

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 667 056**

51 Int. Cl.:

C07D 233/61 (2006.01)

C07C 209/48 (2006.01)

C07D 233/88 (2006.01)

A61K 31/4178 (2006.01)

A61P 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **24.07.2013 PCT/PT2013/000048**

87 Fecha y número de publicación internacional: **30.01.2014 WO14017936**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.07.2013 E 13750166 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **14.02.2018 EP 2890684**

54 Título: **Compuestos de urea y su uso como inhibidores enzimáticos**

30 Prioridad:

24.07.2012 US 201261674970 P

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

09.05.2018

73 Titular/es:

**BIAL-PORTELA & CA, S.A. (100.0%)
À Avenida da Siderurgia Nacional
4745-457 S. Mamede do Coronado, PT**

72 Inventor/es:

**ROSA, CARLA PATRÍCIA DA COSTA PEREIRA;
GUSMÃO DE NORONHA, RITA;
KISS, LASZLO ERNO;
SOARES DA SILVA, PATRÍCIO MANUEL VIEIRA
ARAÚJO;
RUSSO, DOMENICO;
WAHNON, JORGE BRUNO REIS y
MATON, WILLIAM**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 667 056 T3

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

DESCRIPCIÓN

Compuestos de urea y su uso como inhibidores enzimáticos

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a compuestos y sus usos, y en particular a compuestos y su uso terapéutico en el tratamiento o la prevención de afecciones que tienen asociación con sustratos, tales como el neurotransmisor anandamida, que se descomponen por la enzima amida de ácido graso hidrolasa (FAAH).

Antecedentes de la invención

10 La enzima FAAH descompone amidas de ácido graso tales como anandamida (*N*-araquidonoiletanolamina), *N*-oleoiletanolamina, *N*-palmitoiletanolamina y oleamida. La anandamida, también conocida como *N*-araquidonoiletanolamina o AEA, es un neurotransmisor cannabinoide endógeno encontrado en órganos animales y humanos, especialmente en el cerebro. Se ha encontrado también que la anandamida se une al receptor vainilloide. La anandamida se degrada por la enzima amida de ácido graso hidrolasa (FAAH) hasta etanolamina y ácido araquidónico. Por consiguiente, los inhibidores de FAAH conducen a niveles elevados de anandamida.

15 La anandamida es un neurotransmisor en el sistema endocannabinoide y estimula los receptores cannabinoide. Los receptores cannabinoide, tales como CB1 y CB2, son receptores acoplados a proteína G. El CB1 se encuentra principalmente en el sistema nervioso central, mientras que el CB2 se encuentra principalmente en tejido periférico. El sistema endocannabinoide se ha implicado en un número creciente de funciones fisiológicas, tanto en el sistema nervioso central como periférico y en órganos periféricos. Se ha mostrado que la modulación de la actividad del sistema endocannabinoide tiene un efecto potencialmente terapéutico sobre un amplio intervalo de enfermedades y afecciones patológicas dispares. Por lo tanto, el sistema endocannabinoide, y la enzima FAAH en particular, se ha
20 vuelto una diana terapéutica para el desarrollo de tratamientos potenciales para muchas enfermedades. El sistema endocannabinoide se ha implicado en regulación del apetito, obesidad, trastornos metabólicos, caquexia, anorexia, dolor, inflamación, neurotoxicidad, neurotraumatismo, apoplejía, esclerosis múltiple, lesión de médula espinal, enfermedad de Parkinson, discinesia inducida por levodopa, enfermedad de Huntington, síndrome de Gilles de la
25 Tourette, discinesia tardía, distonía, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, esquizofrenia, ansiedad, depresión, insomnio, náuseas, émesis, trastornos por alcohol, adicciones a fármacos tales como opiáceos, nicotina, cocaína, alcohol y psicoestimulantes, hipertensión, choque circulatorio, lesión por reperusión de miocardio, aterosclerosis, asma, glaucoma, retinopatía, cáncer, enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad hepática aguda y crónica tal como hepatitis y cirrosis hepática, artritis y osteoporosis. El sistema endocannabinoide y las afecciones con las que está asociado se discuten con detalle en Pacher *et al.* (2006) *Pharmacol. Rev.* 58: 389-462.

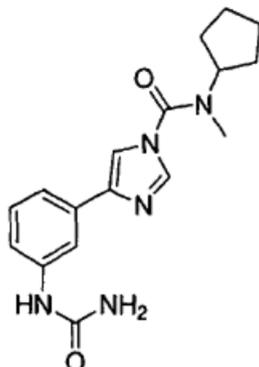
Para modular el nivel de sustratos de FAAH endógenos, tales como anandamida, que a su vez modulan el sistema endocannabinoide, se han desarrollado inhibidores de la enzima FAAH. Esto permite tratar o prevenir al menos parcialmente afecciones y enfermedades asociadas con el sistema endocannabinoide.

35 Puesto que los sustratos de FAAH se unen a otros receptores, p.ej. el receptor vainilloide, y/o están implicados en otras rutas de señalización, los inhibidores de FAAH pueden permitir tratar o prevenir al menos parcialmente afecciones o enfermedades asociadas con otras rutas o sistemas, p.ej. el sistema vainilloide.

40 El documento WO 2010/074588 divulga compuestos que son inhibidores de FAAH. El documento WO 2012/015324 divulga un proceso para la síntesis de compuestos de urea sustituidos que contienen un núcleo de imidazol-1-carboxamida. Käsänen *et al.* (Heikki Käsänen, Mikko J. Myllymäki, Anna Minkkilä, Antti O. Kataja, Susanna M. Saario, Tapio Nevalainen, Ari M. P. Koskinen y Antti Poso. *Chem Med Chem* 2010, 5(2), 213-231) divulga compuestos de carbamato que son inhibidores de FAAH. En particular, el compuesto 6b es un inhibidor de FAAH que contiene una estructura de imidazol. Sin embargo, este compuesto es un inhibidor débil de FAAH en comparación con muchos de los otros compuestos de carbamato descritos en este artículo y que no contienen una
45 estructura de imidazol.

Compendio de la invención

En un primer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto que tiene la siguiente estructura:



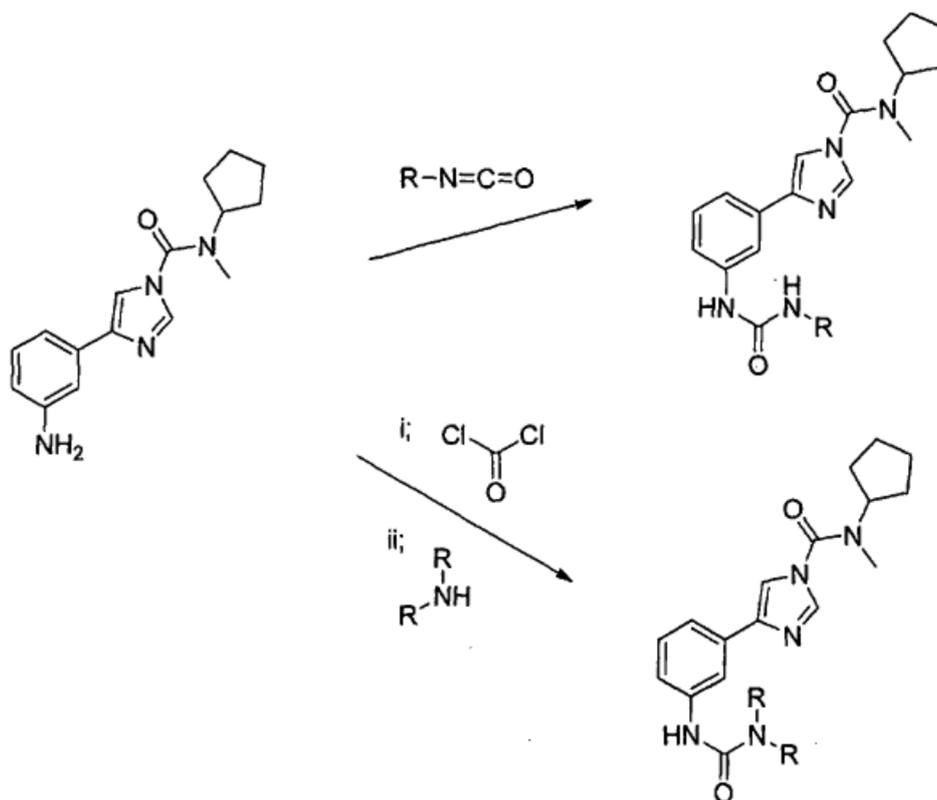
Fórmula A

5 o una sal o derivado farmacéuticamente aceptable del mismo.

Se ha encontrado que el compuesto de la invención modula la actividad de la enzima amida de ácido graso hidrolasa (FAAH). Además, se ha mostrado que es relativamente potente, tiene una selectividad periférica relativamente alta (concretamente, inhibe FAAH en una mayor medida en tejido periférico en comparación con tejido del sistema nervioso central) y es relativamente estable metabólicamente. En particular, se ha mostrado que el compuesto de la invención da mejores resultados respecto a una o más de estas propiedades en comparación con los compuestos divulgados en el documento WO 2010/074588.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen sales con bases inorgánicas, sales con bases orgánicas, sales con ácidos inorgánicos, sales con ácidos orgánicos y sales con aminoácidos básicos o ácidos. Las sales con ácidos pueden emplearse en particular, en algunos casos. Las sales ejemplares incluyen sal clorhidrato, sal acetato, sal trifluoroacetato, sal metanosulfonato, sal 2-hidroxiopropano-1,2,3-tricarboxilato, sal (2R,3R)-2,3-dihidroxisuccinato, sal fosfato, sal sulfato, sal benzoato, sal 2-hidroxibenzoato, sal S-(+)-mandelato, sal S-(-)-malato, sal S-(-)-piroglutamato, sal piruvato, sal *p*-toluenosulfonato, sal 1-R-(-)-canfosulfonato, sal fumarato y sal oxalato. El compuesto de la presente invención puede estar en forma de solvato (p.ej. hidrato) o no solvato (p.ej. no hidrato). Cuando está en forma de solvato, pueden ser disolventes adicionales alcoholes tales como propan-2-ol.

