

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 668 300**

51 Int. Cl.:

**C07C 235/46** (2006.01)  
**C07C 237/30** (2006.01)  
**C07C 311/29** (2006.01)  
**C07C 323/62** (2006.01)  
**A61K 31/18** (2006.01)  
**A61K 31/166** (2006.01)  
**A61P 29/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **05.04.2013 PCT/AU2013/000356**  
 87 Fecha y número de publicación internacional: **07.11.2013 WO13163675**  
 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.04.2013 E 13784562 (4)**  
 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.03.2018 EP 2844637**

54 Título: **Inhibidores de SSAO de 3-haloamidina sustituida y usos de los mismos**

30 Prioridad:

**02.05.2012 US 201261641814 P**

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

**17.05.2018**

73 Titular/es:

**BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL  
 GMBH (100.0%)  
 Binger Strasse 173  
 55216 Ingelheim am Rhein, DE**

72 Inventor/es:

**DEODHAR, MANDAR;  
 FINDLAY, ALISON, DOROTHY;  
 FOOT, JONATHAN, STUART;  
 JAROLIMEK, WOLFGANG;  
 MCDONALD, IAN, ALEXANDER;  
 ROBERTSON, ALAN y  
 TURNER, CRAIG, IVAN**

74 Agente/Representante:

**ISERN JARA, Jorge**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o  
 Bemerkungen) en el folleto original publicado por  
 la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 668 300 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

Inhibidores de SSAO de 3-haloamidina sustituida y usos de los mismos

## 5 Campo técnico

La presente invención se refiere a nuevos compuestos que son capaces de inhibir ciertas enzimas amina oxidasas. Estos compuestos son útiles para el tratamiento de una serie de indicaciones, por ejemplo, los síntomas de inflamación y/o fibrosis en sujetos humanos, así como en mascotas y ganado, el tratamiento de enfermedades psiquiátricas, trastornos neurodegenerativos y similares. Además, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que contienen estos compuestos, así como a varios usos de los mismos.

## Antecedentes

15 La amina oxidasa sensible a la semicarbazida (SSAO), también conocida como amina oxidasa primaria, amina oxidasa plasmática y bencilamina oxidasa, es idéntica en su estructura a la proteína-1 de adhesión vascular (VAP-1). En el siguiente análisis, se usa SSAO/VAP-1 para describir esta proteína. Se ha estudiado el papel de esta proteína en las enfermedades inflamatorias (véase, por ejemplo, Smith D.J. y Vaino P.J., Targeting Vascular Adhesion Protein-1 to Treat Autoimmune and Inflammatory Diseases. Ann. N.Y. Acad. Sci. 2007, 1110, 382-388; y McDonald I.A. et al., Semicarbazide Sensitive Amine Oxidase and Vascular Adhesion Protein-1: One Protein Being Validated as a Therapeutic Target for Inflammatory Diseases. Annual Reports in Medicinal Chemistry, 2008, 43, 229-241).

En la mayoría de organismos, incluyendo seres humanos, dos familias de amina oxidasas de mamífero metabolizan diversas mono, di y poliaminas producidas de manera endógena o absorbidas de fuentes endógenas. Estas incluyen las monoamina oxidasas (MAO-A y MAO-B), que están presentes en las mitocondrias de la mayoría de tipos celulares y usan como cofactor flavina adenina dinucleótido (FAD) unida covalentemente. La poliamina oxidasa es otra amina oxidada dependiente de FAD que desamina de manera oxidativa la espermina y la espermidina. SSAO/VAP-1 pertenece a la segunda familia, que depende de cobre y usa otros cofactores, aparte de FAD, tales como un resto de tirosina oxidado (abreviado como TPQ o LTQ). MAO y SSAO/VAP-1 desaminan de manera oxidativa algunos sustratos comunes que incluyen las monoaminas, tales como dopamina, tiramina y bencilamina. SSAO/VAP-1 también oxida la metilamina y la aminoacetona endógenas.

Algunas de estas enzimas se definieron originariamente por la capacidad de ciertos compuestos para inhibir la actividad enzimática de las mismas. Por ejemplo, MAO-A se inhibe de manera selectiva por clorgilina, MAO-B por L-deprenilo, mientras que ni la clorgilina ni el L-deprenilo pueden inhibir la actividad amina oxidasa de SSAO/VAP-1. SSAO/VAP-1 puede inhibirse por semicarbazida, por ello el nombre de amina oxidasa sensible a la semicarbazida.

SSAO/VAP-1 es una ectoenzima que contiene una cola citoplasmática muy corta, un solo dominio transmembrana y un gran dominio extracelular altamente glucosilado que contiene el centro activo para la actividad amina oxidasa. SSAO/VAP-1 también está presente en una forma soluble que circula en el plasma de algunos animales. Se ha demostrado que esta forma es un producto escindido de SSAO/VAP-1 unida a membrana.

SSAO/VAP-1 parece tener dos funciones fisiológicas: la primera es la actividad amina oxidasa mencionada anteriormente y la segunda es una actividad de adhesión celular. Ambas actividades se asocian con procesos inflamatorios. Se ha demostrado que SSAO/VAP-1 desempeña un papel importante en la extravasación de células inflamatorias de la circulación a sitios de inflamación (Salmi M. y Jalkanen S., VAP-1: an adhesion and an enzyme. Trends Immunol. 2001, 22, 211-216). Se ha demostrado que los anticuerpos contra VAP-1 atenúan los procesos inflamatorios, bloqueando el sitio de adhesión de la proteína SSAO/VAP-1 y, junto con una gran cantidad de pruebas de supresiones génicas *in vitro* e *in vivo*, ahora resulta evidente que SSAO/VAP-1 es un mediador celular importante de la inflamación. Los ratones transgénicos que carecen de SSAO/VAP-1 muestran una adhesión reducida de los leucocitos a las células endoteliales, un alojamiento reducido de los linfocitos en los nódulos linfáticos y una respuesta inflamatoria atenuada concomitante en un modelo de peritonitis. Estos animales estaban por lo demás sanos, crecieron normalmente, eran fértiles y el examen de varios órganos y tejidos mostró un fenotipo normal. Además, se ha observado que los inhibidores de la actividad amina oxidada de SSAO/VAP-1 interfieren con la rodadura, adhesión y extravasación de leucocitos y, de manera similar a los anticuerpos contra SSAO/VAP-1, muestran propiedades antiinflamatorias.

La inflamación es la primera respuesta del sistema inmunitario a la infección o la irritación. La migración de los leucocitos de la circulación a los tejidos es esencial para este proceso. Las respuestas inflamatorias inadecuadas pueden dar como resultado la inflamación local de tejidos por lo demás sanos, lo que puede ocasionar trastornos, tales como la artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria del intestino, esclerosis múltiple y enfermedades respiratorias. Los leucocitos se adhieren en primer lugar al endotelio mediante la unión a moléculas de adhesión antes de que puedan iniciar el proceso de pasar a través de las paredes de los vasos sanguíneos. SSAO/VAP-1 unida a membrana se expresa abundantemente en las células endoteliales vasculares, tales como células endoteliales de vénulas altas (HVE) de órganos linfáticos y también se expresa en células endoteliales sinusoidales hepáticas (HSEC), células musculares lisas y adipocitos. La expresión de SSAO/VAP-1 en la superficie celular de las

células endoteliales está estrechamente regulada y aumenta durante la inflamación. En presencia de un sustrato para SSAO/VAP-1 (bencilamina), se activó NPKB en las HSEC junto con la regulación positiva de otras moléculas de adhesión, E-selectina y quimiocina CXCL8 (IL-8) *in vitro*. Un estudio reciente confirma este resultado demostrando (por mutagénesis) que la transcripción y la traducción de E-selectina y P-selectina se induce por la actividad enzimática de SSAO/VAP-1. Estos resultados sugirieron un papel importante de la actividad amina oxidasa de SSAO/VAP-1 en la respuesta inflamatoria. Se ha comunicado que la actividad oxidasa de SSAO/VAP-1 induce a las E y P-selectinas endoteliales y la unión de los leucocitos (Jalkanen, S. et al., The oxidase activity of vascular adhesion protein-1 (VAP-1) induces endothelial E- and P-selectins and leukocyte binding. *Blood* 2007, 110, 1864-1870).

Las respuestas inflamatorias excesivas y crónicas se han asociado con los síntomas de muchas enfermedades crónicas, tales como la artritis reumatoide, esclerosis múltiple, asma y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). Los pacientes que padecen eccema atópico o psoriasis (ambos trastornos inflamatorios crónicos de la piel) tienen mayores niveles de células positivas a SSAO/VAP-1 en su piel en comparación con la piel de los controles sanos.

El asma puede considerarse una enfermedad que surge de la inflamación crónica de las vías respiratorias, que da como resultado broncoconstricción y una acumulación excesiva de moco. Muchos pacientes pueden tratarse de manera adecuada con broncodilatadores (por ejemplo, agonistas de  $\beta_2$ , antagonistas de leucotrienos y con esteroides inhalados). Sin embargo, hasta un 20% de los pacientes padecen asma grave y no responden bien a estos tratamientos. Un subconjunto de estos pacientes es resistente a los esteroides inhalados y presentan altos recuentos de neutrófilos en sus fluidos pulmonares. SSAO/VAP-1 se expresa en los pulmones y desempeña un papel en el tráfico de neutrófilos.

Otro subconjunto de pacientes con asma es altamente sensible a las infecciones víricas de las vías respiratorias; dichas infecciones exacerban la inflamación subyacente y pueden ocasionar ataques graves de asma.

Recientemente, se ha reconocido que los pacientes que padecen fibrosis quística padecen con frecuencia inflamación pulmonar persistente, que puede ser independiente de la infección pulmonar crónica. Se ha argüido que el daño tisular en los pacientes con fibrosis quística se debe a mediadores liberados por los neutrófilos. Aunque cabría esperar que el tratamiento convencional con antibióticos para eliminar la infección bacteriana resolviese la inflamación subyacente si la inflamación se debiese únicamente a la infección, los datos de estudios recientes demuestran que este no es el caso y que las vías respiratorias se encuentran en un estado proinflamatorio impulsado por neutrófilos cebados para una respuesta inflamatoria excesiva y prolongada a la infección bacteriana. Véase Rao S. y Grigg J., New insights into pulmonary inflammation in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 2006, 91:786-788.

SSAO/VAP-1 también se expresa a altos niveles en adipocitos, donde tiene un papel en el transporte de glucosa independiente de la presencia de insulina. Se ha observado que los niveles plasmáticos de SSAO/VAP-1 se encuentran aumentados en pacientes que padecen diabetes. Se han observado niveles plasmáticos elevados de SSAO/VAP-1 en pacientes que padecen otras enfermedades, tales como insuficiencia cardíaca congestiva y cirrosis hepática. Se ha sugerido que SSAO/VAP-1 está asociada con la mayoría, si no todas, las enfermedades inflamatorias, ya sea la inflamación en respuesta a una respuesta inmunitaria o posterior a otros acontecimientos, tales como la oclusión y reperusión de vasos sanguíneos.

En los últimos años se ha reconocido que SSAO/VAP-1 se expresa en células endoteliales sinusoidales en el hígado y que se cree que esta proteína está asociada con la enfermedad hepática, en particular, fibrosis hepática (Weston C.J. y Adams D.H., Hepatic consequences of vascular adhesion protein-1 expression, *J Neural Transm* 2011; 118:1055-1064). Además, se observó que un anticuerpo para VAP-1 y un inhibidor de molécula pequeña atenúan la fibrosis inducida por tetracloruro de carbono en ratones. Por lo tanto, los inhibidores de SSAO/VAP-1 tienen el potencial de tratar enfermedades fibróticas (documento WO 2011/029996). Recientemente, se ha comunicado que la oxidación de la metilamina por SSAO/VAP-1 en presencia de necrosis tumoral  $\alpha$  induce la expresión de MAdCAM-1 en los vasos hepáticos y que esta se asocia con las complicaciones hepáticas de la enfermedad inflamatoria del intestino (EII) (Liaskou W. et al., Regulation of Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule 1 Expression in Human and Mice by Vascular Adhesion Protein 1 Amine Oxidase Activity, *Hepatology* 2011; 53, 661-672).

Se ha comunicado que los inhibidores de SSAO/VAP-1 pueden atenuar la angiogénesis y la linfangiogénesis y que estos inhibidores tienen el potencial de tratar enfermedades oculares, tales como la degeneración macular, la angiogénesis corneal, las cataratas y afecciones inflamatorias, tales como la uveítis (documentos US 2009/0170770; WO 2009/051223; Noda K., et al., Inhibition of vascular adhesion protein-1 suppresses endotoxin-induced uveitis, *FASEB J.* 2008, 22, 1094-1103).

Se observaron niveles aumentados de SSAO/VAP-1 en el suero de pacientes que padecen carcinoma hepatocelular. En un modelo murino de melanoma, se demostró que los inhibidores de SSAO/VAP-1 de molécula pequeña retrasan el crecimiento tumoral, a diferencia de los anticuerpos contra VAP-1, que no tuvieron actividad (Weston C.J. y

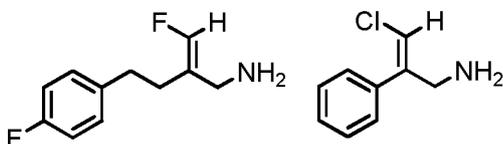
Adams D.H., Hepatic consequences of vascular adhesion protein-1 expression, *J Neural Transm* 2011, 118, 1055-1064).

