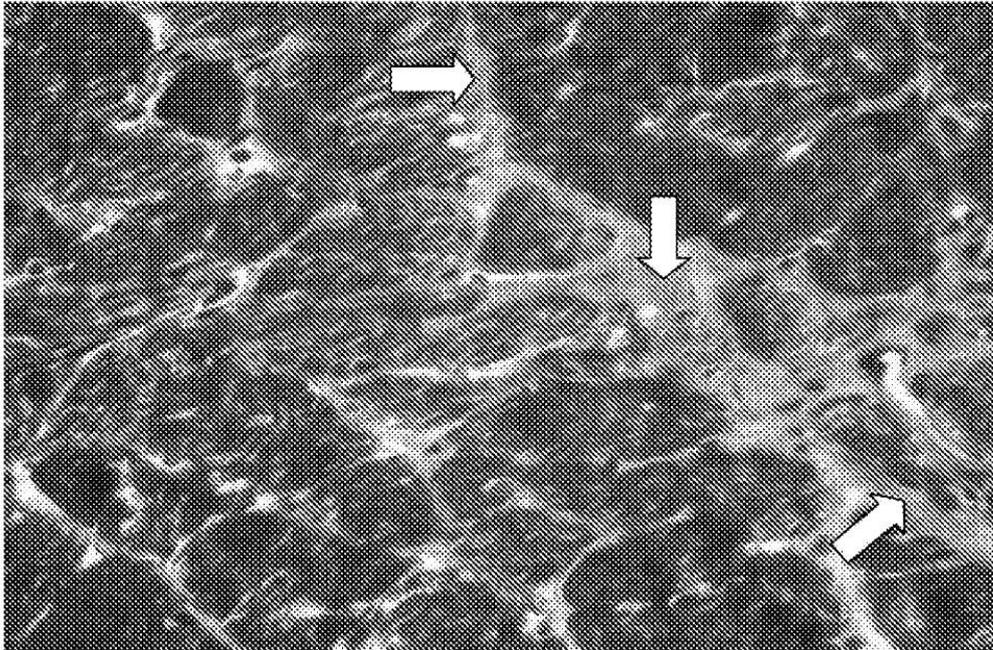
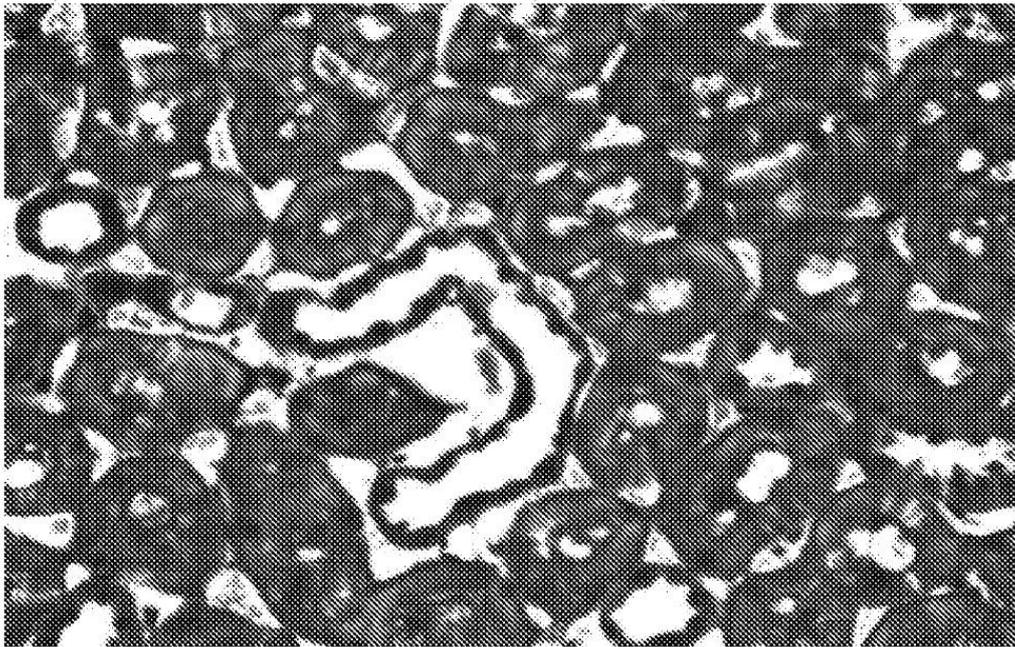
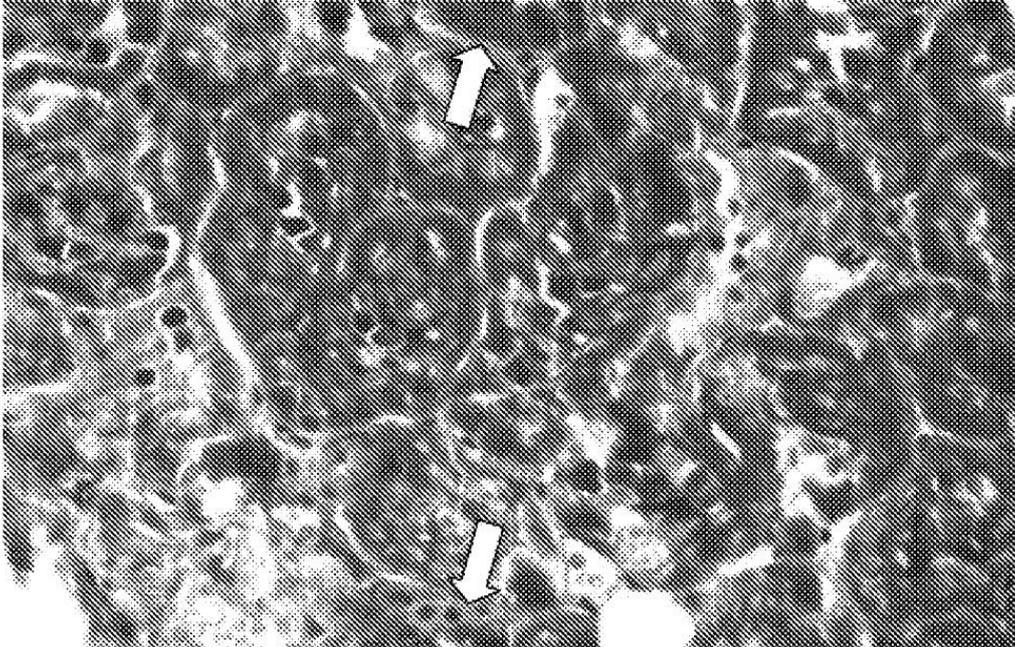


Figura 10



**Figura 11**



**Figura 12**

**REFERENCIAS CITADAS EN LA DESCRIPCIÓN**

*Esta lista de referencias citadas por el solicitante es únicamente para la comodidad del lector. No forma parte del documento de la patente europea. A pesar del cuidado tenido en la recopilación de las referencias, no se pueden excluir errores u omisiones y la EPO niega toda responsabilidad en este sentido.*

**Documentos de patente citados en la descripción**

- WO 2005120545 A [0008]

**Literatura diferente de patentes citada en la descripción**

- *Expert Opin. Emerging Drugs*, 2003, vol. 8, 377-388 [0008]
- “Remington: The Science and Practice of Pharmacy”. British Pharmacopoeia 2000, 1995 [0043]
- *PLoS ONE*, 2012, vol. 7 (1), e29420 [0059]