Los "derivados farmacéuticamente aceptables" del compuesto de la invención son derivados en que se modifican uno o más grupos del compuesto mediante reacción con otra molécula. Por ejemplo, los derivados incluyen la modificación del grupo NH₂ para formar NHR o NR₂ en que R puede ser alquilo C₁₋₁₈ (p.ej. alquilo C₁₋₆), arilo, heteroarilo, cicloalquilo C₃₋₈ o combinaciones de los mismos. Tales derivados pueden producirse según el siguiente Esquema.



Por ejemplo, los derivados incluyen los productos de reacción del grupo NH_2 de 4-(3-aminofenil)-N-ciclopentil-N-metil-1H-imidazol-1-carboxamida con isocianato $R-N=C=O$ (véase R. G. Arnold, J.A. Nelson, J.J. Verbanck: Recent Advances in Isocyanate Chemistry *Chemical Reviews*, 57(1), 47-76, **1957** y las referencias en el mismo) para formar el derivado $NH-(C=O)-NHR$, o con $Cl-(C=O)-Cl$ y NHR_2 (véase H. Babad, A. G. Zeiler: Chemistry of Phosgene *Chemical Reviews*, 73(1), 75-91, **1973** y las referencias en el mismo) para formar $NH-(CO)-NR_2$, en que R puede ser alquilo C_{1-18} (p.ej., alquilo C_{1-6}), arilo, heteroarilo, cicloalquilo C_{3-8} o combinaciones de los mismos. Los derivados farmacéuticamente aceptables pueden producirse en cualquier modo adecuado, y los métodos para su producción serían evidentes para un especialista en la materia basándose en principios bien conocidos en la química orgánica y médica (por ejemplo, se divulgan métodos adecuados en Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry, 5ª edición, Longman, 1989). Obviamente, los derivados deberían ser capaces de inhibir la FAAH y deberían mostrar selectividad periférica, concretamente deberían tener propiedades similares a la estructura anterior. Los métodos adecuados para ensayar estas propiedades son bien conocidos por los especialistas en la materia y se describen en la presente memoria.

15 El término "alquilo C_{x-y} " como se usa en la presente memoria hace referencia a un grupo hidrocarburo saturado lineal o ramificado que contiene de x a y átomos de carbono. Por ejemplo, alquilo C_{1-6} hace referencia a un grupo hidrocarburo saturado lineal o ramificado que contiene 1 a 6 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos alquilo C_{1-6} incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, n-pentilo, isopentilo, neopentilo y hexilo. Preferiblemente, el grupo hidrocarburo es lineal.

20 El término "arilo" como se usa en la presente memoria hace referencia a un anillo hidrocarburo monocíclico o bicíclico C_{6-12} en el que al menos un anillo es aromático. Los ejemplos de tales grupos incluyen fenilo, naftalenilo y tetrahidronaftalenilo.

25 El término "heteroarilo" como se usa en la presente memoria hace referencia a un anillo aromático monocíclico de 5-6 miembros o aromático bicíclico de 8-10 miembros fusionado cuyo anillo monocíclico o bicíclico contiene de 1 a 4 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre. Los ejemplos de tales anillos aromáticos monocíclicos incluyen tienilo, furilo, furazanilo, pirrolilo, triazolilo, tetrazolilo, imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, oxadiazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, tiadiazolilo, piranilo, pirazolilo, pirimidilo, piridazinilo, pirazinilo, piridilo, triazinilo, tetrazinilo y similares. Los ejemplos de tales anillos aromáticos bicíclicos incluyen quinolinilo, isoquinolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, pteridinilo, cinolinilo, ftalazinilo, naftiridinilo, indolilo, isoindolilo, azaindolilo, indolizínilo, indazolilo, purinilo, pirrolopiridilo, furopiridilo, benzofuranilo, isobenzofuranilo, benzotienilo, benzoimidazolilo, benzoxazolilo, benzoisoxazolilo, benzotiazolilo, benzoisotiazolilo, benzoxadiazolilo, benzotiadiazolilo e imidazopiridilo.

Los términos "anillo bicíclico" y "fusionado" en el contexto de un anillo bicíclico hacen referencia a dos anillos que están unidos entre sí a través de un enlace entre dos átomos (p.ej., naftaleno), a través de una secuencia de átomos

formando un puente (p.ej., quinuclidina) o en un solo átomo formando un compuesto espiro (p.ej. 1,4-dioxa-8-aza-espiro[4.5]decano y N,3,3-dimetil-1,5-dioxaespiro[5.5]undecan-9-ilo).

5 El término "cicloalquilo C_{x-y}" como se usa en la presente memoria hace referencia a un anillo hidrocarburo saturado de x a y átomos de carbono que puede ser monocíclico, bicíclico o tricíclico. Por ejemplo, cicloalquilo C₃₋₈ hace referencia a un anillo hidrocarburo saturado monocíclico, bicíclico o tricíclico de 3 a 8 átomos de carbono. Los ejemplos de grupos cicloalquilo C₃₋₈ incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y ciclooctilo.

10 Los métodos generales para la preparación de sales y derivados son bien conocidos por el especialista en la materia. La aceptabilidad farmacéutica de sales y derivados dependerá de una variedad de factores, incluyendo las características de procesamiento de la formulación y el comportamiento *in vivo*, y el especialista sería capaz de valorar fácilmente tales factores teniendo en cuenta la presente divulgación.

Cuando los compuestos de la invención pueden existir como formas tautoméricas alternativas (p.ej., ceto/enol, amida/ácido imídico), la invención se refiere a los tautómeros individuales en aislamiento y a mezclas de los tautómeros en todas las proporciones.

15 De acuerdo con un segundo aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto según el primer aspecto de la invención, junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

20 Las composiciones farmacéuticas de esta invención comprenden cualquiera de los compuestos del primer aspecto de la presente invención con cualquier portador, coadyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable. Los portadores, coadyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden usarse en las composiciones farmacéuticas de esta invención son aquellos empleados convencionalmente en el campo de la formulación farmacéutica e incluyen, pero sin limitación, azúcares, alcoholes de azúcar, almidones, intercambiadores iónicos, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas séricas tales como seroalbúmina humana, sustancias tamponadoras tales como fosfatos, glicerina, ácido sórbico, sorbato de potasio, mezclas de glicéridos parciales de ácidos grasos vegetales saturados, agua, sales o electrolitos tales como sulfato de protamina, hidrogenofosfato de disodio, hidrogenofosfato de potasio, cloruro de sodio, sales de cinc, sílice coloidal, trisilicato de magnesio, polivinilpirrolidona, sustancias basadas en celulosa, polietilenglicol, carboximetilcelulosa de sodio, poliácridatos, ceras, polímeros de bloque de polietileno-polioxiopropileno, polietilenglicol y grasa de lana.

30 Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse por vía oral, parenteral, por pulverizador de inhalación, rectal, nasal, bucal, vaginal o a través de un depósito implantado. Se prefiere la administración oral. Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden contener cualquier portador, coadyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable no tóxico convencional. El término parenteral como se usa en la presente memoria incluye inyección subcutánea, intracutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intralesional e intracraneal o técnicas de infusión.

35 Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una preparación inyectable estéril, por ejemplo como una suspensión acuosa u oleaginoso inyectable estéril. Esta suspensión puede formularse según técnicas conocidas en la materia usando agentes dispersantes o humectantes adecuados (tales como, por ejemplo, Tween 80) y agentes de suspensión. La preparación inyectable estéril puede ser también una disolución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente parenteralmente aceptable no tóxico, por ejemplo como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden emplearse están manitol, agua, disolución de Ringer y disolución isotónica de cloruro de sodio. Además, se emplean convencionalmente aceites estériles no volátiles como disolvente o medio de suspensión. Con este fin, puede emplearse cualquier aceite no volátil insípido incluyendo monoglicéridos o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, tales como ácido oleico y sus derivados glicéridos, son útiles en la preparación de inyectables, como los aceites farmacéuticamente aceptables naturales tales como aceite de oliva o aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxiethyladas. Estas soluciones o 45 suspensiones de aceite pueden contener también un diluyente o dispersante alcohol de cadena larga tal como se describe en la Ph. Helv. o un alcohol similar.

50 Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse por vía oral en cualquier forma de dosificación oralmente aceptable incluyendo, pero sin limitación, cápsulas, comprimidos, polvos, gránulos y suspensiones y disoluciones acuosas. Estas formas de dosificación se preparan según técnicas bien conocidas en la materia de la formulación farmacéutica. En el caso de comprimidos para uso oral, los portadores que se usan comúnmente incluyen lactosa y almidón de maíz. Se añaden típicamente también agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio. Para administración oral en forma de cápsula, los diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón de maíz seco. Cuando se administran por vía oral suspensiones acuosas, se combina el ingrediente activo con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, pueden añadirse ciertos agentes edulcorantes y/o 55 aromatizantes y/o colorantes.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse también en forma de supositorios para administración rectal. Estas composiciones pueden prepararse mezclando un compuesto de esta invención con un excipiente no irritante adecuado que sea sólido a temperatura ambiente pero líquido a la temperatura rectal, y por lo

tanto se funda en el recto liberando los componentes activo. Tales materiales incluyen, pero sin limitación, manteca de cacao, cera de abeja y polietilenglicoles.

5 Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse por aerosol nasal o inhalación. Tales composiciones se preparan según técnicas bien conocidas en la materia de formulación farmacéutica y pueden prepararse como disoluciones en suero salino, empleando alcohol bencílico u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para potenciar la biodisponibilidad, fluorocarburos y/u otros agentes solubilizantes o dispersantes conocidos en la materia.