5 Se ha comunicado que SSAO/VAP-1 desempeña un papel importante en la biología del cáncer (Marttila-Ichihara F. et al. Small-Molecule Inhibitors of Vascular Adhesion Protein-1 Reduce the Accumulation of Myeloid Cells into Tumors and Attenuate Tumor Growth in Mice. *The Journal of Immunology*, 2010, 184, 3164-3173). Los inhibidores de molécula pequeña de SSAO/VAP-1 redujeron el número de células mieloides Gr-1+CD11b+ proangiogénicas en melanomas y linfomas.

10 Durante el ciclo catalítico de amina oxidasa de SSAO/VAP-1, se reduce en primer lugar el factor unido covalentemente, TPQ y después se vuelve a oxidar mediante oxígeno en presencia de cobre, con la generación de peróxido de hidrógeno como subproducto. Se ha especulado con que pueden ser perjudiciales las concentraciones excesivas de peróxido de hidrógeno y que pueden contribuir a la patología de varios procesos inflamatorios y neurodegenerativos (Götz M.E., et al., Oxidative stress: Free radical production in neural degeneration. *Pharmacol Ther* 1994, 63, 37-122).

20 Se cree que la inflamación es una característica importante de las enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis múltiple y de manera similar, es una característica de la fisiopatología que se produce después de un acontecimiento de oclusión/reperfusión cerebral (Aktas, O. et al., Neuronal damage in brain inflammation. *Arch Neurol* 2007, 64, 185-9). Se ha relacionado de manera independiente la actividad excesiva de SSAO/VAP-1 en estos procesos (Xu, H-L., et al., Vascular Adhesion Protein-1 plays an important role in postischemic inflammation and neuropathology in diabetic, estrogen-treated ovariectomized female rats subjected to transient forebrain ischemia. *Journal Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 2006, 317, 19-26).

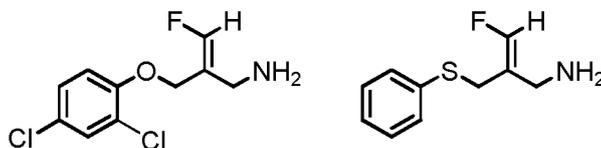
25 Algunos inhibidores conocidos de MAO también inhiben a SSAO/VAP-1 (por ejemplo, el inhibidor de MAO-B, mofegilina, ilustrado a continuación). Se ha comunicado que la mofegilina inhibe la encefalomielitis autoinmunitaria experimental (documento US 2006/0025438 A1). Este inhibidor es un miembro de la familia de inhibidores de MAO de haloalilamina; el halógeno en la mofegilina es flúor. En el documento US 4.454.158 se describen inhibidores de fluoroalilamina. Hay informes de una cloroalilamina, MDL72274 (ilustrada a continuación), que inhibe de manera selectiva SSAO/VAP-1 de rata, en comparación con MAO-A y MAO-B:



Mofegilina

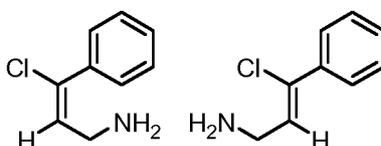
MDL72274

35 En el documento US 4.699.928 se describen inhibidores de fluoroalilamina adicionales; los dos compuestos ilustrados a continuación se describieron como inhibidores selectivos de MAO-B:



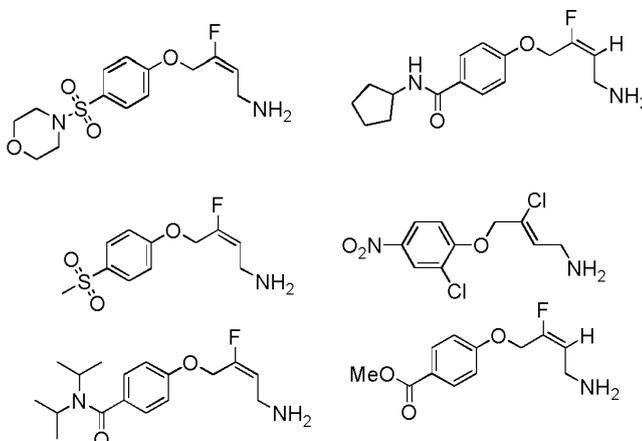
40 Pueden encontrarse otros ejemplos relacionados estructuralmente con la mofegilina en el documento WO 2007/120528.

45 Se han sintetizado compuestos de haloalilamina que difieren de la estructura principal de la mofegilina y se ha demostrado que inhiben la actividad amina oxidasa de las amina oxidasas dependientes de cobre de una serie de especies (véase Kim J., et al., Inactivation of bovine plasma amine oxidase by haloallylamines. *Bioorg Med Chem* 2006, 14, 1444-1453). Estos compuestos se han incluido en una solicitud de patente (documento WO 2007/005737):



El documento WO 2009/066152 describe una familia de 3-haloalilaminas 3-sustituidas que son inhibidores de SSAO/VAP-1 y se reivindican como tratamiento para una variedad de indicaciones, incluyendo enfermedades inflamatorias. Se describen específicamente los siguientes compuestos:

5



10

Pueden encontrarse referencias a los efectos de los inhibidores de SSAO/VAP-1 en diversos modelos animales de enfermedad en el artículo de revisión de McDonald I.A. et al., Semicarbazide Sensitive Amine Oxidase and Vascular Adhesion Protein-1: One Protein Being Validated as a Therapeutic Target for Inflammatory Diseases. Annual Reports in Medicinal Chemistry, 2008, 43, 229-241 y en las siguientes publicaciones, O'Rourke A.M. et al., Anti-inflammatory effects of LJP 1586 [Z-3-fluoro-2-(4-methoxybenzyl)allylamine hydrochloride], an amine-based inhibitor of semicarbazide-sensitive amine oxidase activity. J. Pharmacol. Exp. Ther., 2008, 324, 867-875; y O'Rourke A.M. et al., Benefit of inhibiting SSAO in relapsing experimental encephalomyelitis. J. Neural. Transm., 2007, 114, 845-849.

15

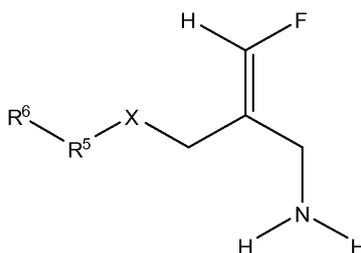
#### Sumario

20

La presente invención proporciona compuestos de haloalilamina sustituidos que inhiben a SSAO/VAP-1. Sorprendentemente, la modificación de las estructuras de 3-haloalilamina 2-sustituidas descritas anteriormente ha dado lugar al desarrollo de nuevos compuestos que son potentes inhibidores de la enzima SSAO/VAP-1 humana y que tienen propiedades farmacológicas y de seguridad muy mejoradas. Estos compuestos son muy potentes sobre SSAO/VAP-1 y sorprendentemente, se descubrió que son inhibidores muy débiles de otros miembros de la familia, tales como monoamina oxidasa A, monoamina oxidasa B, diamina oxidasa, lisil oxidasa y las amina oxidadas de tipo lisilo LOX1-4.

25

Un primer aspecto de la invención proporciona un compuesto de Fórmula II:



30

Fórmula II

o una sal, forma polimórfica o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde:

35

R<sup>5</sup> es un grupo fenileno sin sustituir o un grupo fenileno sustituido por uno o más grupos seleccionados independientemente entre alquilo, halo, alcoxi y haloalquilo;

R<sup>6</sup> se selecciona entre



R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido y cicloalquilo C<sub>3-7</sub> opcionalmente sustituido; y

X es oxígeno;

en donde el término "alquilo" se refiere a radicales hidrocarburo saturados de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 6 átomos de carbono y

en donde el término "halo" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo y

en donde el término "alcoxi" se refiere a grupos alquiloxi de cadena lineal o ramificada, en donde alquilo es como se ha definido anteriormente y

en donde la expresión "opcionalmente sustituido" significa que el grupo al que dicha expresión se refiere puede estar sin sustituir o puede estar sustituido con uno o más grupos seleccionados independientemente entre halógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, alqueno C<sub>2-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo (C<sub>1-6</sub>), cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, C(O)H, C(O)OH, NHC(O)H, NHC(O)alquilo C<sub>1-4</sub>, C(O)alquilo C<sub>1-6</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1-4</sub>, N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, OH y CN.

Un segundo aspecto de la invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo y al menos un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Un tercer aspecto de la presente divulgación proporciona un método para inhibir la actividad amina oxidasa de SSAO/VAP-1 en un sujeto que lo necesite, comprendiendo dicho método administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición de acuerdo con el segundo aspecto de la invención.

Un cuarto aspecto de la invención proporciona el compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición de acuerdo con el segundo aspecto de la invención para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad asociada con o modulada por la proteína SSAO/VAP-1, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición de acuerdo con el segundo aspecto de la invención.

Un quinto aspecto de la invención proporciona el compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición de acuerdo con el segundo aspecto de la invención para su uso en un método de tratamiento de una enfermedad asociada con o modulada por SSAO/VAP-1, comprendiendo dicho método administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición de acuerdo con el segundo aspecto de la invención.

Un sexto aspecto de la invención proporciona el uso de un compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento para tratar una enfermedad asociada con o modulada por la proteína SSAO/VAP-1.

Un séptimo aspecto de la invención proporciona un compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una enfermedad asociada con o modulada por la proteína SSAO/VAP-1.

En otro aspecto, la presente invención describe la síntesis de compuestos que inhiben la actividad amina oxidasa de SSAO/VAP-1.

Los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento de los síntomas de la inflamación y/o la fibrosis en sujetos humanos, así como en mascotas y ganado. Las enfermedades inflamatorias humanas contempladas para su tratamiento en el presente documento incluyen artritis, enfermedad de Crohn, enfermedad del intestino irritable, psoriasis, asma eosinofílica, asma grave, asma exacerbada por virus, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, fibrosis quística, bronquiectasia, aterosclerosis, inflamación causada por diabetes, destrucción de tejidos mediada por células inflamatorias después de un ictus y similares. Las enfermedades y trastornos fibróticos humanos contemplados para su tratamiento en el presente documento incluyen fibrosis pulmonar idiopática u otras enfermedades pulmonares intersticiales, fibrosis hepática, fibrosis renal, fibrosis de otros órganos y tejidos, fibrosis inducida por radiación y similares.

Los compuestos de la presente invención también son útiles para el tratamiento de la inflamación pulmonar inducida por bacterias asociada con la fibrosis quística. El tratamiento puede ser tanto profiláctico como terapéutico. Además, los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento de otras enfermedades pulmonares inducidas

por bacterias, tales como septicemia, síndrome de distrés respiratorio agudo (SDRA), lesión pulmonar aguda (LPA), lesión pulmonar inducida por transfusión (LPART) y similares.

5 Los compuestos de la presente invención también son útiles para el tratamiento de enfermedades oculares, tales como uveítis y degeneración macular.

10 Los compuestos de la presente invención también son útiles como terapia adjunta para el tratamiento del cáncer. En combinación con agentes quimioterapéuticos convencionales y novedosos, los compuestos de la presente invención pueden proporcionar un mejor control del cáncer y ayudar a reducir los cánceres secundarios metastásicos.

15 Ya que los inhibidores de molécula pequeña de SSAO/VAP-1 atenúan de manera activa los niveles de neutrófilos en el modelo de ratón de neutrofilia pulmonar por lipopolisacárido (LPS), dichas moléculas tienen el potencial de tratar el asma resistente a los esteroides en sujetos humanos. Por consiguiente, de acuerdo con un aspecto de la presente divulgación, se proporcionan métodos para tratar a pacientes con un inhibidor de SSAO/VAP-1 ya sea como agente profiláctico o terapéutico para reducir los niveles de neutrófilos y tratar los síntomas del asma grave.

20 De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se proporciona el compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición de acuerdo con el segundo aspecto de la invención para su uso en métodos para tratar a pacientes con un inhibidor de SSAO/VAP-1 ya sea como agente profiláctico o como agente terapéutico para tratar una enfermedad activa.

25 De acuerdo con otro aspecto más de la presente invención, se proporciona el compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición de acuerdo con el segundo aspecto de la invención para su uso en métodos para el uso de un inhibidor de SSAO/VAP-1 para modular la concentración de neutrófilos en las vías respiratorias y para tratar la causa subyacente de la inflamación en pacientes que padecen inflamación de las vías respiratorias.

30 De acuerdo con otro aspecto más de la presente invención, se proporciona el compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición de acuerdo con el segundo aspecto de la invención para su uso en métodos para tratar pacientes que padezcan fibrosis hepática con un inhibidor de SSAO/VAP-1.

35 De acuerdo con un aspecto adicional de la presente invención, se proporciona el compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición de acuerdo con el segundo aspecto de la invención para su uso en métodos para tratar pacientes que padezcan una enfermedad ocular con un inhibidor de SSAO/VAP-1 para tratar los síntomas de la enfermedad.

40 Ya que SSAO/VAP-1 se expresa en varios tipos de cáncer, de acuerdo con otro aspecto más de la presente invención, se contempla el compuesto de acuerdo con el primer aspecto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo o una composición de acuerdo con el segundo aspecto de la invención para su uso en una terapia adyuvante para tratar a pacientes que padecen cánceres que expresan SSAO/VAP-1.

45 En una realización de los compuestos, las sales farmacéuticamente aceptables y las composiciones de la presente invención, la enfermedad es inflamación. En otra realización, la inflamación se asocia con enfermedad hepática. En una realización adicional, la inflamación está asociada con una enfermedad respiratoria. En una realización adicional más, la inflamación está asociada con la fibrosis quística. En otra realización, la inflamación está asociada con asma o con enfermedad pulmonar obstructiva crónica. En una realización adicional, la inflamación está asociada con una enfermedad ocular.

50 En una realización de los compuestos, las sales farmacéuticamente aceptables y las composiciones de la presente invención, la enfermedad es una enfermedad inducida por diabetes seleccionada entre el grupo que consiste en nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, retinopatía diabética, enfermedad del hígado graso no alcohólico y neovascularización coroidal.

55 En otra realización de los compuestos, las sales farmacéuticamente aceptables y las composiciones de la presente invención, la enfermedad es una enfermedad neuroinflamatoria. En una realización adicional de los métodos y los usos de la presente invención, la enfermedad se selecciona entre el grupo que consiste en fibrosis hepática, cirrosis hepática, fibrosis renal, fibrosis pulmonar idiopática y fibrosis inducida por radiación. En una realización adicional más de los métodos y usos de la presente invención, la enfermedad es cáncer.

60 Definiciones

65 A continuación se indican algunas definiciones que pueden ser útiles en la comprensión de la descripción de la presente invención.

Tal como se usa en el presente documento, el término "alquilo" incluye en su significado radicales hidrocarburo saturados monovalentes ("alquilo") y divalentes ("alquileno") de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5 o 6 átomos de carbono (a menos que se defina específicamente). El grupo alquilo de cadena lineal o ramificada está unido a cualquier punto disponible para producir un compuesto estable. En muchas realizaciones, un alquilo inferior es un grupo alquilo lineal o ramificado que contiene entre 1-6, 1-4 o 1-2 átomos de carbono. Por ejemplo, el término alquilo incluye, aunque sin limitación, metilo, etilo, 1-propilo, isopropilo, 1-butilo, 2-butilo, isobutilo, *terc*-butilo, amilo, 1,2-dimetilpropilo, 1,1-dimetilpropilo, pentilo, isopentilo, hexilo, 4-metilpentilo, 1-metilpentilo, 2-metilpentilo, 3-metilpentilo, 2,2-dimetilbutilo, 3,3-dimetilbutilo, 1,2-dimetilbutilo, 1,3-dimetilbutilo, 1,2,2-trimetilpropilo, 1,1,2-trimetilpropilo y similares.

El término "alcoxi", tal como se usa en el presente documento, se refiere a grupos alquilo (es decir, O-alquilo) de cadena lineal o ramificada, en donde alquilo es como se ha definido anteriormente. Los ejemplos de grupos alcoxi incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi e isopropoxi.

El término "cicloalquilo", tal como se usa en el presente documento, incluye en su significado análogos monocíclicos, bicíclicos o policíclicos, saturados, monovalentes ("cicloalquilo") y divalentes ("cicloalquileno"). En el contexto de la presente divulgación, el grupo cicloalquilo puede tener de 3 a 10 o de 3 a 7 átomos de carbono. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo.

El término "arilo" o variantes tales como "arileno", tal como se usan en el presente documento, se refiere a análogos, monovalentes ("arilo") y divalentes ("arileno") de hidrocarburos aromáticos que tienen de 6 a 10 átomos de carbono. Un análogo condensado de arilo significa un grupo arilo condensado a un cicloalquilo monocíclico o un grupo heterociclilo monocíclico en el que el punto de unión está en la parte aromática. Los ejemplos de arilo y análogos condensados de los mismos incluyen fenilo, naftilo, indanilo, indenilo, tetrahidronaftilo, 2,3-dihidrobenzofuranilo, dihidrobenzopirano, 1,4-benzodioxano y similares. Los ejemplos de un arileno incluyen fenileno y naftileno. Un "arilo sustituido" es un arilo que está independientemente sustituido con uno o más, preferentemente 1, 2 o 3 sustituyentes, unidos a cualquier átomo disponible para producir un compuesto estable. Un "arileno sustituido" es un arileno que está independientemente sustituido, con uno o más, preferentemente 1, 2 o 3 sustituyentes, unidos a cualquier átomo disponible para producir un compuesto estable.

El término "alquilarilo", como se usa en el presente documento, incluye en su significado radicales hidrocarburo aromáticos sencillos, polinucleares, conjugados y fusionados monovalentes ("arilo") y divalentes ("arileno"), unidos a radicales alquileno divalentes, saturados, de cadena lineal o ramificada. Los ejemplos de grupos alquilarilo incluyen, pero sin limitación, bencilo.

El término "heteroarilo" se refiere a una estructura de anillo aromático monocíclico que contiene 5 o 6 átomos en el anillo, en donde el heteroarilo contiene uno o más heteroátomos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en O, S, y N. Un átomo de carbono o nitrógeno es el punto de unión de la estructura de anillo de heteroarilo tal que produce un compuesto estable. Los ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, pero sin limitación, piridinilo, piridazinilo, pirazinilo, quinoxalilo, indolizínilo, benzo[b]tienilo, quinazolinilo, purinilo, indolilo, quinolinilo, pirimidinilo, pirrolilo, oxazolilo, tiazolilo, tienilo, isoxazolilo, oxatiazolilo, isotiazolilo, tetrazolilo, imidazolilo, triazinilo, furanilo, benzofurilo e indolilo. "Heteroarilo que contiene nitrógeno" se refiere a heteroarilo donde cualquiera de los heteroátomos es N. Un "heteroarilo sustituido" es un heteroarilo que está independientemente sustituido con uno o más, preferentemente 1, 2 o 3 sustituyentes, unidos a cualquier átomo disponible para producir un compuesto estable.

"Heteroarileno" se refiere a una estructura de anillo aromático monocíclico divalente, que contiene 5 o 6 átomos en el anillo, donde el heteroarileno contiene uno o más heteroátomos seleccionados independientemente entre el grupo que consiste en O, S y N. Un átomo de carbono o nitrógeno es el punto de unión de la estructura de anillo de heteroarileno a los sustituyentes sobre el mismo, de tal forma que produce un compuesto estable. Los ejemplos de grupos heteroarileno incluyen, pero sin limitación, piridinileno, piridazinileno, pirazinileno, quinoxalileno, indolizínileno, benzo[b]tienileno, quinazolinileno, purinileno, indolileno, quinolinileno, pirimidinileno, pirrolileno, oxazolileno, tiazolileno, tienileno, isoxazolileno, oxatiazolileno, isotiazolileno, tetrazolileno, imidazolileno, triazinileno, furanileno, benzofurileno e indolileno. "Heteroarileno que contiene nitrógeno" se refiere a heteroarileno en el que cualquiera de los heteroátomos es N. Un "heteroarileno sustituido" es un heteroarileno que está independientemente sustituido con uno o más, preferentemente 1, 2 o 3 sustituyentes, unidos a cualquier átomo disponible para producir un compuesto estable.

El término "heterociclilo" y variantes tales como "heterocicloalquilo", como se usan en el presente documento, incluye en su significado radicales hidrocarburo saturados monocíclicos, policíclicos o condensados, monovalentes ("heterociclilo") y divalentes ("heterocicileno"), que tienen de 3 a 10 átomos en el anillo, en donde de 1 a 5 o de 1 a 3 átomos en el anillo son heteroátomos seleccionados independientemente entre O, N, NH o S, en donde el punto de unión puede ser carbono o nitrógeno. Un análogo condensado de heterociclilo significa un heterociclo monocíclico condensado a un grupo arilo o heteroarilo en el que el punto de unión está en la parte no aromática. El grupo heterociclilo puede ser heterociclilo C<sub>3-8</sub>. El grupo heterocicloalquilo puede ser heterociclilo C<sub>3-6</sub>. El grupo heterociclilo puede ser heterociclilo C<sub>3-5</sub>. Los ejemplos de grupos heterociclilo y análogos condensados de los mismos incluyen

aziridinilo, pirrolidinilo, tiazolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, imidazolidinilo, 2,3-dihidrofuro(2,3-b)piridilo, benzoxazinilo, tetrahydroquinolinilo, tetrahydroisoquinolinilo, dihidroindolilo, quinuclidinilo, azetidino, morfolinilo, tetrahidrotiofenilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiranilo y similares. El término también incluye anillos monocíclicos parcialmente insaturados que no son aromáticos, tales como 2- o 4-piridonas unidas a través del nitrógeno o uracilos N-sustituídos.

El término "halógeno" o variantes tales como "haluro" o "halo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo.

El término "heteroátomo" o variantes tales como "hetero-" o "heterogrupo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a O, N, NH y S.

En general, "sustituído" se refiere a un grupo orgánico tal como se define en el presente documento (por ejemplo, un grupo alquilo) en el que uno o más enlaces a un átomo de hidrógeno contenidos en el mismo se sustituyen por un enlace a átomos que no son de hidrógeno o de carbono. Los grupos sustituidos también incluyen grupos en los que uno o más enlaces a un átomo o átomos de carbono o hidrógeno se sustituyen por uno o más enlaces, incluyendo dobles o triples enlaces, a un heteroátomo. Por lo tanto, un grupo sustituido puede sustituirse con uno o más sustituyentes, a menos que se especifique lo contrario. En algunas realizaciones, un grupo sustituido está sustituido con 1, 2, 3, 4, 5 o 6 sustituyentes.

La expresión "opcionalmente sustituido" como se usa en el presente documento, significa que el grupo al cual se refiere este término puede estar sin sustituir o puede estar sustituido con uno o más grupos seleccionados independientemente entre alquilo, alqueno, alquino, cicloalquilo, cicloalqueno, heterocicloalquilo, halo, haloalquilo, haloalqueno, hidroxilo, hidroxialquilo, alcoxi, tioalcoxi, alquenoilo, haloalcoxi, haloalquenoilo, NO<sub>2</sub>, NH(alquilo), N(alquilo)<sub>2</sub>, nitroalquilo, nitroalqueno, nitroalquino, nitroheterociclo, alquilamino, dialquilamino, alquenoilamina, alquilamino, acilo, alquenoilo, alquinoilo, acilamino, diacilamino, aciloxi, alquilsulfonilo, heterocicloxi, heterocicloamino, haloheterocicloalquilo, alquilsulfeno, alquilcarbonilo, alquiltio, aciltio, grupos que contienen fósforo tales como fosfona y fosfina, arilo, heteroarilo, alquilarilo, aralquilo, alquilheteroarilo, ciano, cianato, isocianato, CO<sub>2</sub>H, alquilo CO<sub>2</sub>, C(O)NH<sub>2</sub>, -C(O)NH(alquilo) y -C(O)N(alquilo)<sub>2</sub>. Los sustituyentes preferidos incluyen halógeno, alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alqueno C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>, haloalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, alcoxi C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>, hidroxialquilo (C<sub>1-6</sub>), cicloalquilo C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>, C(O)H, C(O)OH, NHC(O)H, NHC(O)alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, C(O)alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>, N(alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub>)<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, OH y CN. Los sustituyentes particularmente preferidos incluyen alquilo C<sub>1-3</sub>, alcoxi C<sub>1-3</sub>, halógeno, OH, hidroxialquilo (C<sub>1-3</sub>) (por ejemplo, CH<sub>2</sub>OH), C(O)alquilo C<sub>1</sub>-C<sub>4</sub> (por ejemplo C(O)CH<sub>3</sub>) y haloalquilo C<sub>1-3</sub> (por ejemplo, CF<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>CF<sub>3</sub>).

Los compuestos de la presente invención también pueden existir en una o más formas tautoméricas, incluyendo tanto tautómeros sencillos como mezclas de tautómeros. También están incluidos dentro del alcance de la presente invención todas las formas polimórficas y cristalinas de los compuestos desvelados en el presente documento.

La presente invención incluye dentro de su alcance isótopos de distintos átomos. Cualquier átomo no designado específicamente como un isótopo particular está destinado a representar cualquier isótopo estable de ese átomo. Por lo tanto, debe entenderse que la presente divulgación incluye los isótopos deuterio y tritio del hidrógeno.

En el contexto de la presente memoria descriptiva, el término "administración" y las variaciones de este término, incluyendo "administrar" y "administra", incluye poner en contacto, aplicar, suministrar o proporcionar un compuesto o una composición de la invención a un organismo o a una superficie por cualquier medio adecuado. En el contexto de la presente memoria descriptiva, el término "tratamiento", se refiere a cualquiera y a todos los usos que curan una patología o sus síntomas, previenen el establecimiento de una enfermedad o de otro modo previenen, dificultan, retrasan o revierten la progresión de la enfermedad u otros síntomas en absoluto deseados de cualquier modo.

En el contexto de la presente memoria descriptiva, la expresión "cantidad eficaz" incluye dentro de su significado una cantidad suficiente pero no tóxica de un compuesto o composición de la invención para proporcionar un efecto deseado. Por lo tanto, la expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" incluye dentro de su significado una cantidad suficiente pero no tóxica de un compuesto o composición de la invención para proporcionar el efecto terapéutico deseado. La cantidad exacta necesaria variará de un sujeto a otro dependiendo de factores tales como la especie que se esté tratando, el sexo, la edad y el estado general del sujeto, la gravedad de la afección que se está tratando, el agente particular que se esté administrando, el modo de administración y similares. Por lo tanto, no es posible especificar una "cantidad eficaz" exacta. Sin embargo, en cualquier caso, puede determinarse una "cantidad eficaz" adecuada por un experto habitual en la materia usando únicamente experimentación rutinaria.

Breve descripción de las figuras

Las figuras 1A - 1E muestran la capacidad del compuesto 23 para inhibir la enzima SSAO/VAP-1 en diversos tejidos en ratas después de una sola dosis oral, determinándose dicha actividad 24 horas después de la administración.