10 Los compuestos de la presente invención pueden administrarse a un dosis de alrededor de 1 a alrededor de 20.000 µg/kg por dosis, por ejemplo alrededor de 1 a alrededor de 10.000 µg/kg, alrededor de 1 a alrededor de 5.000 µg/kg, alrededor de 1 a alrededor de 3.000 µg/kg, alrededor de 1 a alrededor de 2.000 µg/kg, alrededor de 1 a alrededor de 1.500 µg/kg, alrededor de 1 a alrededor de 1.000 µg/kg, alrededor de 1 a alrededor de 500 µg/kg, alrededor de 1 a alrededor de 250 µg/kg, alrededor de 1 a alrededor de 100 µg/kg, alrededor de 1 a alrededor de 50 µg/kg o alrededor de 1 a alrededor de 25 µg/kg por dosis dependiendo de la afección para tratar o prevenir y las características del sujeto al que se administra el compuesto. En muchos casos, la dosis puede ser de alrededor de 1 a alrededor de 10 µg/kg por dosis. En realizaciones particulares, la dosis puede ser de alrededor de 250 µg/kg por dosis, alrededor de 100 µg/kg, alrededor de 50 µg/kg o alrededor de 10 µg/kg por dosis. El régimen de dosificación para un compuesto dado podría determinarse fácilmente por el especialista en la materia que tenga acceso a esta divulgación.

20 En una realización particular, la composición farmacéutica de la invención comprende adicionalmente uno o más ingredientes farmacéuticos activos adicionales. El compuesto de la invención puede administrarse con uno o más ingredientes farmacéuticos activos adicionales, tales como anandamida, oleoiletanolamida o palmitoiletanolamida. Estos pueden estar en forma de una sola composición que comprende el compuesto de la invención y uno o más ingredientes farmacéuticos activos adicionales. Como alternativa, estos pueden estar en una o más composiciones separadas donde el compuesto de la invención está contenido en una composición y el uno o más ingredientes farmacéuticos activos adicionales están contenidos en una o más composiciones separadas.

25 La administración de los compuestos de la presente invención puede ser por lo tanto simultánea o espaciada con respecto al uno o más ingredientes farmacéuticos activos adicionales.

En un tercer aspecto, la presente invención proporciona un compuesto según el primer aspecto de la invención, o una composición según el segundo aspecto, para uso en terapia.

30 En un cuarto aspecto, la invención proporciona un compuesto según el primer aspecto de la invención, o una composición según el segundo aspecto, para uso en el tratamiento o la prevención de una afección cuyo desarrollo o síntomas están ligados a un sustrato de la enzima FAAH, en el que la afección es un trastorno asociado al sistema endocannabinoide.

En ciertas realizaciones, la afección para tratar puede seleccionarse de:

35 (i) dolor, en particular dolor neurogénico agudo o crónico tal como migraña y dolor neuropático (por ejemplo, dolor neuropático diabético, neuralgia postherpética, neuralgia del trigémino); migraña; dolor inflamatorio agudo o crónico tal como el asociado a enfermedades inflamatorias tales como artritis, artritis reumatoide, artrosis, osteoporosis, espondilitis, gota, vasculitis, enfermedad de Crohn y síndrome del intestino irritable; dolor periférico agudo o crónico; dolor de cáncer;

(ii) mareos, vómitos y náuseas, en particular resultantes de quimioterapia;

40 (iii) trastornos alimentarios, en particular trastornos del apetito, trastornos metabólicos, anorexia y caquexia de diversas naturalezas;

45 (iv) patologías neurológicas y psiquiátricas tales como temblores, discinesias, distonías, náuseas, émesis, trastornos adictivos (tales como adicción a un fármaco o fármacos o alcohol), espasticidad, comportamiento obsesivocompulsivo, síndrome de Tourette, todas las formas de depresión y ansiedad de cualquier naturaleza y origen, insomnio, trastornos del ánimo y psicosis tales como esquizofrenia;

(v) enfermedades neurodegenerativas agudas y crónicas tales como enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, demencia senil, corea de Huntington, lesiones relacionadas con la isquemia cerebral y con traumatismo craneal y medular;

(vi) epilepsia;

50 (vii) trastornos del sueño, incluyendo apnea del sueño;

(viii) enfermedades cardiovasculares tales como insuficiencia cardíaca, hipertensión, choque circulatorio, lesión por reperfusión de miocardio, arritmias cardíacas, arteriosclerosis/aterosclerosis, ataque al corazón, isquemia cardíaca, vasculitis e isquemia renal;

- (ix) cánceres, por ejemplo tumores cutáneos benignos, tumores cerebrales y papilomas, tumores de próstata y tumores cerebrales (glioblastomas, meduloepiteliomas, meduloblastomas, neuroblastomas, tumores de origen embrionario, astrocitomas, astroblastomas, ependimomas, oligodendrogliomas, tumor del plexo, neuroepiteliomas, tumor epifisario, ependimoblastomas, meningiomas malignos, sarcomatosis, melanomas malignos y schwannomas);
- 5 (x) trastornos del sistema inmunitario, en particular enfermedades autoinmunitarias tales como psoriasis, lupus eritematoso, enfermedades del tejido conectivo o enfermedades del colágeno, síndrome de Sjögren, espondilitis anquilosante, espondilitis indiferenciada, enfermedad de Behcet, anemia hemolítica autoinmunitaria, esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, amiloidosis, rechazo de injerto, enfermedades que afectan a la línea plasmacítica, enfermedades alérgicas; hipersensibilidad inmediata o retardada, rinitis alérgica o conjuntivitis, dermatitis de contacto;
- 10 (xi) enfermedades infecciosas parasitarias, víricas o bacterianas tales como SIDA y meningitis;
- (xii) enfermedades inflamatorias, en particulares enfermedades articulares tales como artritis, artritis reumatoide, artrosis, espondilitis, enfermedad de Crohn, gota, vasculitis, síndrome del intestino irritable/inflamatorio, asma;
- (xiii) osteoporosis;
- 15 (xiv) afecciones del ojo tales como hipertensión ocular, retinopatía y glaucoma;
- (xv) afecciones pulmonares incluyendo enfermedades de los tractos respiratorios, broncoespasmo, tos, asma, bronquitis crónica, obstrucción crónica del tracto respiratorio y enfisema;
- (xvi) enfermedades gastrointestinales tales como síndrome del intestino irritable/inflamatorio, trastornos intestinales inflamatorios, úlceras, diarrea, incontinencia urinaria e inflamación de vejiga;
- 20 (xvii) enfermedades hepáticas agudas y crónicas tales como hepatitis y cirrosis;
- (xviii) trastornos neurológicos tales como neurotraumatismo, apoplejía, esclerosis múltiple, lesión de médula espinal, enfermedad de Parkinson, discinesia inducida por levodopa, enfermedad/corea de Huntington, Gilles de la Tourette, discinesia tardía, distonía, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer y epilepsia.
- 25 En un quinto aspecto de la invención, se proporciona un proceso para la síntesis de un compuesto como se define en el primer aspecto, en que el proceso comprende un proceso para la síntesis de una sal de ácido de N-metilciclopentilamina, comprendiendo el proceso la reacción de ciclopentilamina con un cloroformiato o carbonato de di-*terc*-butilo, para formar un carbamato de ciclopentilo, seguido de reducción del carbamato de ciclopentilo y acidificación hasta la sal ácida de N-metilciclopentilamina.
- 30 El proceso del quinto aspecto puede usarse para producir eficazmente una sal de ácido de N-metilciclopentilamina, un intermedio clave en la preparación del compuesto de Fórmula A. El presente proceso proporciona un alto rendimiento y una buena calidad de producto. Es una sal de ácido preferida la sal HCl. Sin embargo, son también factibles otras sales de ácidos inorgánicos y orgánicos.
- 35 En realizaciones, se realiza la formación de carbamato de ciclopentilo en condiciones básicas, por ejemplo bases inorgánicas tales como NaOH (p.ej. 3 M), NaHCO₃, Na₂CO₃ o K₂CO₃ o bases orgánicas tales como trietilamina, diisopropiletilamina, en un disolvente orgánico tal como THF, metil-THF, dioxano, metil-*terc*-butiléter o diclorometano. El cloroformiato usado para esta etapa puede ser, por ejemplo, C₁₋₄, tal como cloroformiato de etilo. La etapa de reducción puede realizarse usando hidruro de litio y aluminio (LAH), en un disolvente orgánico tal como THF o metil-THF. El intervalo de temperatura es de 30 °C a reflujo, preferiblemente a 60 °C. Para el aislamiento del producto, es conveniente añadir un ácido orgánico tal como HCl, HBr, HI (p.ej. concentrados) o un ácido orgánico tal como ácido acético, para formar la correspondiente sal de ácido de N-metilciclopentilamina.
- 40 En un sexto aspecto, la invención proporciona también un proceso para la síntesis de un compuesto como se define en el primer aspecto, en que el proceso comprende un proceso para la síntesis de una sal de ácido de N-metilciclopentilamina, comprendiendo el proceso la aminación reductiva de ciclopentanona en presencia de una sal de ácido de metilamina.
- 45 En realizaciones del sexto aspecto, la reducción tiene lugar en presencia de una cantidad catalítica de metal precioso soportado sobre carbono, tal como Pd/C (p.ej., al 5 % o 10 %), por ejemplo en presencia de una base orgánica tal como trietilamina o diisopropiletilamina y un disolvente de tipo alcohol tal como metanol, etanol, propanol o butanol bajo atmósfera de hidrógeno. La presión puede variar de presión atmosférica a 10 bar. Puede usarse una temperatura de alrededor de 50-80 (o 60-70) °C. La sal de ácido preferida en el séptimo aspecto es la sal HCl, en la que se usa HCl de metilamina en el proceso. Sin embargo, son también factibles otras sales de ácidos inorgánicos y orgánicos. Por tanto, pueden prepararse sales de ácido inorgánico tales como HBr, HI o una sal de ácido orgánico tal como ácido acético mediante métodos análogos.
- 50