Las figuras 2A - 2E muestran la capacidad de 2 mg/kg del compuesto 23 para inhibir la enzima SSAO/VAP-1 en diversos tejidos en ratas después de una sola dosis oral, determinándose dicha actividad en varios instantes después de la administración.

5 Las figuras 3A - 3E muestran la capacidad del compuesto 23 para inhibir la enzima SSAO/VAP-1 en diversos tejidos en ratas después de 5 días de dosificación oral repetida, determinándose dicha actividad 24 horas después de la administración de la dosis final.

10 Las figuras 4A - 4D muestran la capacidad del compuesto 23 para reducir la migración de leucocitos en un bolsillo de aire inflamado en un modelo de ratón.

Las figuras 5A y 5B muestran la capacidad del compuesto 23 para reducir la migración de leucocitos en la microcirculación cremastérica de ratón.

15 Las figuras 6A y 6B muestran la capacidad del compuesto 23 para reducir la migración de leucocitos al pulmón (6A) y proteger contra la mortalidad (6B) en un modelo de ratón de inflamación sistémica.

20 Las figuras 7A - 7F muestran la capacidad del compuesto 9 (ejemplo de referencia) para reducir la migración de neutrófilos y la activación de la microglía en un modelo de ratón de neurodegeneración.

Las figuras 8A - 8C muestran la capacidad del compuesto 9 (ejemplo de referencia) para reducir la migración y activación de neutrófilos en un modelo de ratón de inflamación pulmonar aguda.

25 Las figuras 9A y 9B muestran la capacidad del compuesto 23 para reducir la migración de neutrófilos al pulmón (9A) y la hiper reactividad de las vías respiratorias (9B) en un modelo de ratón de asma alérgica.

30 Las figuras 10A y 10B muestran la capacidad del compuesto 9 (ejemplo de referencia) para reducir la migración de al pulmón (10A) y proteger contra la mortalidad (10B) en un modelo de ratón de infección pulmonar bacteriana.

La figura 11 muestra la capacidad del compuesto 23 para reducir la cantidad de colágeno soluble en un modelo de ratón de EPOC.

35 Las figuras 12A - 12E muestran la capacidad del compuesto 23 para mejorar la función hepática (12 A y 12B), reducir la fibrosis (12c y 12 E) y reducir la inflamación en un modelo de rata de fibrosis hepática.

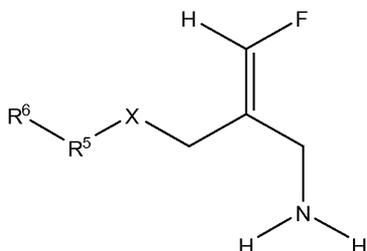
Las figuras 13A - 13D muestran la capacidad del compuesto 23 para reducir la inflamación y la fibrosis en un modelo de ratón de enfermedad de hígado graso.

40 Las figuras 14A y 14B muestran la capacidad del compuesto 23 para reducir la migración de eosinófilo al ojo (14B) y reducir la puntuación clínica (14A) en un modelo de ratón de uveítis.

Descripción detallada

45 La presente invención se refiere a compuestos de haloalilamina sustituidos que pueden inhibir a SSAO/VAP-1.

De acuerdo con la presente invención, se proporcionan compuestos que tienen la estructura (fórmula II):



50 Fórmula II

o una sal, forma polimórfica o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos; en donde:

55 R<sup>5</sup> es un grupo fenileno sin sustituir o un grupo fenileno sustituido por uno o más grupos seleccionados independientemente entre alquilo, halo, alcoxi y haloalquilo;

R<sup>6</sup> se selecciona entre



5 R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido y cicloalquilo C<sub>3-7</sub> opcionalmente sustituido; y

X es oxígeno;

10 en donde el término "alquilo" se refiere a radicales hidrocarburo saturados de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 6 átomos de carbono y

en donde el término "halo" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo y

15 en donde el término "alcoxi" se refiere a grupos alquiloxi de cadena lineal o ramificada, en donde alquilo es como se ha definido anteriormente y

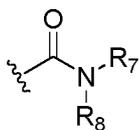
20 en donde la expresión "opcionalmente sustituido" significa que el grupo al que dicha expresión se refiere puede estar sin sustituir o puede estar sustituido con uno o más grupos seleccionados independientemente entre halógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, alqueno C<sub>2-6</sub>, haloalquilo C<sub>1-6</sub>, alcoxi C<sub>1-6</sub>, hidroxialquilo (C<sub>1-6</sub>), cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, C(O)H, C(O)OH, NHC(O)H, NHC(O)alquilo C<sub>1-4</sub>, C(O)alquilo C<sub>1-4</sub>, NH<sub>2</sub>, NHalquilo C<sub>1-4</sub>, N(alquilo C<sub>1-4</sub>)<sub>2</sub>, NO<sub>2</sub>, OH y CN.

25 En una realización de los compuestos de la presente invención, R<sup>5</sup> es un grupo fenileno sin sustituir. En otra realización de los compuestos de la presente invención, R<sup>5</sup> es un grupo fenileno opcionalmente sustituido por uno o más grupos seleccionados independientemente entre alquilo, halo, alcoxi y haloalquilo. En otra realización de los compuestos de la presente invención, R<sup>5</sup> es un grupo fenileno opcionalmente sustituido por uno o más grupos seleccionados independientemente entre metilo, flúor, cloro, bromo, OCH<sub>3</sub> y CF<sub>3</sub>.

30 En una realización de los compuestos de la presente invención, R<sup>6</sup> se selecciona entre:

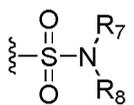


En otra realización de los compuestos de la presente invención, R<sup>6</sup> es



35

En una realización más de los compuestos de la presente invención, R<sup>6</sup> es



40

En una realización de los compuestos de la presente invención, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido y cicloalquilo C<sub>3-7</sub> opcionalmente sustituido.

45 En otra realización de los compuestos de la presente invención, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno y alquilo C<sub>1-6</sub> opcionalmente sustituido. En una realización más de los compuestos de la presente invención, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son los dos hidrógenos. En otra realización de los compuestos de la presente invención, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> son los dos alquilo C<sub>1-6</sub>. En una realización más de los compuestos de la presente invención, R<sup>7</sup> es hidrógeno y R<sup>8</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>. En una realización adicional más, R<sup>7</sup> y R<sup>8</sup> se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, *tert*-butilo, metilo, etilo, isopropilo y 2-butilo.

50

Debe entenderse que los compuestos descritos por la fórmula II pueden administrarse en forma de profármaco donde el sustituyente R<sup>1</sup> puede seleccionarse entre grupos funcionales tales como -C(O)alquilo, -C(O)arilo, -C(O)-arilalquilo, C(O)heteroarilo, -C(O)-heteroarilalquilo o similares.

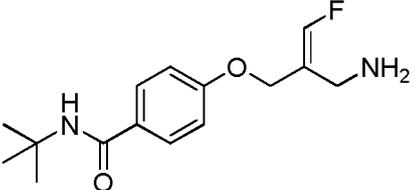
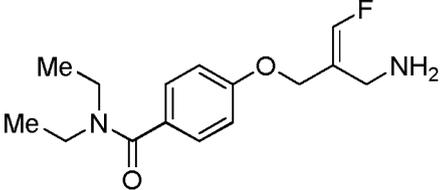
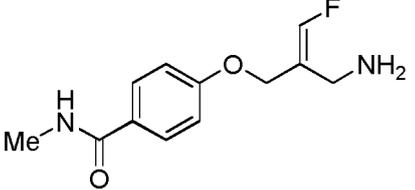
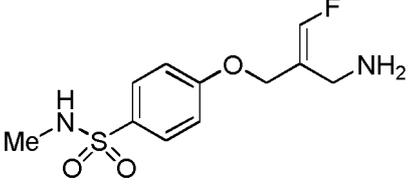
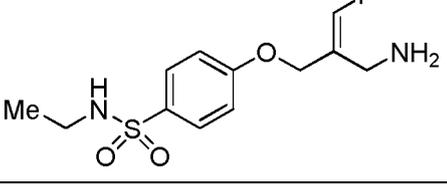
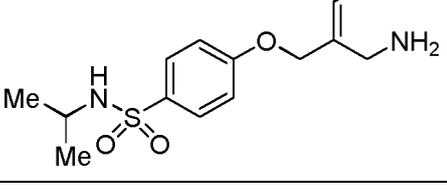
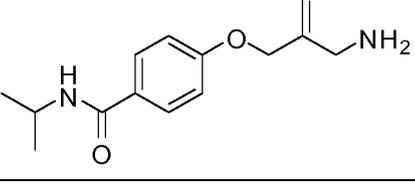
- 5 Los compuestos descritos por la fórmula II pueden existir en forma de sales de adición de ácidos cuando está presente un grupo amino básico o como sales de metal cuando está presente un grupo ácido.

Los compuestos ejemplares de acuerdo con la presente invención incluyen los compuestos expuestos en la Tabla 1:

10

Tabla 1

3		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)benzamida
11		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)bencenosulfonamida
13		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N,N-dimetilbenzamida
14		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N,N-dimetilbencenosulfonamida
17		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-terc-butilbencenosulfonamida
19		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-terc-butil-3-fluorobenzamida
21		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-terc-butil-2-(trifluorometil)benzamida

23		( <i>E</i> )-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)- <i>N</i> -terc-butilbenzamida
24		( <i>E</i> )-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)- <i>N,N</i> -dietilbenzamida
25		( <i>E</i> )-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)- <i>N</i> -metilbenzamida
28		( <i>E</i> )-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)- <i>N</i> -metilbencenosulfonamida
30		( <i>E</i> )-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)- <i>N</i> -etilbencenosulfonamida
32		( <i>E</i> )-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)- <i>N</i> -isopropilbencenosulfonamida
39		( <i>E</i> )-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)- <i>N</i> -isopropilbenzamida

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

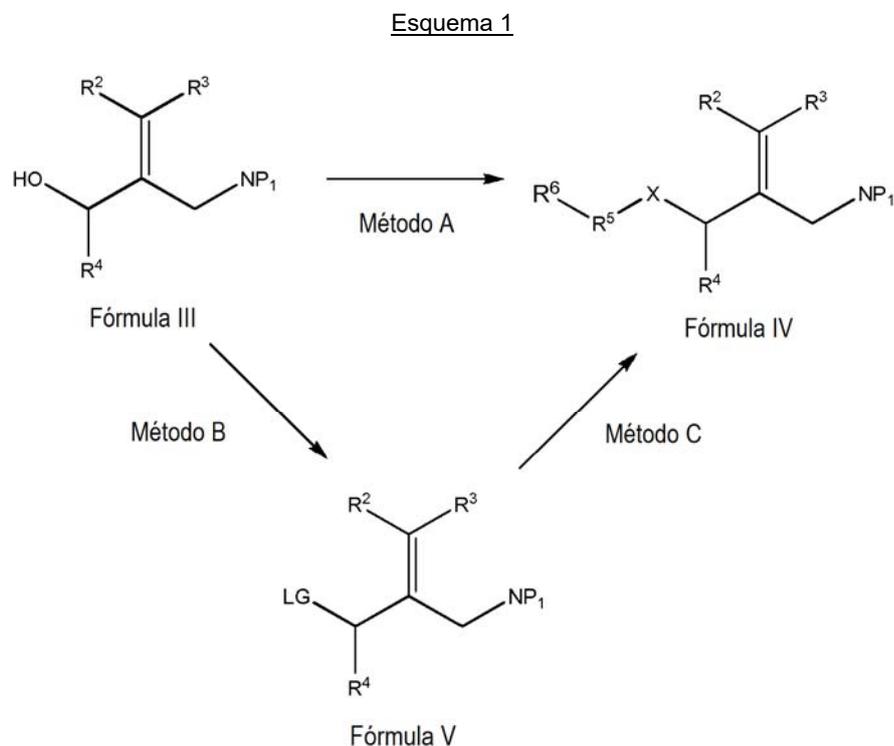
Preparación de los compuestos de fórmula I

5

Pueden prepararse los compuestos de la invención de distintas formas, tales como, por ejemplo, los procedimientos descritos en los documentos US 4.454.158; US 4.699.928; y U.S 4.650.907.

Una ruta alternativa para preparar los compuestos descritos por la fórmula II, en donde X = O emplea el protocolo sintético descrito en el esquema 1, a continuación. Esta es parecida a los procedimientos descritos en el documento WO 2007/120528.

5



10 en donde R<sup>2</sup> es hidrógeno, R<sup>3</sup> es flúor, R<sup>4</sup> es hidrógeno, X es oxígeno y R<sup>5</sup> es como se define en el presente documento; P<sub>1</sub> es un grupo funcional usado para proteger una funcionalidad nitrógeno; y LG es un grupo saliente. Los ejemplos de P<sub>1</sub> son carbonatos tales como el *tert*-butiloxicarbonilo (BOC), el 9-fluorenilmetiloxi-carbonilo (Fmoc) los grupos benciloxicarbonilo (CBZ); los ejemplos de LG son bromo, cloro, yodo, triflatos, tosilatos, mesilatos y grupos éster.

15 Un compuesto representado por la fórmula III se usa directamente en una reacción de desplazamiento (método A), tal como una reacción de Mitsunobu, para producir el compuesto representado por la fórmula IV o se convierte primero en un compuesto representado por la fórmula V que contiene un grupo saliente (LG), tal como bromuro, cloruro o yoduro, por procedimientos bien conocidos en la técnica (método B). Como alternativa, ese alcohol puede activarse directamente con el grupo protector/activador de tosilo (P<sub>2</sub> = tosilo en el esquema 2, fórmula VIII; véase a continuación). El compuesto activado descrito en la fórmula V se trata después con un reactivo nucleófilo para formar el compuesto representado por la fórmula IV (método C).

25 Las condiciones de reacción de Mitsunobu están bien descritas en la bibliografía científica y de patentes (disponible en la web en [en.wikipedia.org/wiki/Mitsunobu\\_reaction](http://en.wikipedia.org/wiki/Mitsunobu_reaction) y en Mitsunobu, O. The use of diethyl azodicarboxylate and triphenylphosphine in synthesis and transformation of natural products. Synthesis 1981, 1-28) y se desarrollan poniendo en contacto un alcohol con un grupo fenólico o tiofenólico sustituido de forma apropiada o una ftalimida sustituida en presencia de un azodicarboxilato de dialquilo y trifenilfosfina en un disolvente orgánico tal como tetrahidrofurano (THF) o CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>).

30 La conversión del grupo alcohol en la fórmula III al correspondiente bromuro, cloruro o yoduro se lleva a cabo por numerosos procedimientos usados habitualmente (véase, por ejemplo, March J. Advanced Organic Synthesis, John Wiley & Sons, tercera edición 1985), incluyendo tratamiento con PBr<sub>3</sub> en tolueno o CBr<sub>4</sub> y trifenilfosfina en un disolvente orgánico tal como CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. Puede tratarse el haluro resultante con nucleófilos tales como alcoholes sustituidos, fenoles, aminas o tioles para proporcionar el compuesto representado por la fórmula IV.

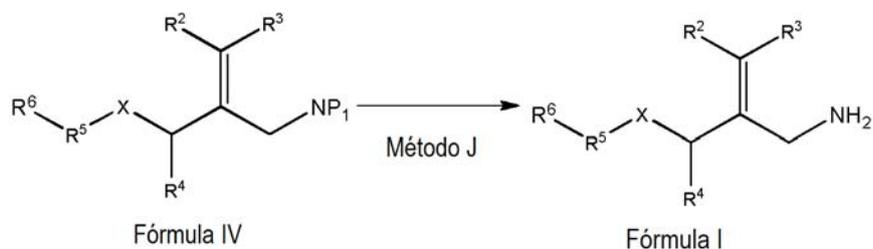
35 Existen muchos procedimientos químicos bien establecidos para la desprotección de los compuestos descritos por la fórmula IV para los compuestos de la invención descritos por la fórmula II (método J; véase el esquema 2). Por ejemplo, si P<sub>1</sub> es un grupo protector BOC, pueden tratarse los compuestos descritos por la fórmula IV con una sustancia ácida tal como cloruro de hidrógeno en un disolvente tal como éter dietílico para formar los compuestos descritos por la fórmula II en forma de sal de clorhidrato. En general, los compuestos amino libres se convierten en

40

sales de adición de ácidos para facilitar la manipulación y para mejorar la estabilidad química. Los ejemplos de sales de adición de ácidos incluyen, pero sin limitación, sales de clorhidrato, bromhidrato y metanosulfonato.

5

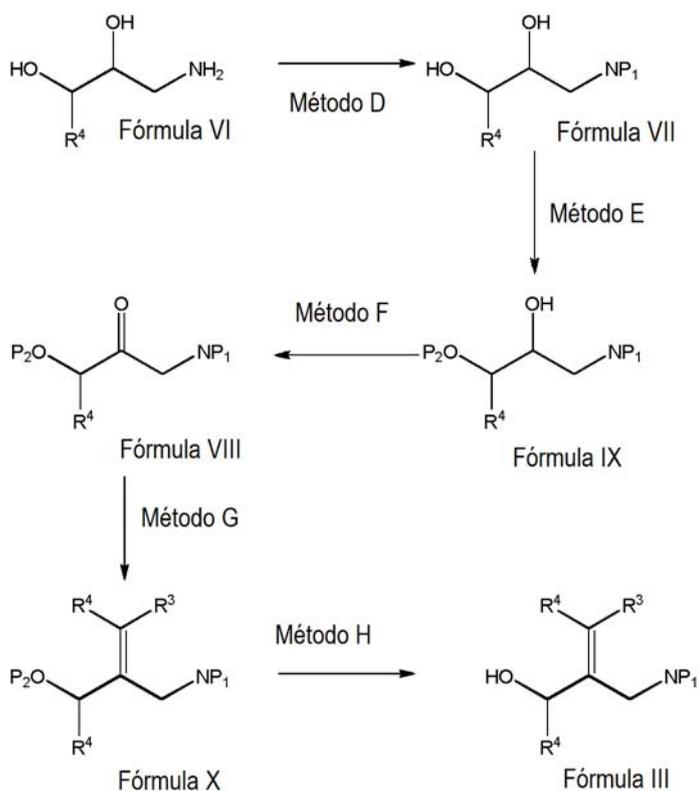
Esquema 2



10

La preparación de los compuestos descritos por la fórmula III es sencilla a partir del aminodiol disponible comercialmente o fácilmente disponible ilustrado en la fórmula VI (véase el esquema 3).

Esquema 3



15

La primera etapa es la protección selectiva de la amina primaria, preferentemente en forma de carbamato de *tert*-butilo (BOC) ( $P_1 = \text{BOC}$  en la fórmula VII), seguido de protección selectiva del alcohol primario para proporcionar el alcohol descrito por la fórmula IX. Los métodos de protección selectiva (método E) se conocen bien en la técnica de la química sintética. Por ejemplo, el alcohol primario puede hacerse reaccionar de forma selectiva con *tert*-butil-(cloro)dimetilsilano en presencia de imizadol para formar el alcohol de *tert*-butildimetilsililo protegido (fórmula VII). La oxidación del alcohol secundario se logra mejor en condiciones de oxidación de Swern (método F) dando como resultado la cetona representada por la fórmula VIII. El grupo funcional haloalqueno en la fórmula X se introduce mediante la reacción Wittig o Horner-Wadsworth-Emmons. Cuando  $R^2$  y  $R^3$  son F y H en la estructura descrita por la fórmula I, la reacción de la cetona descrita por la fórmula VIII con tetrafluoroborato de fluorometil(trifenil)fosfonio en presencia de una base fuerte tal como bis(trimetilsilil) amida de sodio proporciona el fluoroalqueno en forma de una mezcla de isómeros *E* y *Z* (descritos por la fórmula X). Estos isómeros pueden separarse por procedimientos cromatográficos para proporcionar los isómeros individuales *E* y *Z*. Puede conseguirse fácilmente la eliminación del grupo protector en los compuestos descritos por la fórmula X (método H). La elección del reactivo de desprotección

20

25

se determina por la naturaleza de los grupos protectores  $P_1$  y  $P_2$ . Cuando  $P_2$  es *tert*-butildimetilsililo y  $P_1$  es el grupo BOC, se consigue la eliminación selectiva de  $P_2$  con TBAF para producir el alcohol descrito por la fórmula III.

#### Usos terapéuticos y formulaciones

La presente divulgación proporciona métodos para el uso de los compuestos descritos por las fórmulas II para inhibir a SSAO/VAP-1 unida a membrana y SSAO/VAP-1 soluble. Pueden determinarse las potencias inhibitoras relativas de los compuestos según la cantidad necesaria para inhibir la actividad amina oxidasa de SSAO/VAP-1 de varias maneras diferentes, por ejemplo, en un ensayo *in vitro* con proteína humana recombinante o con enzima no humana recombinante, en ensayos celulares que expresan la enzima de roedor normal, en ensayos celulares que se han transfectado con proteína humana, en pruebas *in vivo* en roedores y otras especies de mamífero y similares.

La presente invención también divulga los compuestos descritos por las fórmulas II para su uso en métodos para inhibir a SSAO/VAP-1 en pacientes que padecen una enfermedad inflamatoria y métodos para tratar enfermedades inflamatorias. Las enfermedades inflamatorias humanas incluyen artritis, enfermedad de Crohn, enfermedad del intestino irritable, psoriasis, asma, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, bronquiectasia, artroesclerosis, inflamación causada por diabetes y destrucción por células inflamatorias después de un ictus.

Por lo tanto, en un aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula II para su uso en métodos para inhibir una enzima amina oxidasa en un sujeto que lo necesite, comprendiendo dichos métodos administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula II para efectuar una respuesta terapéutica positiva.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula II para su uso en métodos para tratar una enfermedad asociada con una enzima amina oxidasa, comprendiendo dichos métodos administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula II.

En otro aspecto más, la presente invención se refiere a un compuesto de fórmula II para su uso en métodos para tratar una enfermedad modulada por SSAO/VAP-1, comprendiendo dichos métodos administrar a un sujeto que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula II.

Los métodos anteriormente descritos son aplicables en los casos donde la enfermedad es inflamación. Tal como se emplea en el presente documento, "inflamación" abarca una gran variedad de indicaciones, incluyendo artritis (incluyendo artritis reumatoide juvenil), enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedades inflamatorias del intestino (por ejemplo, enfermedad del intestino irritable), psoriasis, asma, inflamación pulmonar, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), bronquiectasia, inflamación de la piel, enfermedad ocular, dermatitis de contacto, inflamación del hígado, enfermedades autoinmunitarias del hígado, hepatitis autoinmunitaria, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante, colangitis autoinmunitaria, enfermedad del hígado alcohólico, aterosclerosis, insuficiencia cardíaca crónica, insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedades isquémicas, ictus y complicaciones del mismo, infarto de miocardio y complicaciones del mismo, destrucción por células inflamatorias después de un ictus, sinovitis, septicemia inflamatoria sistémica y similares.

Los métodos anteriormente descritos también son aplicables a los casos donde la enfermedad es diabetes de tipo I y las complicaciones de la misma, diabetes de tipo II y las complicaciones de la misma y similares.

Los métodos anteriormente descritos también son aplicables a los casos donde la enfermedad es degeneración macular u otras enfermedades oculares.

Los métodos anteriormente descritos también son aplicables a los casos donde la enfermedad es fibrosis. Tal como se emplea en el presente documento, "fibrosis" incluye enfermedades tales como fibrosis quística, fibrosis pulmonar idiopática, fibrosis hepática, incluyendo enfermedades del hígado graso no alcohólico, tales como esteatohepatitis no alcohólica (NASH) y fibrosis inducida por alcohol que provoca cirrosis del hígado, fibrosis renal, esclerodermia, fibrosis inducida por radiación y otras enfermedades donde una fibrosis excesiva da lugar a una patología.

Los métodos anteriormente descritos también son aplicables a los casos donde la enfermedad es una enfermedad neuroinflamatoria. Tal como se emplea en el presente documento, las "enfermedades neuroinflamatorias" abarcan una variedad de indicaciones, incluyendo ictus, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Alzheimer, demencia vascular, esclerosis múltiple, esclerosis múltiple crónica y similares.

Los métodos anteriormente descritos también son aplicables a los casos donde la enfermedad es cáncer. En una realización, el cáncer se selecciona entre el grupo que consiste en cáncer de pulmón; cáncer de mama; cáncer colorrectal; cáncer anal; cáncer de páncreas; cáncer de próstata; carcinoma de ovarios; carcinoma del hígado y los conductos biliares; carcinoma esofágico; linfoma no de Hodgkin; carcinoma de vejiga; carcinoma del útero; glioma, glioblastoma, meduloblastoma y otros tumores del cerebro; cáncer de riñón; cáncer de cabeza y cuello; cáncer de estómago; mieloma múltiple; cáncer testicular; tumor de las células germinales; tumor neuroendocrino; cáncer de cuello de útero; carcinoides del tracto gastrointestinal, mama y otros órganos; carcinoma de células de anillo de sello; tumores mesenquimales, incluyendo sarcomas, fibrosarcomas, hemangioma, angiomatosis, hemangiopericitoma, hiperplasia estromal pseudoangiomatosa, miofibroblastoma, fibromatosis, tumor miofibroblástico

inflamatorio, lipoma, angioliopoma, tumor de células granulares, neurofibroma, schwannoma, angiosarcoma, liposarcoma, rhabdomyosarcoma, osteosarcoma, leiomioma y leiomyosarcoma.

#### Formulaciones farmacéuticas y/o terapéuticas

En otra realización de la presente invención, se proporcionan composiciones que comprenden un compuesto que tiene la fórmula II y al menos un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable para la misma. Los compuestos de fórmula II también pueden estar presentes en forma de sales adecuadas, incluyendo sales farmacéuticamente aceptables.

La expresión "portador farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier portador conocido por los expertos en la materia como adecuado para el modo de administración particular. Además, los compuestos pueden formularse como el único principio farmacéuticamente activo en la composición o puede combinarse con otros principios activos.

La expresión "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a cualquier preparación de sal que sea aceptable para su uso en una aplicación farmacéutica. Por sal farmacéuticamente aceptable se entiende aquellas sales que, dentro del alcance del buen criterio médico, son adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de los seres humanos y animales inferiores sin una toxicidad indebida, irritación, respuesta alérgica y similares y son proporcionadas con una relación beneficio/riesgo razonable. Se conocen bien en la técnica sales farmacéuticamente aceptables e incluyen sales de adición de ácido y de base. También pueden formarse semisales de ácidos y bases. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de amina de ácidos minerales (por ejemplo, clorhidratos, bromhidratos, sulfatos y similares); y sales de amina de ácidos orgánicos (por ejemplo, formiatos, acetatos, lactatos, malatos, tartratos, citratos, ascorbato, succinatos, maleatos, butiratos, valeratos, fumaratos y similares).