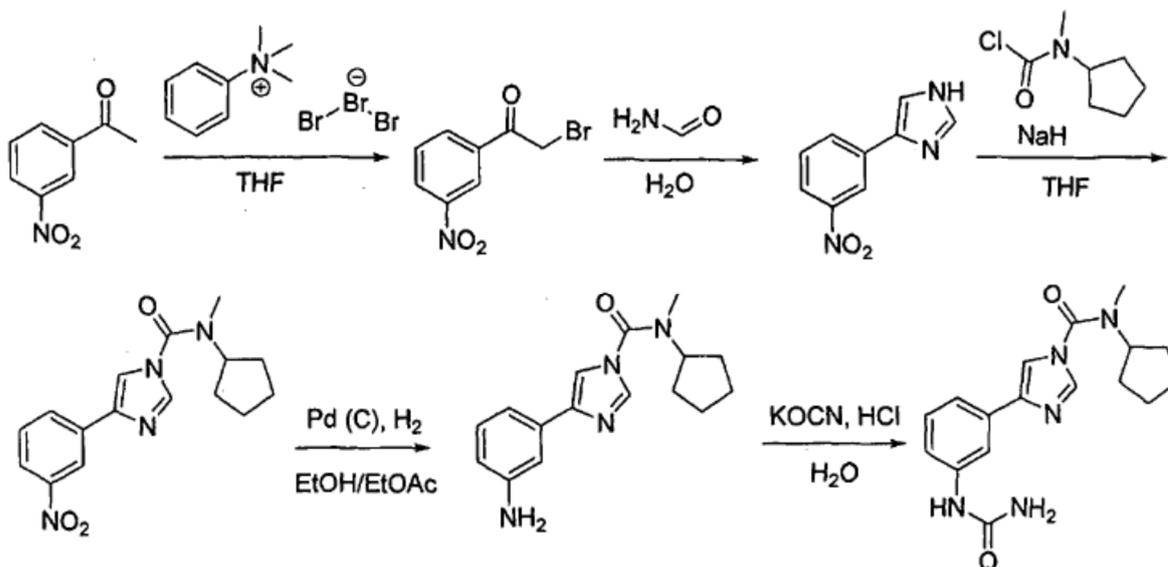
Descripción detallada de la invención

La invención se define por las reivindicaciones adjuntas. Se describirá ahora con más detalle solo a modo de ejemplo:

1. Metodologías sintéticas

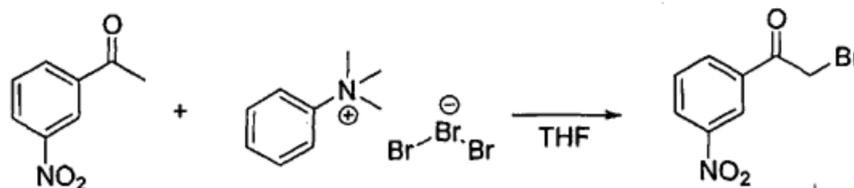
- 5 Los métodos usados para la síntesis de los compuestos de la invención se ilustran por los esquemas generales siguientes. Todos los compuestos e intermedios se caracterizaron por resonancia magnética nuclear (RMN). Los materiales de partida y reactivos usados en la preparación de estos compuestos están disponibles de suministradores comerciales o pueden prepararse mediante métodos obvios para los especialistas en la materia. Estos esquemas generales son meramente ilustrativos de métodos mediante los cuales pueden sintetizarse los
10 compuestos de esta invención, y pueden hacerse diversas modificaciones a estos esquemas y se sugerirán a un especialista en la materia con referencia a esta divulgación.

Temperatura ambiente en los siguientes esquemas significa una temperatura que oscila de 20 a 25 °C.

Esquema general de síntesis de *N*-ciclopentil-*N*-metil-4-(3-ureidofenil)-1*H*-imidazol-1-carboxamida (compuesto 1)

15

2-Bromo-1-(3-nitrofenil)etanona



20

Se añadió gota a gota una disolución de tribromuro de feniltrimetilamonio (50,1 g, 133 mmol) en THF (200 ml) a una disolución agitada de 1-(3-nitrofenil)etanona (20 g, 121 mmol) en THF (200 ml) a temperatura ambiente. Se dejó agitar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h. Se filtró la suspensión blanca, se lavó la torta de filtrado con THF y se evaporó el filtrado a vacío, dando un aceite amarillo. Se disolvió entonces el residuo en AcOEt y se lavó con agua. Se secó la capa orgánica (MgSO₄) y se evaporó a vacío, dando un aceite amarillo que solidificó en un sólido amarillo. Se recristalizó el sólido con propan-2-ol y se aisló el producto final en forma de un sólido blanquecino. 2-Bromo-1-(3-nitrofenil)etanona (20,5 g, 70 % de rendimiento).

25

(¹H, 600 MHz, 20 °C, CDCl₃) δ: 8,83 (1H, t, J= 2 Hz), 8,49 (1H, ddd, J= 1,0, 2,3, 8,2 Hz), 8,34 (1H, ddd, J= 1,0, 1,7, 7,8 Hz), 7,75 (1H, t, J= 8,1 Hz), 4,49 (2H, s).

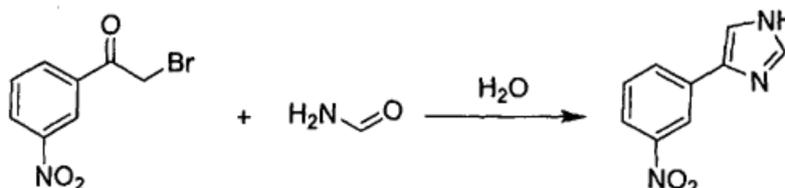
(¹³C, 150 MHz, 20 °C, CDCl₃) δ: 189,3, 148,5, 135,1, 134,4, 130,2, 128,1, 123,8, 29,9

Punto de fusión (pf): 90-91 °C.

Es una ruta alternativa para la reacción de bromación como sigue:

Se carga durante un periodo de no menos de 2 horas, manteniendo la temperatura por debajo de 30 °C, una solución de bromo (0,34 vol, 1,08 eq) en una disolución de 3-nitroacetofenona (1 peso, 1 eq) en ácido acético (10 vol). Después de agitar durante 1 hora a una temperatura entre 25 y 30 °C, se comprueba la terminación de la reacción. Después de la terminación de la reacción, se carga agua fría (12 vol), formando un precipitado blanco. Se agita la suspensión durante 1 hora adicional a 15 °C y entonces se filtra. Se lava la torta con agua (4,5 vol). Se seca el producto a vacío a una temperatura no mayor de 45 °C hasta una pérdida por secado < 1,0 %. El rendimiento aislado del producto bromado era de alrededor del 66 %. Este enfoque alternativo puede prestarse mejor a un aumento de escala.

10 4-(3-Nitrofenil)-1H-imidazol



Se añadió agua (8 ml) a una suspensión agitada de 2-bromo-1-(3-nitrofenil)etanona (57,1 g, 234 mmol) y formamida (116 ml, 2,9 mol). Se dejó agitar la mezcla a 140 °C durante 5 h. Se vertió el residuo marrón en 300 ml de agua, se separó el precipitado resultante por filtración y se lavó con una disolución de HCl 1 M. Se alcalinizó el filtrado con NaOH al 50 % y se separó el precipitado amarillo resultante por filtración y se lavó con agua. Se secó el sólido y se recristalizó entonces con propan-2-ol. 4-(3-Nitrofenil)-1H-imidazol (7,05 g, 44 % de rendimiento).

(¹H, 600 MHz, 20 °C, DMSO) δ: 12,37 (1H, s, a), 8,58 (1H, mt, J= 2,0 Hz), 8,21 (1H, ddd, J= 1,0, 1,6, 7,8 Hz), 8,02 (1H, ddd, J= 1,0, 2,5, 8,2 Hz), 7,88 (1H, dd, J= 1,2 Hz), 7,79 (1H, dd, J= 1,1 Hz), 7,64 (1H, t, J= 8,1 Hz)

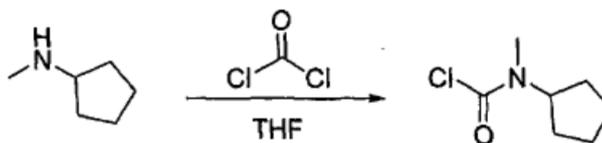
(¹³C, 150 MHz, 20 °C, DMSO) δ: 148,4, 137,9, 136,8, 136,6, 130,5, 130,0, 120,5, 118,3, 114,6.

20 Punto de fusión: 221 °C (desc.)

En términos de potenciaciones en esta etapa del proceso, se ha encontrado que el uso de formamida sola (concretamente sin agua) como medio de suspensión conduce a un rendimiento aumentado, como aumentar la temperatura de 140 a 170 °C (hasta un 80 %). Es por tanto un protocolo potenciado como sigue:

Se calienta una disolución de 2-bromo-1-(3-nitrofenil)etanona (1 peso, 1 eq) en formamida (10 vol) a 170 °C y se agita durante un periodo de no más de 4 horas. Después de agitar durante 4 horas, se comprueba la terminación de la reacción. Después de la terminación de la reacción, se enfría la mezcla a t.a. y se carga agua (15 vol). Se filtra la suspensión, se lava la torta con HCl 3 N (2 vol) y se filtran de nuevo las aguas madre. Se ajusta el pH de la solución a 14 mediante la adición de NaOH al 50 % (2 vol), manteniendo la temperatura de mezcla entre 0 y 5 °C. Después de agitar la suspensión a 0/5 °C durante no menos de 30 minutos, se filtra y se lava la torta con agua (5 vol). Se seca el producto a vacío a una temperatura de no más de 45 °C hasta una pérdida por secado < 1,0 %.

Cloruro ciclopentil(metil)carbámico



Se añadió gota a gota una disolución de N-metilciclopentanamina (10 g, 101 mmol) en THF (126 ml) a una disolución de fosgeno (63,7 ml, 121 mmol, 20 % en tolueno) a 0 °C, dando una suspensión blanca. Se dejó agitar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h. Se vertió la disolución en hielo. Se diluyó la capa orgánica con AcOEt, se separó, se lavó con HCl 1 M, se secó (MgSO₄) y se evaporó a vacío, dando un aceite fluido transparente. Cloruro ciclopentil(metil)carbámico (13,1 g, 80 % de rendimiento).