Para los compuestos de fórmula (II) que tienen un sitio básico, las sales farmacéuticamente aceptables pueden ser sales de adición de ácido. Por ejemplo, las sales farmacéuticamente aceptables de dichos compuestos pueden prepararse mezclando un ácido farmacéuticamente aceptable, tal como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido benzoico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido oxálico, ácido carbónico, ácido tartárico o ácido cítrico con los compuestos de la invención.

S. M. Berge *et al.* describen sales farmacéuticamente aceptables en detalle en J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66:1-19. Las sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y la purificación final de los compuestos de la invención o por separado haciendo reaccionar la función de base libre con un ácido orgánico adecuado. Las sales de adición de ácido representativas incluyen sales de acetato, adipato, alginato, ascorbato, asparato, bencenosulfonato, benzoato, bisulfato, borato, butirato, alcanforato, alcanforsulfonato, citrato, digluconato, ciclopentanopropionato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptonato, glicerofosfato, hemisulfato, heptonato, hexanoato, bromhidrato, clorhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietanosulfonato, lactobionato, lactato, laurato, lauril sulfato, malato, maleato, malonato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oleato, oxalato, palmitato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, estearato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato, toluenosulfonato, undecanoato, valerato y similares. Las sales de base adecuadas se forman a partir de bases que forman sales no tóxicas. Los ejemplos incluyen las sales de aluminio, arginina, benzatina, calcio, colina, dietilamina, diolamina, glicina, lisina, magnesio, meglumina, olamina, potasio, sodio, trometamina y cinc. Las sales de metal alcalino o alcalinotérreo representativas incluyen sodio, litio, potasio, calcio, magnesio y similares, así como cationes no tóxicos de amonio, amonio cuaternario y amina, incluyendo, pero sin limitación, amonio, tetrametilamonio, tetraetilamonio, metilamina, dimetilamina, trimetilamina, trietilamina, etilamina, trietanolamina y similares.

Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula II pueden prepararse mediante métodos conocidos por los expertos en la materia, incluyendo, por ejemplo

i. haciendo reaccionar el compuesto de fórmula II con el ácido o la base deseada;

ii. retirando un grupo protector lábil a ácido o base a partir de un precursor adecuado del compuesto de fórmula II o abriendo el anillo de un precursor cíclico adecuado, por ejemplo, una lactona o lactama, usando el ácido o la base deseada; o

iii. convirtiendo una sal del compuesto de fórmula II en otro por reacción con un ácido o una base adecuada o mediante una columna de intercambio iónico adecuada.

Las reacciones (i)-(iii) anteriores se llevan a cabo típicamente en solución. La sal resultante puede precipitarse y recogerse por filtración o puede recuperarse por evaporación del disolvente. El grado de ionización en la sal resultante puede variar desde completamente ionizada hasta prácticamente no ionizada.

Por lo tanto, por ejemplo, pueden prepararse sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de acuerdo con la presente invención mezclando un ácido farmacéuticamente aceptable, tal como ácido clorhídrico, ácido

sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido benzoico, ácido fosfórico, ácido acético, ácido oxálico, ácido carbónico, ácido tartárico o ácido cítrico con los compuestos de la invención. Las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos de la presente invención incluyen, por lo tanto, sales de adición de ácido.

Los compuestos de la invención pueden existir en las formas tanto no solvatadas como solvatadas. El término "solvato" se usa en el presente documento para describir un complejo molecular que comprende el compuesto de la invención y una cantidad estequiométrica de una o más moléculas de disolvente farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, etanol. El término "hidrato" se emplea cuando el disolvente es agua.

Los compuestos de fórmula II pueden administrarse en forma de un "profármaco". La expresión "profármaco" se refiere a un compuesto que, tras su administración *in vivo*, se metaboliza mediante una o más etapas o procesos o de otro modo se convierte en la forma biológica, farmacéutica o terapéuticamente activa del compuesto. Los profármacos pueden prepararse modificando los grupos funcionales presentes en el compuesto de tal forma que las modificaciones se escinden, ya sea mediante manipulación rutinaria o *in vivo*, en un compuesto descrito en el presente documento. Por ejemplo, los profármacos incluyen compuestos de la presente invención en donde se une un grupo hidroxilo, amino o sulfhidrilo a cualquier grupo que, cuando se administra a un sujeto mamífero, puede escindirse para formar un grupo hidroxilo libre, amino libre o sulfhidrilo libre, respectivamente. Los profármacos representativos incluyen, por ejemplo, amidas, ésteres, éteres de enol, ésteres de enol, acetatos, formiatos, derivados de benzoato y similares de grupos funcionales alcohol y amina en los compuestos de la presente invención. Gracias al conocimiento de los procesos farmacocinéticos y al metabolismo del fármaco *in vivo*, los expertos en esta materia, una vez que se conoce un compuesto farmacéuticamente activo, pueden diseñar profármacos del compuesto (véase, por ejemplo, Nogrady (1985) Medicinal Chemistry A Biochemical Approach, Oxford University Press, Nueva York, páginas 388-392).

Las composiciones usadas en el presente documento comprenden uno o más compuestos proporcionados en el presente documento. En una realización, los compuestos se formulan en preparaciones farmacéuticas adecuadas, tales como soluciones, suspensiones, comprimidos, comprimidos dispersables, píldoras, cápsulas, polvos, formulaciones de liberación sostenida o elixires, para administración oral o en soluciones o suspensiones estériles para administración parenteral, así como en forma de preparaciones de parche transdérmico e inhaladores de polvo seco. En una realización, los compuestos descritos anteriormente se formulan en composiciones farmacéuticas usando técnicas y procedimientos bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Ansel Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms, Cuarta edición 1985, 126).

En las composiciones, se mezclan concentraciones eficaces de uno o más compuestos o derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos con un portador farmacéutico adecuado. Los compuestos pueden derivarse en forma de las sales, ésteres, éteres o ésteres de enol, acetales, cetales, ortoésteres, semiacetales, semicetales, ácidos, bases, solvatos, hidratos o profármacos correspondientes antes de la formulación, como se ha descrito anteriormente. Las concentraciones de los compuestos en las composiciones son eficaces para suministrar una cantidad, tras la administración, que trate, prevenga o mejore uno o más de los síntomas de las enfermedades o trastornos que se vayan a tratar.

En una realización, los compuestos se formulan para la administración de dosis unitarias. Para formular una composición, la fracción de peso del compuesto se disuelve, suspende, dispersa o de otro modo mezcla en un portador seleccionado a una concentración eficaz, de tal forma que la afección tratada se alivia o previene o se mejoran uno o más síntomas.

El compuesto activo se incluye en el portador farmacéuticamente aceptable en una cantidad suficiente para ejercer un efecto terapéuticamente útil en ausencia de efectos secundarios no deseados en el paciente tratado. La concentración terapéuticamente eficaz puede determinarse empíricamente evaluando los compuestos en sistemas *in vitro* e *in vivo* descritos en el presente documento y en la Publicación PCT WO 04/018997 y después, a partir de estos, se extrapolan para las dosis para seres humanos.

La concentración de compuesto activo en la composición farmacéutica dependerá de las velocidades de absorción, inactivación y excreción del compuesto activo, las características fisicoquímicas del compuesto, la pauta posológica y la cantidad administrada, así como otros factores conocidos por los expertos en la materia.

En una realización, una dosis terapéuticamente eficaz debería producir una concentración sérica de principio activo de aproximadamente 0,1 ng/ml a aproximadamente 50 - 100 µg/ml. Las composiciones farmacéuticas, en otra realización, deberían proporcionar una dosis de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 2000 mg de compuesto por kg de peso corporal por día. Las formas de dosificación farmacéutica unitarias se preparan para proporcionar aproximadamente 0,01 mg, 0,1 mg o 1 mg a aproximadamente 500 mg, 1000 mg o 2000 mg y en una realización, de aproximadamente 10 mg a aproximadamente 500 mg del principio activo o una combinación de ingredientes esenciales por forma farmacéutica unitaria.

La dosificación puede proporcionarse en intervalos de minutos, horas, días, semanas, meses o años o de manera continua a lo largo de cualquiera de estos periodos. Las dosis adecuadas se encuentran dentro del intervalo de aproximadamente 0,1 ng por kg de peso corporal a 1 g por kg de peso corporal por dosis. La dosis se encuentra preferentemente en el intervalo de 1 µg a 1 g por kg de peso corporal por dosis, tal como en el intervalo de 1 mg a 1 g por kg de peso corporal por dosis. De manera adecuada, la dosis se encuentra en el intervalo de 1 µg a 500 µg por kg de peso corporal por dosis, tal como de 1 µg a 200 mg por kg de peso corporal por dosis o de 1 µg a 100 mg por kg de peso corporal por dosis. Otras dosis adecuadas pueden encontrarse en el intervalo de 1 mg a 250 mg por kg de peso corporal, incluyendo de 1mg a 10, 20, 50 o 100 mg por kg de peso corporal por dosis o 10 µg a 100 mg por kg de peso corporal por dosis.

Las cantidades de dosis y las pautas posológicas adecuadas pueden determinarse por el médico adjunto y pueden depender de la afección particular que se esté tratando, de la gravedad de la afección, así como la salud general, la edad y el peso del sujeto.

El principio activo puede administrarse de una vez o puede dividirse en una serie de dosis menores para su administración en intervalos de tiempo. Se entiende que la dosis concreta y la duración del tratamiento son en función de la enfermedad que se esté tratando y pueden determinarse de manera empírica usando protocolos de ensayo conocidos o mediante extrapolación a partir de datos de ensayos *in vivo* o *in vitro*. Cabe destacar que las concentraciones y los valores de dosificación también pueden variar dependiendo de la gravedad de la afección que se vaya a aliviar. Además, hay que entender que, para cualquier sujeto concreto, las pautas posológicas específicas deben ajustarse con el paso del tiempo según las necesidades del individuo y del criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones y que los intervalos de concentración expuestos en el presente documento son solo ejemplares y no pretenden limitar el alcance o la práctica de las composiciones reivindicadas.

En los casos en los que los compuestos muestren una solubilidad insuficiente, pueden usarse métodos para solubilizar los compuestos. Dichos métodos son conocidos por los expertos en la materia e incluyen, pero sin limitación, el uso de codisolventes, tales como dimetilsulfóxido (DMSO), el uso de tensioactivos, tales como TWEEN®, disolución en bicarbonato de sodio acuoso, formulando los compuestos de interés en forma de nanopartículas y similares. Los derivados de los compuestos, tales como profármacos de los compuestos, también pueden usarse en la formulación de composiciones farmacéuticas eficaces.

Tras el mezclado o la adición de los compuestos, la mezcla resultante puede ser una solución, suspensión, emulsión o similar. La forma de la mezcla resultante depende de una serie de factores, incluyendo el modo de administración previsto y la solubilidad del compuesto en el portador o vehículo seleccionado. La concentración eficaz es suficiente para aliviar los síntomas de la enfermedad, el trastorno o la afección que se esté tratando y pueden determinarse empíricamente.

Las composiciones farmacéuticas se proporcionan para su administración a seres humanos y a animales en formas farmacéuticas unitarias, tales como comprimidos, cápsulas, píldoras, polvos, gránulos, soluciones o suspensiones parenterales estériles y soluciones o suspensiones orales y emulsiones de aceite-agua que contienen cantidades adecuadas de los compuestos o los derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos. Los compuestos farmacéutica y terapéuticamente activos y los derivados de los mismos, en una realización, se formulan y administran en formas farmacéuticas unitarias o en formas farmacéuticas múltiples. Formas farmacéuticas unitarias, tal como se usa en el presente documento, se refieren a unidades físicamente discretas adecuadas para sujetos humanos y animales y envasadas de manera individual, tal como se conoce en la técnica. Cada dosis unitaria contiene una cantidad predeterminada del compuesto terapéuticamente activo suficiente para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con el portador, vehículo o diluyente farmacéutico necesario. Los ejemplos de formas farmacéuticas unitarias incluyen ampollas y jeringuillas y comprimidos o cápsulas envasadas de manera individual. Las formas farmacéuticas unitarias pueden administrarse en fracciones o múltiplos de las mismas. Una forma farmacéutica múltiple es una pluralidad de formas farmacéuticas unitarias idénticas envasadas en un solo contenedor para su administración en una forma farmacéutica segregada. Los ejemplos de formas farmacéuticas múltiples incluyen viales, frascos de comprimidos o cápsulas o botellas de mililitros o litros. De este modo, la forma farmacéutica múltiple es un múltiplo de formas farmacéuticas unitarias que no se segregan en su envase.

Los métodos reales para preparar dichas formas farmacéuticas son conocidos o serán evidentes, para los expertos en la materia; por ejemplo, véase Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing Company, Easton, Pa., 15ª edición, 1975.

Pueden prepararse formas farmacéuticas o composiciones que contienen el principio activo en el intervalo del 0,005% al 100% (% en peso) completándose con portador no tóxico. Los métodos para la preparación de estas composiciones son conocidos por los expertos en la materia. Las composiciones contempladas pueden contener un 0,001%-100% (% en peso) de principio activo, en una realización, un 0,1-95% (% en peso), en otra realización, un 75-85% (% en peso).

## Modos de administración

Los modos de administración convenientes incluyen inyección (subcutánea, intravenosa, etc.), administración oral, inhalación, aplicación transdérmica, cremas o geles tópicos o polvos, administración vaginal o administración rectal. Dependiendo de la vía de administración, la formulación y/o el compuesto pueden recubrirse con un material para proteger el compuesto de la acción de las enzimas, ácidos y otras condiciones naturales que puedan inactivar la actividad terapéutica del compuesto. El compuesto también puede administrarse por vía parenteral o intraperitoneal.

## Composiciones para administración oral

Las formas farmacéuticas orales son sólidas, en gel o líquidas. Las formas farmacéuticas sólidas son comprimidos, cápsulas, gránulos y polvos a granel. Los tipos de comprimidos incluyen prensados, comprimidos para chupar masticables y comprimidos que pueden tener un recubrimiento entérico, un recubrimiento de azúcar o un recubrimiento de película. Las cápsulas pueden ser cápsulas de gelatina dura o blanda, mientras que los gránulos y los polvos pueden proporcionarse en forma no efervescente o efervescente con la combinación de otros ingredientes conocidos por los expertos en la materia.

## Composiciones sólidas para administración oral

En determinadas realizaciones, las formulaciones son formas farmacéuticas sólidas, en una realización, cápsulas o comprimidos. Los comprimidos, píldoras, cápsulas, trociscos y similares pueden contener uno o más de los siguientes ingredientes o compuestos de una naturaleza similar: un aglutinante; un lubricante; un diluyente; un emoliente; un agente disgregante; un agente colorante; un agente edulcorante; un agente aromatizante; un agente humectante; un recubrimiento emético; y un recubrimiento de película. Los ejemplos de aglutinantes incluyen celulosa microcristalina, goma de tragacanto, solución de glucosa, mucílago de acacia, solución de gelatina, melazas, polivinilpirrolidona, povidona, crospovidonas, sacarosa y pasta de almidón. Los lubricantes incluyen talco, almidón, estearato de magnesio o calcio, lycopodio y ácido esteárico. Los diluyentes incluyen, por ejemplo, lactosa, sacarosa, almidón, caolín, sal, manitol y fosfato dicálcico. Los emolientes incluyen, pero sin limitación, dióxido de silicio coloidal. Los agentes disgregantes incluyen croscarmelosa sódica, glicolato sódico de almidón, ácido algínico, almidón de maíz, almidón de patata, bentonita, metilcelulosa, agar y carboximetilcelulosa. Los agentes colorantes incluyen, por ejemplo, cualquiera de los colorantes FD y C solubles en agua certificados aprobados, mezclas de los mismos; y los colorantes FD y C insolubles suspendidos en hidrato de alumbre. Los agentes edulcorantes incluyen sacarosa, lactosa, manitol y agentes edulcorantes artificiales, tales como sacarina y cualquier número de aromas secados por pulverización. Los agentes aromatizantes incluyen aromas naturales extraídos de plantas, tales como frutos y mezclas sintéticas de compuestos que producen una sensación agradable, tales como, pero sin limitación, menta y salicilato de metilo. Los agentes humectantes incluyen monoestearato de propilenglicol, monooleato de sorbitán, monolaurato de dietilenglicol y lauril éter de polioxitileno. Los recubrimientos eméticos incluyen ácidos grasos, grasas, ceras, goma laca, goma laca amoniada y ftalatos de acetato de celulosa. Los recubrimientos de película incluyen hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, polietilenglicol 4000 y ftalato de acetato de celulosa.

El compuesto o el derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, puede proporcionarse en una composición que lo proteja del ambiente ácido del estómago. Por ejemplo, la composición puede formularse en un recubrimiento entérico que mantiene su integridad en el estómago y libera el compuesto activo en el intestino. La composición también puede formularse en combinación con un antiácido u otro ingrediente similar.

Cuando la forma farmacéutica unitaria es una cápsula, esta puede contener, además del material del tipo anterior, un portador líquido, tal como un aceite graso. Además, las formas farmacéuticas unitarias pueden contener diversos materiales diferentes que modifican la forma física de la forma farmacéutica, por ejemplo, recubrimientos de azúcar y otros agentes entéricos. Los compuestos también pueden administrarse como un componente de un elixir, suspensión, jarabe, oblea, espolvoreado, goma de mascar o similares. Un jarabe puede contener, además de los compuestos activos, sacarosa como agente edulcorante y determinados conservantes, tintes y colorantes y aromas.

Los materiales activos también pueden mezclarse con otros materiales activos que no dificultan la acción deseada o con materiales que complementan la acción deseada, tales como antiácidos, bloqueadores de H<sub>2</sub> y diuréticos. El principio activo es un compuesto o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, tal como se describe en el presente documento. Pueden incluirse concentraciones mayores, de hasta aproximadamente el 98% en peso del principio activo.

En todas las realizaciones, las formulaciones en comprimidos y cápsulas pueden recubrirse, tal como saben los expertos en la materia, para modificar o mantener la disolución del principio activo. Por lo tanto, por ejemplo, pueden recubrirse con un recubrimiento entérico digerible convencional, tal como salicilato de fenilo, ceras y ftalato de acetato de celulosa.

## Composiciones líquidas para administración oral

5 Las formas farmacéuticas orales líquidas incluyen soluciones acuosas, emulsiones, suspensiones, soluciones y/o suspensiones reconstituídas a partir de gránulos no efervescentes y preparaciones efervescentes reconstituídas a partir de gránulos efervescentes. Las soluciones acuosas incluyen, por ejemplo, elixires y jarabes. Las emulsiones son de aceite en agua o de agua en aceite.

10 Las composiciones administrables farmacéuticamente pueden prepararse, por ejemplo, disolviendo, dispersando o mezclando de otro modo un compuesto activo como se ha definido anteriormente y adyuvantes farmacéuticos opcionales en un portador, tal como, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa acuosa, glicerol, glicoles, etanol y similares, para de este modo formar una solución o suspensión. Si se desea, las composiciones farmacéuticas que se van a administrar también pueden contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas, tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes, agentes solubilizantes, agentes tamponadores del pH y similares, por ejemplo, acetato, citrato de sodio, derivados de ciclodextrina, monolaurato de sorbitán, acetato sódico de trietanolamina, oleato de trietanolamina y otros agentes similares.

20 Los elixires son preparaciones hidroalcohólicas transparentes edulcoradas. Los portadores farmacéuticamente aceptables usados en los elixires incluyen disolventes. Los jarabes son soluciones acuosas concentradas de un azúcar, por ejemplo, sacarosa y pueden contener un conservante. Una emulsión es un sistema en dos fases en el que se dispersa un líquido en forma de pequeños glóbulos en otro líquido. Los portadores farmacéuticamente aceptables usados en las emulsiones son líquidos no acuosos, agentes emulsionantes y conservantes. Las suspensiones usan agentes de suspensión y conservantes farmacéuticamente aceptables. Las sustancias farmacéuticamente aceptables usadas en los gránulos no efervescentes, que se reconstituyen en una forma farmacéutica oral líquida, incluyen diluyentes, edulcorantes y agentes humectantes. Las sustancias farmacéuticamente aceptables usadas en los gránulos efervescentes, que se reconstituyen en una forma farmacéutica oral líquida, incluyen ácidos orgánicos y una fuente de dióxido de carbono. En todas las formas farmacéuticas anteriores se usan agentes colorantes y aromatizantes.

30 Los disolventes incluyen glicerina, sorbitol, alcohol etílico y jarabe. Los ejemplos de conservantes incluyen glicerina, metil y propilparabeno, ácido benzoico, benzoato de sodio y alcohol. Los ejemplos de líquidos no acuosos utilizados en las emulsiones incluyen aceite mineral y aceite de semilla de algodón. Los ejemplos de agentes emulsionantes incluyen gelatina, goma arábiga, tragacanto, bentonita y tensioactivos, tales como monooleato de polioxietileno sorbitán. Los agentes de suspensión incluyen carboximetilcelulosa de sodio, pectina, tragacanto, Veegum y goma arábiga. Los agentes edulcorantes incluyen sacarosa, jarabes, glicerina y agentes edulcorantes artificiales, tales como sacarina. Los agentes humectantes incluyen monoestearato de propilenglicol, monooleato de sorbitán, monolaurato de dietilenglicol y lauril éter de polioxietileno. Los ácidos orgánicos incluyen ácido cítrico y ácido tartárico. Las fuentes de dióxido de carbono incluyen bicarbonato de sodio y carbonato de sodio. Los agentes colorantes incluyen cualquiera de los colorantes FD y C solubles en agua certificados aprobados y mezclas de los mismos. Los agentes aromatizantes incluyen aromas naturales extraídos de plantas, tales como frutos y mezclas sintéticas de compuestos que producen una sensación de sabor agradable.

45 Para una forma farmacéutica sólida, la solución o suspensión, en, por ejemplo, carbonato de propileno, aceites vegetales o triglicéridos, se encapsula en una realización en una cápsula de gelatina. Dichas soluciones y la preparación y encapsulación de las mismas, se divulga en las Patentes de los Estados Unidos n.º 4.328.245; 4.409.239; y 4.410.545. Para una forma farmacéutica líquida, la solución, *por ejemplo*, por ejemplo, en un polietilenglicol, puede diluirse con una cantidad suficiente de un portador líquido farmacéuticamente aceptable, *por ejemplo*, agua, para que se mida fácilmente para su administración.

50 Como alternativa, pueden prepararse formulaciones orales líquidas o semisólidas disolviendo o dispersando el compuesto activo o la sal en aceites vegetales, glicoles, triglicéridos, ésteres de propilenglicol (por ejemplo, carbonato de propileno) y otros portadores similares y encapsulando estas soluciones o suspensiones en vainas de cápsulas de gelatina dura o blanda. Otras formulaciones útiles incluyen aquellas expuestas en las Patentes de los Estados Unidos n.º RE28.819 y 4.358.603. En resumen, dichas formulaciones incluyen, pero sin limitación, aquellas que contienen un compuesto proporcionado en el presente documento, un mono o polialquilenglicol dialquilado, incluyendo, pero sin limitación, 1,2-dimetoximetano, diglima, triglima, tetraglima, dimetiléter de polietilenglicol-350, dimetiléter de polietilenglicol-550, dimetiléter de polietilenglicol-750, en donde 350, 550 y 750 se refieren al peso molecular medio aproximado del polietilenglicol y uno o más antioxidantes, tales como hidroxitolueno butilado (BHT), hidroxianisol butilado (BHA), galato de propilo, vitamina E, hidroquinona, hidroxycumarinas, etanolamina, lecitina, cefalina, ácido ascórbico, ácido málico, sorbitol, ácido fosfórico, ácido tioldipropiónico y sus ésteres y ditiocarbamatos.

65 Otras formulaciones incluyen, pero sin limitación, soluciones alcohólicas acuosas que incluyen un acetal farmacéuticamente aceptable. Los alcoholes usados en estas formulaciones son cualquier disolvente miscible en agua farmacéuticamente aceptable que tenga uno o más grupos hidroxilo, incluyendo, pero sin limitación, propilenglicol y etanol. Los acetales incluyen, pero sin limitación, acetales de di(alquilo inferior) de aldehídos de alquilo inferior, tales como dietil acetal de acetaldehído.

## Inyectables, soluciones y emulsiones

La administración parenteral, en una realización caracterizada por inyección, ya sea por vía subcutánea, intramuscular o intravenosa también se contempla en el presente documento. Los inyectables pueden prepararse en formas convencionales, como soluciones o suspensiones líquidas, formas sólidas adecuadas para disolución o suspensión en un líquido antes de la inyección, o como emulsiones. Los inyectables, las soluciones y las emulsiones también contienen uno o más excipientes. Los excipientes adecuados son, por ejemplo, agua, solución salina, dextrosa, glicerol o etanol. Además, si se desea, las composiciones farmacéuticas que se van a administrar también pueden contener cantidades menores de sustancias auxiliares no tóxicas, tales como agentes humectantes o emulsionantes, agentes tamponadores del pH, estabilizantes, potenciadores de la solubilidad y otros agentes similares, tales como, por ejemplo, acetato de sodio, monolaurato de sorbitán, oleato de trietanolamina y ciclodextrinas.

El implante de un sistema de liberación lenta o de liberación sostenida, de tal forma que se mantiene un nivel constante de dosis (véase, por ejemplo, la patente de los Estados Unidos n.º 3.710.795) también se contempla en el presente documento. Brevemente, se dispersa un compuesto proporcionado en el presente documento en una matriz sólida inerte, por ejemplo, polimetilmetacrilato, polibutilmetacrilato, cloruro de polivinilo plastificado o no plastificado, nailon plastificado, tereftalato de polietileno plastificado, caucho natural, poliisopreno, poliisobutileno, polibutadieno, polietileno, copolímeros de etileno-acetato de vinilo, gomas de silicio, polidimetilsiloxanos, copolímeros de carbonato de silicio, polímeros hidrófilos, tales como hidrogeles de ésteres de ácido acrílico y metacrílico, colágeno, alcohol polivinílico reticulado y acetato de polivinilo reticulado parcialmente hidrolizado, que están rodeados por una membrana polimérica externa, *por ejemplo*, polietileno, polipropileno, copolímeros de etileno/propileno, copolímeros de etileno/acrilato de etilo, copolímeros de etileno/acetato de vinilo, gomas de silicio, polidimetil siloxanos, goma de neopreno, polietileno clorado, cloruro de polivinilo, copolímeros de cloruro de vinilo con acetato de vinilo, cloruro de vinilideno, etileno y propileno, tereftalato de ionómero de polietileno, gomas de epiclorohidrina de goma de butilo, copolímero de etileno/alcohol vinílico, terpolímero de etileno/acetato de vinilo/terpolímero de alcohol vinílico y copolímero de etileno/viniloxietanol, que es insoluble en los fluidos corporales. El compuesto se difunde a través de la membrana polimérica externa en una etapa de control de la velocidad de liberación. El porcentaje de compuesto activo contenido en dichas composiciones depende en gran medida de la naturaleza específica del mismo, así como de la actividad del compuesto y las necesidades del sujeto.