(¹H, 600 MHz, 20 °C, CDCl₃) δ: 4,65 (1H, m), 3,0, 2,93 (3H, 2 singletes), 1,92 (2H, m), 1,73 (2H, m), 1,59 (4H, m)

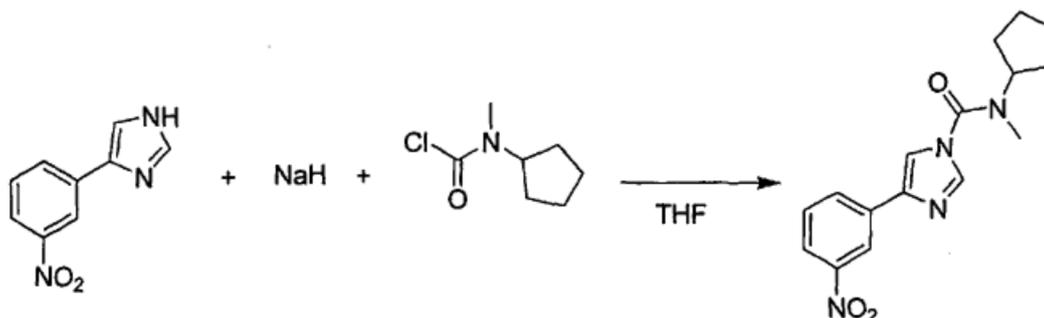
(¹³C, 150 MHz, 20 °C, CDCl₃) δ: 149,7, 149,3, 61,1, 59,5, 33,1, 31,1, 28,8, 28,5, 24,0

40

La etapa de carbamoylación puede llevarse a cabo también usando trifosgeno/DCM y carbonato de sodio como sigue:

5 Se enfría a 0/5 °C una disolución de trifosgeno (1,2 peso, 0,4 eq) en DCM (10 vol) y se agita durante un periodo de no más de 10 minutos. Se carga una disolución de *N*-metilciclopentilamina (1 peso, 1 eq) en DCM (5 vol) manteniendo la temperatura de reacción por debajo de 10 °C. Después de la adición de la disolución de amina, se carga Na₂CO₃ (2,14 peso, 2 eq) y se deja calentar a t.a. Después de agitar durante 2 horas, se filtra la mezcla de reacción y se lava la torta con DCM (1 vol). Después de concentrar hasta sequedad, se obtiene un aceite amarillo y se usa tal cual sin tratamiento adicional

***N*-Ciclopentil-*N*-metil-4-(3-nitrofenil)-1*H*-imidazol-1-carboxamida**



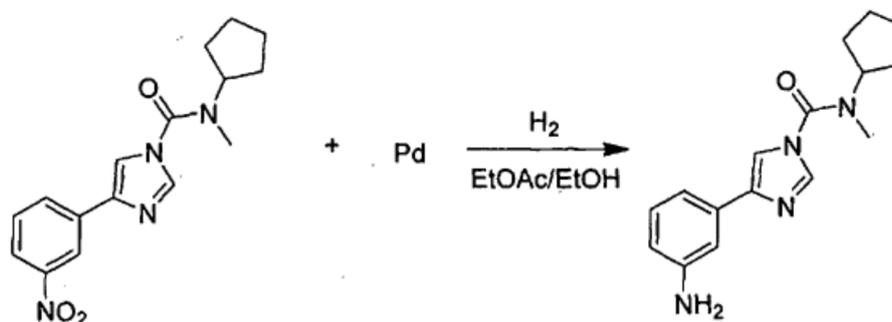
10 Se añadió en porciones hidruro de sodio (5,1 g, 127 mmol, dispersión al 60 % en aceite mineral) a una suspensión agitada de 4-(3-nitrofenil)-1*H*-imidazol (20 g, 106 mmol) en THF (500 ml) a 0 °C. La suspensión amarilla se volvió una suspensión roja oscura. Se dejó agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos antes de añadir una disolución de cloruro ciclopentil(metil)carbámico (25,6 g, 159 mmol) en THF (26 ml). Se dejó agitar entonces la suspensión a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió agua a 0 °C y se evaporó el THF. Se extrajo el residuo orgánico con DCM, se separó la capa orgánica, se secó (MgSO₄) y se evaporó a vacío, dando un sólido beis. Se trituró el sólido con propan-2-ol. *N*-Ciclopentil-*N*-metil-4-(3-nitrofenil)-1*H*-imidazol-1-carboxamida (25,18 g, 76 % de rendimiento).

20 (¹H, 600 MHz, 20 °C, CDCl₃) δ: 8,63 (1H, mt, J= 2,0 Hz), 8,16 (1H, ddd, J= 1,0, 1,6, 7,8 Hz), 8,14 (1H, ddd, J= 1,0, 2,3, 8,2 Hz), 7,96 (1H, d, J= 1,3 Hz), 7,65 (1H, dd, J= 1,3 Hz), 7,58 (1H, t, J= 8,1 Hz), 4,45 (1H, m), 3,03 (3H, s), 1,98 (2H, m), 1,80 (2H, m), 1,73 (2H, m), 1,66 (2H, m)

(¹³C, 150 MHz, 20 °C, CDCl₃) δ: 151,3, 148,7, 140,1, 137,3, 134,9, 130,9, 129,7, 122,1, 119,9, 114,6, 59,4, 31,3, 28,9, 24,4

Punto de fusión: 121-122 °C

25 **4-(3-Aminofenil)-*N*-ciclopentil-*N*-metil-1*H*-imidazol-1-carboxamida**



30 Se añadió una mezcla de acetato de etilo (160 ml) y EtOH (160 ml) a Pd/C húmedo (0,846 g, 0,795 mmol, 10 %) bajo atmósfera de argón. Se añadió a esto *N*-ciclopentil-*N*-metil-4-(3-nitrofenil)-1*H*-imidazol-1-carboxamida (5 g, 15,91 mmol) en porciones y se dejó agitar la suspensión a temperatura ambiente durante una noche bajo atmósfera de hidrógeno. Se barrió la mezcla con argón, se filtró a través de Celite y se lavó la Celite con DCM. Se evaporó el filtrado a vacío, dando un aceite transparente que solidificó en un sólido incoloro. Se recrystalizó el sólido con propan-2-ol. 4-(3-Aminofenil)-*N*-ciclopentil-*N*-metil-1*H*-imidazol-1-carboxamida (3,62 g, 80 % de rendimiento).

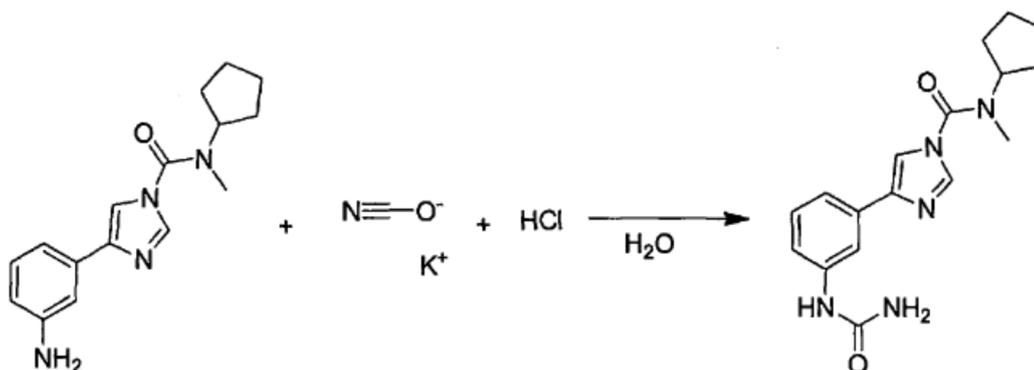
35 (¹H, 600 MHz, 20 °C, DMSO) δ: 8,06 (1H, d, J= 1,3 Hz), 7,77 (1H, d, J= 1,1 Hz), 7,08 (1H, t, J= 1,9 Hz), 7,0 (1H, t, J= 7,8 Hz), 6,98 (1H, md, J= 7,7 Hz), 6,45 (1H, ddd, J= 1,2, 2,3, 7,7 Hz), 5,07 (2H, s), 4,37 (1H, m), 2,92 (3H, s), 1,87 (2H, m), 1,68 (4H, m), 1,53 (2H, m)

(¹³C, 150 MHz, 20 °C, DMSO) δ: 151,2, 148,8, 141,4, 137,3, 133,8, 129,0, 113,7, 112,9, 112,8, 110,4, 58,4, 31,2, 28,2, 24,0

Punto de fusión: 108-109 °C

5 En una realización alternativa, puede usarse un producto derivado de anilina de esta etapa en la etapa posterior sin purificación, concretamente de tal modo que esta y la etapa posterior puedan condensarse.

N-Ciclopentil-N-metil-4-(3-ureidofenil)-1H-imidazol-1-carboxamida (Compuesto 1)



10 Se añadió cianato de potasio (0,445 g, 5,49 mmol) en porciones a una solución agitada de 4-(3-aminofenil)-N-ciclopentil-N-metil-1H-imidazol-1-carboxamida (1,3 g, 4,57 mmol) en una mezcla de cloruro de hidrógeno 2 N (2,286 ml, 4,57 mmol) en agua (4 ml) a 0 °C. Se dejó agitar la mezcla a temperatura ambiente durante 24 h. Se añadió cianato de potasio (0,220 g, 2,74 mmol) y se dejó agitar la mezcla a temperatura ambiente durante otra noche. Se añadió agua y se diluyó la capa orgánica con una mezcla de DCM/propan-2-ol 7:3. Se separó la capa orgánica y se lavó con una disolución acuosa de HCl 1 N. Se separó la capa orgánica, se secó (MgSO₄) y se evaporó a vacío, dando una espuma incolora. Se purificó el producto por cromatografía en columna (sílice, DCM/MeOH al 5 %, 10 %) y se aisló en forma de un sólido incoloro. Se recristalizó el sólido con EtOH a 0 °C. N-Ciclopentil-N-metil-4-(3-ureidofenil)-1H-imidazol-1-carboxamida (0,403 g, 26 % de rendimiento).

20 Los compuestos de la invención anteriores se caracterizaron por el punto de fusión y la RMN como se detalla a continuación. Se registraron los espectros de RMN en un espectrómetro Bruker 600MHz Avance III con disolvente usado como patrón interno. Se registraron los espectros de ¹³C a 150 MHz y se registraron los espectros de ¹H a 600 MHz. Los datos se reseñan en el orden siguiente: desplazamiento químico aproximado (ppm), número de protones, multiplicidad (a, ancho; d, doblete; m, multiplete; s, singlete; t, triplete) y constante de acoplamiento (Hz).

Compuesto nº 1 (punto de fusión: 204 °C).

(¹³C, 150 MHz, 20 °C, DMSO) δ: 156, 151,1, 140,9, 140,8, 137,5, 133,7, 128,9, 117,9, 116,6, 114,2, 114,2, 58,4, 31,2, 28,2, 24.

25 (¹H, 600 MHz, 20 °C, DMSO) δ: 8,55 (1H, s), 8,09 (1H, d, J= 1,2 Hz), 7,86 (1H, d, J= 1,2 Hz), 7,85 (1H, t, J= 1,8 Hz), 7,35 (1H, md), 7,34 (1H, md), 7,22 (1H, t, J= 7,8 Hz), 5,84 (2H, s), 4,36 (1H, m), 2,93 (3H, s), 1,87 (2H, m), 1,69 (4H, m), 1,54 (2H, m).

30 Una potenciación en esta etapa final (formación de urea en el anillo de fenilo) consiste en usar ácido acético como disolvente para 4-(3-aminofenil)-N-ciclopentil-N-metil-1H-imidazol-1-carboxamida en lugar de agua. Esto conduce a una mejora del rendimiento (alrededor del 78 %) y a un protocolo de aislamiento mejorado. La etapa potenciada puede describirse como sigue: Se disuelve 4-(3-aminofenil)-N-ciclopentil-N-metil-1H-imidazol-1-carboxamida en AcOH (8,8 vol) a temperatura ambiente. Se añade a la disolución resultante a temperatura ambiente una disolución de cianato de potasio (0,65 peso, 2,5 eq) en agua (0,9 vol). Se agita la disolución resultante a temperatura ambiente hasta la terminación de la reacción (material de partida < 0,1 %). Al cabo de 1 h, aparecía precipitación del producto de urea. Se añade a la suspensión resultante agua (5 vol) y sedimenta más sólido. Se envejece entonces la suspensión beis durante 1 h a temperatura ambiente y se filtra. Se lava el sólido beis con agua (10 vol) y se seca por estufa a vacío hasta una pérdida por secado < 1,5 %.

En el caso de que esta etapa potenciada (usando ácido acético) conduzca a una impureza de anilina N-acetilada, puede practicarse una recristalización. Esta puede ser como sigue:

40 Se añadió gota a gota agua (5 vol) durante 30 minutos a una disolución del producto de urea (1 peso) en ácido acético (5 vol) a temperatura ambiente. Después de sembrar, se añadió agua (2 vol) y se envejeció la suspensión a temperatura ambiente durante 1 h. Se enfría la suspensión a 10 °C, se agita a 10 °C durante al menos 1 h y se filtra. Se lava el sólido blanquecino con una mezcla 9:1 de agua:ácido acético (2 vol), agua (10 vol) y se seca en una

estufa a vacío a 55 °C. Se disuelve entonces el sólido blanquecino (0,82 peso) en ácido acético (3,96 vol) a temperatura ambiente y se añadió agua (4,1 vol) gota a gota durante 30 minutos. Se añadió entonces semilla a la disolución, seguido de agua (1,6 vol). Se agitó la suspensión resultante a temperatura ambiente durante al menos 1 h y se enfrió entonces a 10 °C. Después de envejecer la suspensión a 10 °C durante al menos 1 h, se filtra el sólido, se lava con una mezcla 9:1 de agua:ácido acético (1,6 vol), agua (10 vol) y se seca en una estufa a vacío a 55 °C hasta que la pérdida por secado es < 1,5 %.

2. Eficacia biológica

Se practicó el ensayo *in vivo* según el protocolo descrito a continuación. BRh (homogeneizado cerebral) indica inhibición en tejido nervioso central, en este caso cerebro, y LVh (homogeneizado hepático) indica inhibición en tejido periférico, en este caso hígado. Los controles eran mezcla de reacción menos los compuestos de prueba. Por lo tanto, un valor bajo del compuesto de prueba indica un inhibidor fuerte. Un valor de 100 indica que no tuvo lugar una inhibición mensurable.

Protocolo *in vivo*

Tratamiento animal

Los animales usados para experimentos eran ratones NMRI macho (de 27-44 g de peso) obtenidos de Interfauna Ibérica (España). Se mantuvieron los ratones 5 por jaula, bajo condiciones ambientales controladas (ciclo de luz/oscuridad de 12 h y temperatura ambiente de 22 ± 1 °C). Se les dejó alimento y agua corriente a voluntad y se llevaron a cabo todos los experimentos durante las horas del día.

Se administró a los animales 30 mg/kg o 3 mg/kg de compuesto de la invención o compuestos comparadores por vía oral (8 ml/kg; compuesto suspendido en carboximetilcelulosa (CMC) al 0,5 % o solubilizado en agua) o vehículo (controles) usando agujas curvas de acero inoxidable de alimentación animal (Perfectum, EE.UU). Quince minutos antes del sacrificio, se anestesiaron los animales con pentobarbital 60 mg/kg administrado por vía intraperitoneal. Se retiró un fragmento de hígado, el lóbulo pulmonar izquierdo y el cerebro sin cerebelo y se pusieron en viales de plástico que contenían tampón de membrana (MgCl₂ 3 mM, EDTA 1 mM, Tris HCl 50 mM, pH 7,4). Se almacenaron los tejidos a -30 °C hasta el análisis.

Se hicieron ayunar siempre los animales durante la noche antes de la administración de los compuestos excepto para los puntos temporales > 18 h, en que se retiró el alimento la mañana del día de administración y se administró el compuesto en la tarde del mismo día. Se les dio entonces a los animales agua, pero nada más.

Todos los procedimientos animales se realizaron con estricta adhesión a la Directiva Europea para la protección de animales vertebrados usados para experimentación y otros fines científicos (86/609CEE) y la legislación portuguesa (Decreto-Lei 129/92, Portarias 1005/92 e 1131/97). El número de animales usados era el mínimo posible en cumplimiento con los reglamentos actuales y la integridad científica.

Reactivos y disoluciones

Se obtuvo anandamida [etanolamina-1-³H-] (40-60 Ci/mmol) de American Radiochemicals. Todos los demás reactivos se obtuvieron de Sigma-Aldrich. Se obtuvo Optiphase Supermix de Perkin Elmer y se obtuvo el carbón activado de Sigma-Aldrich.

Preparación de tejido

Se descongelaron los tejidos en hielo y se homogeneizaron en 10 volúmenes de tampón de membrana (MgCl₂ 3 mM, EDTA 1 mM, Tris HCl 50 mM, pH 7,4) con Potter-Elvehjem (cerebros-8 carreras a 500 rpm) o Heidolph DiAx (hígados- 2 carreras en la posición 5 durante 20 s con pausas de 30 s).

Se determinó la proteína total en tejidos con el ensayo de proteína BioRad (BioRad) usando una curva patrón de BSA (50-250 µg/ml).

Ensayo enzimático

La mezcla de reacción (volumen total de 200 µl) contenía: AEA 2 µM (AEA 2 µM + ³H-AEA 5 nM), 0,1 % de BSA exenta de ácidos grasos, 15 µg de proteína (de cerebro), 5 µg (de hígado) o 50 µg (de pulmón) en EDTA 1 mM, Tris 10 mM pH 7,6. Después de un periodo de preincubación de 15 min a 37 °C, se inició la reacción mediante la adición de la disolución de sustrato (AEA frío + AEA radiomarcado + BSA). Se llevó a cabo la reacción durante 10 min (cerebro y pulmón) o 7 min (hígado) antes de la terminación mediante la adición de 400 µl de suspensión de carbón activado (8 g de carbón en 32 ml de HCl 0,5 M con agitación continua). Después de un periodo de incubación de 30 min a temperatura ambiente con agitación, se sedimentó el carbón por centrifugación en microcentrifuga (10 min a 13000 rpm). Se añadieron 200 µl del sobrenadante a 800 µl de cóctel de centelleo Optiphase Supermix distribuido anteriormente en placas de 24 pocillos. Se determinaron las cuentas por minuto (cpm) en un contador de centelleo Microbeta TriLux.

En cada ensayo, se prepararon blancos (sin proteína).

Se calculó el porcentaje de actividad enzimática restante con respecto a los controles y después de la sustracción del blanco.

Determinación de DE₅₀

- 5 Se dieron los compuestos de prueba a dosis crecientes (10, 3, 1, 0,3, 0,03 y 0,01 mg/kg) a los animales y a las 8 h después de la administración. Se determinó la actividad de FAAH según el protocolo *in vivo* anteriormente mencionado y se calcularon entonces los valores de DE₅₀ por el software "Prisma" con intervalos de confianza del 95 %.

Ensayo de estabilidad metabólica de CYP

- 10 Se practicó la estabilidad de los compuestos de prueba en MLM (microsomas hepáticos de ratón) o HLM (microsomas hepáticos humanos) en presencia y en ausencia de NADPH.

Se midió la estabilidad usando la mezcla de incubación (100 µl de volumen total) que contenía proteína total 1 mg/ml, MgCl₂ 5 mM y tampón fosfato de K 50 mM. Se incubaron las muestras en presencia y en ausencia de NADPH 1 mM. Se preincubaron las reacciones 5 min y se inició la reacción con el compuesto bajo prueba (5 µM para HLM y 50 µM para MLM). Se incubaron las muestras durante 60 min en un baño de agua agitada a 37 °C. Se detuvo la reacción añadiendo 100 µl de acetonitrilo. Se centrifugaron entonces las muestras, se filtraron y se inyectó el sobrenadante en HPLC-MSD. Se disolvieron los compuestos de prueba en DMSO y la concentración final de DMSO en la reacción era inferior al 0,5 % (v/v). A T0, se añadió acetonitrilo antes de añadir el compuesto. Se practicaron todos los experimentos con muestras por duplicado.

- 20 Se probó el compuesto 1 (*N*-ciclopentil-*N*-metil-4-(3-ureidofenil)-1*H*-imidazol-1-carboxamida; al que se hace referencia también como el compuesto de Fórmula A, anterior). Se probaron también dos compuestos comparadores que se divulgan en el documento WO 2010/074588. Estos son los siguientes:

Compuesto comparador 1- *N*-ciclohexil-4-(3-guanidinofenil)-*N*-metil-1*H*-imidazol-1-carboxamida.

Compuesto comparador 2- *N*-ciclopentil-4-(4-fluoro-3-hidroxifenil)-*N*-metil-1*H*-imidazol-1-carboxamida.

- 25 El compuesto comparador 1 es estructuralmente similar al compuesto 1, aunque hay claras diferencias entre estos compuestos. El compuesto comparador 2 es también estructuralmente similar al compuesto 1 pero, de nuevo, hay claras diferencias entre estos dos compuestos.

	Actividad de FAAH (%) Br.h.3 mg/kg.8h.po	Actividad de FAAH (%) Lv.h.3 mg/kg.8h.po
Compuesto 1	85,1	0,7
Compuesto comparador 1	86,2	20,3
Compuesto comparador 2	121,1	2,1

- 30 Como puede verse en la tabla anterior, el compuesto 1 es el compuesto más potente en términos de inhibición de FAAH en el hígado. En particular, el compuesto 1 es mucho más potente que el compuesto comparador 1.

La selectividad periférica puede calcularse dividiendo la actividad de FAAH en el hígado entre la actividad de FAAH en el cerebro. Cuando se hace esto, un número menor muestra que un compuesto es más selectivo periféricamente. Los resultados se dan en la tabla siguiente:

	Selectividad periférica
Compuesto 1	0,008
Compuesto comparador 1	0,235
Compuesto comparador 2	0,017

- 35 Estos resultados muestran que el compuesto 1 es el compuesto más selectivo periféricamente en un factor de más de 2. Además, el compuesto 1 es mucho más selectivo periféricamente que el compuesto comparador 1.

Se dan en la tabla siguiente datos adicionales referidos a la actividad de FAAH a diversas concentraciones de compuesto 1 y compuesto comparador 2:

	Actividad de FAAH (%) en hígado de ratón				
	1 h	8 h			
	3 mg/kg	10 mg/kg	3 mg/kg	1 mg/kg	0,1 mg/kg
Compuesto 1	1,9	0,4	0,7	1,6	6,4
Compuesto comparador 2	17,0	1,2	2,1	4,9	73,8

5 Como puede verse, a todas las dosis la actividad de FAAH es mucho menor después de la administración del compuesto 1, en comparación con el compuesto comparador 2. En particular, a 0,1 mg/kg a las 8 horas después de la dosis, la actividad de FAAH es significativamente menor para el compuesto 1 en comparación con el compuesto comparador 2. Esto muestra que el compuesto 1 es significativamente más potente que el compuesto comparador 2. A 0,1 mg/kg, el compuesto 1 es más de 10 veces más potente que el compuesto comparador 2. Esta es una diferencia de potencia sorprendentemente grande. Este dato es también evidencia de que el compuesto 1 es metabólicamente estable, puesto que cuando se realizan experimentos de inhibición *in vivo*, la estabilidad metabólica del compuesto desempeñará también un papel en el nivel de inhibición y la longitud del tiempo en la que tiene lugar la inhibición.

15 La tabla siguiente muestra los datos de DE₅₀ de inhibición de FAAH (dosis eficaz mediana, la dosis de compuesto requerida para producir un 50 % de inhibición de FAAH en hígado) de los compuestos después de administración p.o. en ratón. Se incluyen intervalos de confianza (95 %).

Compuesto	DE ₅₀ hepática (IC 95) (mg/kg)	Tiempo (h)
Compuesto 1	0,03 (0,02; 0,04)	1
Compuesto comparador 2	0,17 (0,13; 0,23)	8

20 La tabla siguiente muestra la estabilidad metabólica del compuesto 1 y del compuesto comparador 2. Los datos de estabilidad se dan como % del compuesto restante después de 1 h de exposición a MLM o HLM. 100 % significa ninguna reacción metabólica en absoluto y 0 % corresponde a una degradación enzimática completa. "CYP-" hace referencia a la ausencia de cofactor (NADPH), que es esencial para reacciones metabólicas de CYP. Por lo tanto, "CYP-" puede considerarse como el valor de control. "CYP+" hace referencia a la presencia de cofactor y la degradación enzimática puede tener lugar según la estabilidad del compuesto de prueba. Como puede verse, el compuesto 1 es más estable que el compuesto comparador 2, tanto en MLM como en HLM.

	Estabilidad metabólica (% del restante)			
	Ratón		Ser humano	
	CYP+	CYP-	CYP+	CYP-
Compuesto 1	96	95	82	99
Compuesto comparador 2	53	92	70	92

25 3. Determinación de la CI₅₀ del compuesto 1

3.1 Materiales y métodos

a) Reactivos y disoluciones

30 La anandamida [etanolamina-1-³H-) se obtuvo de American Radiochemicals – con una actividad específica de 60 Ci/mmol. Todos los demás reactivos se obtuvieron de Sigma-Aldrich. Optiphase Supermix se obtuvo de Perkin Elmer y el carbón activado se obtuvo de Sigma.

b) Preparación de tejido

Se homogeneizaron cerebros congelados de 4 ratas Wistar en 20 ml de MgCl₂ 1 mM, HEPES (ácido 4-(2-hidroxietil)-

ES 2 667 056 T3

5 1-piperazinetanesulfónico) 20 mM pH 7,0 con Potter-Elvehjem (8 carreras a 500 rpm). Se centrifugaron los homogeneizados durante 20 min a 36000 g a 4 °C (Beckman, rotor 70Ti). Se resuspendieron los sedimentos en 15 ml del mismo tampón y se centrifugaron en las mismas condiciones. Se resuspendieron los sedimentos en 15 ml del mismo tampón y se incubaron durante 15 min a 37 °C, después de lo cual se centrifugaron durante 20 min a 36.000 g a 4 °C. Se resuspendió entonces cada sedimento en 10 ml de MgCl₂ 3 mM, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) 1 mM, Tris (2-amino-2-hidroximetilpropano-1,3-diol) 50 mM pH 7,4 y se determinó la proteína con el ensayo de proteína BioRad (BioRad) usando una curva patrón de BSA (seroalbúmina bovina) (50-250 µg/ml).

Se toman alícuotas de las suspensiones de membrana y se almacenan a -30 °C.

c) Ensayo enzimático

10 La mezcla de reacción (volumen total de 200 µl) contenía: AEA 2 µM (AEA 2 µM + ³H-AEA 5 nM), 0,1 % de BSA exenta de ácidos grasos, 5 o 10 µg de proteína, en EDTA 1 mM, Tris 10 mM pH 7,6 y compuesto 1 a diversas concentraciones. Se preparó la solución madre (10 mM) en DMSO (dimetilsulfóxido) al 100 % y la concentración de DMSO en el ensayo será del 0,1 %. Después de un periodo de preincubación de 15 min a 37 °C, se inició la reacción mediante la adición de la disolución de sustrato (AEA frío + AEA radiomarcado + BSA). Se llevó a cabo la reacción durante 10 in antes de terminación mediante la adición de 400 µl de suspensión de carbón activado (8 g de carbón en 32 ml de HCl 0,5 M con agitación continua). Después de un periodo de incubación de 30 min a temperatura ambiente con agitación, se sedimenta el carbón por centrifugación en microcentrífuga (10 min at 15000 g). Se añadieron 200 µl del sobrenadante a 800 µl de cóctel de centelleo Optiphase Supermix distribuido anteriormente en placas de 24 pocillos. Se determinaron las cuentas por minuto (CPM) o desintegraciones por minuto (DPM) en un contador de centelleo MicrobetaTriLux. En cada ensayo, estaban presentes blancos (sin proteína) y controles (sin compuesto).

d) Sistemas de prueba

Contador de centelleo Wallac 1450 MicrobetaTriLux

e) Método de prueba

25 Las condiciones de recuento fueron las siguientes:

Marcadores:	H-3
Tipo de módulo:	24 pocillos, 4 por 6
Modo de recuento:	CPM o DPM
Tipo de muestra:	Normal
Paralux usado:	No
Tiempo de recuento:	10 min
CPM norm.:	H3 norm (0) para CPM o estandarización de 3H-AEA para DPM
Estado:	n
Correcciones	
Corr. de BGND:	Desactivada
Corr. de CLM:	Desactivada
Corr. de autoapagamiento:	No para CPM, NA para DPM
Control de recuento	
Precisión:	0,2
Repeticiones :	1
Ciclos:	1
Retardo de ciclo:	0
Retardo de placa:	0
Orientación de placa:	Normal
Configuración de detección:	Normal
Ventana 1:	5-360

f) Otros equipos

Spectramax Plus - SOFTmax® PRO Software versión 3.0

g) Adquisición y análisis de datos

Se practicó la adquisición de datos brutos con el software "Microbeta TriLux Windows workstation versión 4.01".

- 5 Se practicó el análisis de datos usando el software Prism 5 para Windows, versión 5.02 (GraphPad Software Inc., San Diego, CA). Se determinó el valor de CI_{50} del compuesto 1 adaptando los datos experimentales a la ecuación de pendiente variable de log(inhibidor) frente a la respuesta normalizada:

$$Y = \frac{100}{1 + 10^{((\log CI_{50} - x) \text{pendiente de Hill})}}$$

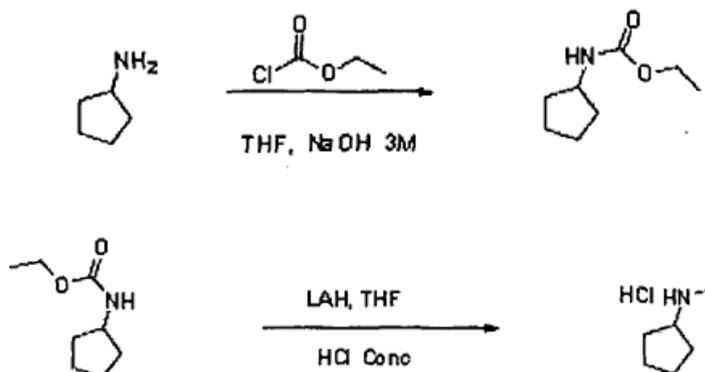
3.2 Resultados

Usando este protocolo, se determinó que el compuesto 1 tiene una CI_{50} de 27 nM.

- 10 Como puede verse por todos los resultados anteriores, el compuesto 1 es significativamente más potente, más selectivo periféricamente y/o más metabólicamente estable que cualquiera de los compuestos comparadores 1 y 2.

4. Síntesis de la sal HCl de N-metilciclopentilamina

4.1 Método de reducción de carbamato



- 15 Etapa 1: Formación de carbamato de etilo

Se añadieron respectivamente hidróxido de sodio 3 M (15,15 ml, 45,5 mmol) y cloroformato de etilo (3,47 ml, 36,4 mmol) a una disolución de ciclopentilamina (3 ml, 30,3 mmol) en THF (20 ml) a 0 °C. Se agitó la mezcla bifásica resultante durante 4 h a temperatura ambiente. Se diluyó la mezcla de reacción con MTBE (30 ml) e hidróxido de amonio (5 ml). Se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 10 minutos y se dejó entonces separar. Se lavó la capa orgánica con agua, HCl 0,5 M, se secó sobre Na₂SO₄ y se filtró. Se concentró el filtrado a presión reducida. Se obtuvo ciclopentilcarbamato de etilo (4,35 g) en forma de un aceite incoloro con 95 % de rendimiento y se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

Esta reacción avanza muy bien. El rendimiento y la calidad del producto eran altos.

Etapa 2: Reducción de carbamato de etilo

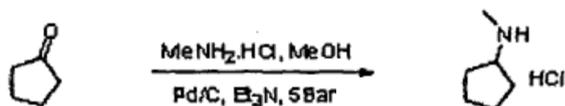
- 25 La reducción de carbamatos a la correspondiente metilamina es bien conocida en general. Esta reducción requiere habitualmente el uso de un exceso de hidruro de litio y aluminio (LAH) en THF a reflujo. Sin embargo, el uso de hidruro de litio y aluminio a gran escala puede requerir una preparativa más compleja. Por lo tanto, se usó la preparativa de Fieser (para x g de LAH, usar x ml de agua y x ml de NaOH al 15 al 25 %, seguidos entonces de 3x ml de agua), que es más segura y más fácil de manejar. Se practicó exitosamente un primer intento de carbamato de terc-butilo usando LAH y preparativa de Fieser seguida de formación de la sal clorhidrato resultante de la adición de HCl concentrado. Se obtuvo el clorhidrato de N-metilciclopentilamina al 63 % después del aislamiento. La calidad y rendimiento resultantes de este primer intento condujeron a una repetición usando carbamato de etilo, que condujo a un rendimiento molar del 83 %, y un intervalo de calidad > 98 % por RMN.

- 35 Se añadió una disolución de ciclopentilcarbamato de etilo (2 g, 12,72 mmol) en THF (8 ml) durante 20 minutos a una suspensión de LAH (2,414 g, 63,6 mmol, 5 eq) en THF (20 ml) a temperatura ambiente bajo atmósfera de nitrógeno. Nota: desprendimiento de gas. Se aclaró el embudo de adición con THF (2 ml). Se calentó la mezcla de reacción a

65 °C (temperatura interna, reflujo) durante 6 h. Se enfrió la suspensión a 0 °C (baño de agua-hielo). Se diluyó la suspensión con MTBE (30 ml). Se añadieron gota a gota a la suspensión 2,4 ml de agua (se observaron un fuerte desprendimiento de gas y reacción exotérmica), gota a gota 3,6 ml de NaOH al 10 % (es necesaria una buena agitación) y finalmente gota a gota 7,2 ml de agua. Se calentó la suspensión resultante a temperatura ambiente y se agitó durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se añadieron a la suspensión blanca MgSO₄ (10 g). Se agitó la suspensión resultante durante 10 minutos y entonces se filtró. Se lavó el sólido con MTBE (20 ml).

Se añadieron a los filtrados combinados HCl conc. (1,272 ml, 15,27 mmol, 1,2 eq). Se agitó la mezcla resultante durante una noche a temperatura ambiente y se concentró entonces hasta sequedad. Se disolvió el residuo en propan-2-ol (20 ml) y se concentró entonces hasta 2 vol (4 ml). Se añadió entonces a la solución resultante MTBE (12 ml) y sedimentó un sólido cristalino blanco. Se agitó la suspensión a temperatura ambiente durante 1 h y se recogió entonces el sólido, se lavó con MTBE (4 ml) y se secó en una estufa a vacío a 50 °C durante 4 h. Se obtuvo una primera cosecha de agujas blancas (884 mg) y se concentraron las aguas madre y lavados combinados hasta sequedad. Se añadió acetato de isopropilo (iPrOAc) al residuo y empezaron a aparecer cristales blancos. Se añadió más iPrOAc, pero algunos sólidos se incrustaron en la pared del matraz. Se añadió algo de DCM y se obtuvo un sólido transparente. Se retiró el DCM y sedimentó un sólido blanco, se filtró y se lavó con iPrOAc. Se secó el sólido cristalino blanco en una estufa a vacío a 50 °C durante 4 h. Se obtuvo una segunda cosecha de agujas blancas (547 mg). Se obtuvo clorhidrato de N-metilciclopentilamina en forma de agujas blancas con 83 % de rendimiento molar.

4.2 Método de aminación reductiva



Se encontró que el uso de ciclopentanona y clorhidrato de N-metilamina en presencia de una cantidad catalítica de trietilamina y Pd/C bajo presión de hidrógeno en metanol a 65 °C daba los mejores resultados. En estas condiciones, se aisló clorhidrato de N-metilciclopentilamina en forma de un sólido blanco con 49 % de rendimiento.

Se ensayaron la fuente de paladio y los equivalentes de reactivo para mejorar el rendimiento y la calidad del producto (retirada de clorhidrato de metilamina). Usando Pd/C (JM, pasta 5R39) con un ligero exceso de clorhidrato de metilamina (1,1 eq), fue posible mejorar el rendimiento hasta un 69 %.

Obsérvese que la retirada de clorhidrato de metilamina es factible al suspender el clorhidrato de N-metilciclopentilamina en diclorometano en presencia de carbonato de sodio seguido de destilación. No se detecta metilamina en el producto final.

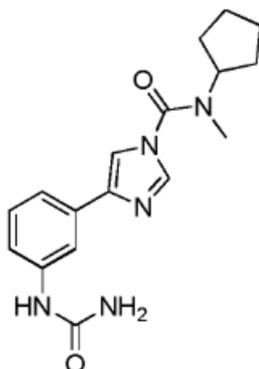
Descripción del protocolo

Se añadieron sucesivamente MeOH (105 ml), clorhidrato de metilamina (13,24 g, 196 mmol), ciclopentanona (15,77 ml, 178 mmol) y finalmente trietilamina (0,621 ml, 4,46 mmol) a una pasta de paladio al 5 % sobre carbono 5R39 (0,75 g, 0,176 mmol, 0,001 eq). Se dispuso la suspensión resultante en un autoclave y se cargó con 5 bar de hidrógeno. Se calentó el autoclave a 65 °C y se agitó durante una noche. Se enfrió lentamente la mezcla de reacción y la TLC (eluyente PE/acetato de etilo 8:2, permanganato de inmersión) no mostró material de partida. Se filtró la suspensión negra a través de Celite y se lavó con MeOH (10 ml). Se retiró el metanol y se reemplazó por isopropanol (60 ml). Se concentró la disolución a 2 vol y se añadió isopropiléter (60 ml). Se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente. Se observó un sólido blanco y se agitó entonces la suspensión a 0 °C durante 1 y entonces se filtró. Se lavó el sólido con isopropiléter/propan-2-ol 9:1 (30 ml) y se secó en una estufa a vacío durante una noche. Se obtuvo un sólido cristalino blanco de HCl de N-metilciclopentilamina (16,9 g, 69,5 % de rendimiento).

40

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la siguiente estructura:



Fórmula A

- 5 o una sal o derivado farmacéuticamente aceptable del mismo.
2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 1 junto con uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
3. La composición farmacéutica de la reivindicación 2, que comprende además uno o más ingredientes farmacéuticos activos adicionales.
- 10 4. La composición farmacéutica de la reivindicación 3, en la que el uno o más ingredientes farmacéuticos activos adicionales se seleccionan de anandamida, oleiletanolamida o palmitoiletanolamida
5. Un compuesto según la reivindicación 1 o una composición según la reivindicación 2, 3 o 4 para uso en terapia.
- 15 6. Un compuesto según la reivindicación 1 o una composición según la reivindicación 2, 3 o 4 para uso en el tratamiento o la prevención de una afección cuyo desarrollo o síntomas están ligados a un sustrato de la enzima FAAH, en el que la afección es un trastorno asociado al sistema endocannabinoide que se selecciona de regulación del apetito, obesidad, trastornos metabólicos, caquexia, anorexia, dolor, inflamación, neurotoxicidad, neurotraumatismo, apoplejía, esclerosis múltiple, lesión de médula espinal, enfermedad de Parkinson, discinesia inducida por levodopa, enfermedad de Huntington, síndrome de Gilles de la Tourette, discinesia tardía, distonía, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Alzheimer, epilepsia, esquizofrenia, ansiedad, depresión, insomnio,
- 20 náuseas, émesis, trastornos por alcohol, adicciones a fármacos tales como opiáceos, nicotina, cocaína, alcohol y psicoestimulantes, hipertensión, choque circulatorio, lesión por reperfusión de miocardio, aterosclerosis, asma, glaucoma, retinopatía, cáncer, enfermedad intestinal inflamatoria, enfermedad hepática aguda y crónica tal como hepatitis y cirrosis hepática, artritis y osteoporosis.
- 25 7. Un proceso para la síntesis de un compuesto según la reivindicación 1, en que el proceso comprende un proceso para la síntesis de una sal de ácido de N-metilciclopentilamina, comprendiendo el proceso la reacción de ciclopentilamina con un cloroformiato o carbonato de di-*tert*-butilo, para formar un carbamato de ciclopentilo, seguido de reducción del carbamato de ciclopentilo y acidificación a la sal de ácido de N-metilciclopentilamina.
- 30 8. Un proceso para la síntesis de un compuesto según la reivindicación 1, en que el proceso comprende un proceso para la síntesis de una sal de ácido de N-metilciclopentilamina, comprendiendo el proceso la aminación reductiva de ciclopentanona en presencia de una sal de ácido de metilamina.