La administración parenteral de las composiciones incluye administración intravenosa, subcutánea e intramuscular. Las preparaciones para administración parenteral incluyen soluciones estériles listas para su inyección, productos solubles secos estériles, tales como polvos liofilizados, listos para combinar con un disolvente justo antes de su uso, incluyendo comprimidos hipodérmicos, suspensiones estériles listas para inyección, polvos insolubles secos estériles listos para combinar con un vehículo justo antes de su uso y emulsiones estériles. Las soluciones pueden ser acuosas o no acuosas.

En caso de que se administren por vía intravenosa, los portadores adecuados incluyen suero salino fisiológico o suero salino tamponado con fosfato (PBS) y soluciones que contienen agentes espesantes y solubilizantes, tales como glucosa, polietilenglicol y polipropilenglicol y mezclas de los mismos.

Los portadores farmacéuticamente aceptables usados en las preparaciones parenterales incluyen vehículos acuosos, vehículos no acuosos, agentes antimicrobianos, agentes isotónicos, tampones, antioxidantes, anestésicos locales, agentes de suspensión y dispersión, agentes emulsionantes, agentes secuestrantes o quelantes y otras sustancias farmacéuticamente aceptables.

Los ejemplos de vehículos acuosos incluyen inyección de cloruro de sodio, inyección de Ringer, inyección isotónica de dextrosa, inyección de agua estéril, inyección de Ringer de dextrosa y lactada. Los vehículos parenterales no acuosos incluyen aceites no volátiles de origen vegetal, aceite de semilla de algodón, aceite de maíz, aceite de sésamo y aceite de cacahuete. Han de añadirse agentes antimicrobianos en concentraciones bacteriostáticas o fungistáticas a las preparaciones parenterales envasadas en recipientes multidosis, que incluyen fenoles y cresoles, mercuriales, alcohol bencílico, clorobutanol, metil y propil ésteres del ácido p-hidroxibenzoico, timerosal, cloruro de benzalconio y cloruro de bencetonio. Los agentes isotónicos incluyen cloruro de sodio y dextrosa. Los tampones incluyen fosfato y citrato. Los antioxidantes incluyen bisulfato sódico. Los anestésicos locales incluyen clorhidrato de procaína. Los agentes de suspensión y dispersión incluyen carboximetilcelulosa de sodio, hidroxipropil metilcelulosa y polivinilpirrolidona. Los agentes emulsionantes incluyen polisorbato 80 (TWEEN® 80). Un agente secuestrante o quelante de iones metálicos incluye EDTA. Los portadores farmacéuticos también incluyen alcohol etílico, polietilenglicol y propilenglicol para los vehículos miscibles en agua; e hidróxido sódico, ácido clorhídrico, ácido cítrico o ácido láctico para el ajuste del pH.

La concentración del compuesto farmacéuticamente activo se ajusta de tal forma que una inyección proporciona una cantidad eficaz para producir el efecto farmacológico deseado. La dosis exacta depende de la edad, el peso y el estado del paciente o el animal, tal como se sabe en la técnica.

Las preparaciones de dosis unitaria parenteral se envasan en una ampolla, un vial o una jeringuilla con una aguja. Todas las preparaciones para administración parenteral han de ser estériles, tal como se sabe y practica en la técnica.

5 De manera ilustrativa, una infusión intravenosa o intraarterial de una solución acuosa estéril que contiene un compuesto activo es un modo de administración eficaz. Otra realización es una solución o suspensión acuosa u oleosa estéril que contiene un material activo inyectado según sea necesario para producir el efecto farmacológico deseado.

10 Los inyectables se diseñan para administración local y sistémica. En una realización, se formula una dosis terapéuticamente eficaz para que contenga una concentración de al menos el 0,1% p/p hasta aproximadamente un 90% p/p o más, en ciertas realizaciones, más de un 1% p/p del compuesto activo a los sitios tratados.

15 El compuesto puede suspenderse en forma micronizada u otras adecuadas o pueden derivatizarse para producir un producto activo más soluble o para producir un profámaco. La forma de la mezcla resultante depende de una serie de factores, incluyendo el modo de administración previsto y la solubilidad del compuesto en el portador o vehículo seleccionado. La concentración eficaz es suficiente para mejorar los síntomas de la afección y pueden determinarse empíricamente.

20 Polvos liofilizados

También son interesantes en el presente documento los polvos liofilizados, que pueden reconstituirse para su administración en forma de soluciones, emulsiones y otras mezclas. También pueden reconstituirse y formularse en forma de sólidos o geles.

25 El polvo estéril liofilizado se prepara disolviendo un compuesto proporcionado en el presente documento o un derivado farmacéuticamente aceptable del mismo, en un disolvente adecuado. El disolvente puede contener un excipiente que mejora la estabilidad u otro componente farmacocinético de la solución en polvo o reconstituida, preparada a partir del polvo. Los excipientes que pueden usarse incluyen, pero sin limitación, dextrosa, sorbital, fructosa, jarabe de maíz, xilitol, glicerina, glucosa, sacarosa u otro agente adecuado. El disolvente también puede contener un tampón, tal como citrato, fosfato de sodio o potasio u otro tampón similar conocido por los expertos en la materia a, en una realización, aproximadamente pH neutro. La posterior esterilización por filtración de la solución, seguida de liofilización en condiciones estándar conocidas por los expertos en la materia, proporciona la formulación deseada. En una realización, la solución resultante se separará en porciones en viales para su liofilización. Cada vial contendrá una sola dosis o múltiples dosis del compuesto. El polvo liofilizado puede almacenarse en condiciones adecuadas, tales como a de aproximadamente 4 °C a temperatura ambiente.

35 La reconstitución de este polvo liofilizado con agua para inyección proporciona una formulación para su uso en administración parenteral. Para su reconstitución, se añade el polvo liofilizado a agua estéril u otro portador adecuado. La cantidad precisa depende del compuesto seleccionado. Dicha cantidad puede determinarse empíricamente.

Administración tópica

45 Las mezclas tópicas se preparan como se describe para la administración local y sistémica. La mezcla resultante puede ser una solución, suspensión, emulsiones o similares y se formulan como cremas, geles, pomadas, emulsiones, soluciones, elixires, lociones, suspensiones, tinturas, pastas, espumas, aerosoles, irrigaciones, pulverizaciones, supositorios, apósitos, parches dérmicos o cualquier otra formulación adecuada para administración tópica.

50 Los compuestos o los derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos pueden formularse en forma de aerosoles para aplicación tópica, tal como por inhalación (véanse, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos n.º 4.044.126, 4.414.209 y 4.364.923, que describen aerosoles para el suministro de un esteroide útil para el tratamiento de enfermedades inflamatorias, en particular del asma). Estas formulaciones para administración al tracto respiratorio pueden estar en forma de un aerosol o solución para un nebulizador o en forma de polvo microfino para insuflación, solas o en combinación con un portador inerte, tal como lactosa. En dicho caso, las partículas de la formulación tendrán, en una realización, diámetros de menos de 50 micrómetros, en una realización, de menos de 10 micrómetros.

60 Los compuestos pueden formularse para aplicación local o tópica, tal como para aplicación tópica a la piel y membranas mucosas, tal como en el ojo, en forma de geles, cremas y lociones y para aplicación al ojo o para aplicación intracisternal o intramedular. La administración tópica se contempla para suministro transdérmico y también para su administración a los ojos o mucosas o para terapias por inhalación. También pueden administrarse soluciones nasales del compuesto activo solas o en combinación con otros excipientes farmacéuticamente aceptables.

65

Estas soluciones, en particular aquellas pensadas para uso oftálmico, pueden formularse en forma de soluciones isotónicas al 0,01% - 10% (% en volumen), pH de aproximadamente 5-7, con sales adecuadas.

#### Composiciones para otras vías de administración

5 También se contemplan en el presente documento otras vías de administración, tales como parches transdérmicos, incluyendo dispositivos iontoforéticos y electroforéticos y administración rectal.

10 Los parches transdérmicos, que incluyen dispositivos iontoforéticos y electroforéticos, son de sobra conocido por los expertos en la materia. Por ejemplo, dichos parches se divulga en las Patentes de los Estados Unidos n.º 6.267.983, 6.261.595, 6.256.533, 6.167.301, 6.024.975, 6.010.715, 5.985.317, 5.983.134, 5.948.433 y 5.860.957.

15 Por ejemplo, las formas de dosificación farmacéuticas para administración son supositorios, cápsulas y comprimidos rectales para lograr un efecto sistémico. En el presente documento, se emplea supositorios rectales para hacer referencia a cuerpos sólidos para su inserción en el recto que se derriten o ablandan a temperatura corporal, liberando uno o más principios farmacéutica o terapéuticamente activos. Las sustancias farmacéuticamente aceptables utilizadas en los supositorios rectales son bases o vehículos y agentes para elevar el punto de fusión.

20 Los ejemplos de bases incluyen manteca de cacao (aceite de teobroma), glicerina-gelatina, Carbowax (polietilenglicol) y mezclas adecuadas de mono, di y triglicéridos de ácidos grasos. Pueden usarse combinaciones de las diversas bases. Los agentes para elevar el punto de fusión de los supositorios incluyen esperma de ballena y cera. Los supositorios rectales pueden prepararse por métodos de compresión o por moldeado. El peso del supositorio rectal, en una realización, es de aproximadamente 2 a 3 g.

25 Los comprimidos y cápsulas para administración rectal se fabrican usando la misma sustancia farmacéuticamente aceptable y mediante los mismos métodos que para las formulaciones para administración oral.  
Formulaciones con diana terapéutica específica

30 Los compuestos proporcionados en el presente documento o los derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos también pueden formularse para que actúen de manera específica sobre un tejido, receptor u otro área del cuerpo específico del sujeto que se va a tratar. Muchos de estos métodos para obtener una acción específica se conocen bien por los expertos en la materia. Todos estos métodos para obtener una acción específica se contemplan en el presente documento para su uso en las presentes composiciones. Para ejemplos no limitantes de métodos para obtener una acción específica, véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos n.º 6.316.652, 6.274.552, 6.271.359, 6.253.872, 6.139.865, 6.131.570, 6.120.751, 6.071.495, 6.060.082, 6.048.736, 6.039.975, 35 6.004.534, 5.985.307, 5.972.366, 5.900.252, 5.840.674, 5.759.542 y 5.709.874.

40 En una realización, también pueden ser adecuadas como portadores farmacéuticamente aceptables las suspensiones liposomales, incluyendo liposomas que se dirigen específicamente a tejidos, tales como liposomas dirigidos específicamente contra tumores. Estos pueden prepararse de acuerdo con métodos conocidos por los expertos en la materia. Por ejemplo, pueden prepararse formulaciones en liposomas como se describe en la Patente de los Estados Unidos n.º 4.522.811. En resumen, pueden formarse liposomas, tales como vesículas multilamelares (MLV) desecando fosfatidilcolina de huevo y fosfatidilserina cerebral (relación molar de 7:3) en el interior de un matraz. Se añade una solución de un compuesto proporcionado en el presente documento en suero salino 45 tamponado con fosfato que carece de cationes divalentes (PBS) y se agita el matraz hasta que se dispersa la película de lípidos. Las vesículas resultantes se lavan para eliminar el compuesto no encapsulado, se sedimentan por centrifugación y después se vuelven a suspender en PBS.

#### Administración conjunta con otros fármacos

50 De acuerdo con otro aspecto de la presente invención, se contempla que los compuestos descritos en el presente documento puedan administrarse a un sujeto que lo necesite en combinación con medicación considerada por los expertos en la materia como el tratamiento estándar para la afección de interés. Dichas combinaciones proporcionan una o más ventajas al sujeto, por ejemplo, la necesidad de dosis menores para lograr un beneficio similar, la 55 obtención del efecto paliativo deseado en un menor espacio de tiempo y similares.

60 Las composiciones de acuerdo con la presente invención pueden administrarse como parte de un régimen terapéutico con otros fármacos. Puede ser deseable administrar una combinación de principios activos, por ejemplo, a fin de tratar una enfermedad o afección particular. Por consiguiente, se encuentra dentro del alcance de la presente invención que puedan combinarse dos o más composiciones farmacéuticas, de las que al menos una contiene un compuesto de fórmula (II) de acuerdo con la presente invención, en forma de un kit adecuado para la administración conjunta de las composiciones.

65 En una realización del compuesto fórmula II para su uso en los métodos de la presente invención, puede administrarse un compuesto de fórmula II con un segundo agente terapéutico. En una realización, el segundo agente terapéutico se selecciona entre el grupo II que consiste en un agente anticáncer, un agente antiinflamatorio, un agente

antihipertensivo, un agente antifibrótico, un agente antiangiogénico, un agente antidiabético y un agente inmunosupresor.

5 Cuando se administran conjuntamente dos o más principios activos, los principios activos pueden administrarse de manera simultánea, secuencial o por separado. En una realización, el compuesto de fórmula II se administra conjuntamente de manera simultánea con un segundo agente terapéutico. En otra realización, el compuesto de fórmula II y el segundo agente terapéutico se administran de manera secuencial. En una realización adicional, el compuesto de fórmula II y el segundo agente terapéutico se administran por separado.

10 A continuación, la invención se describirá en más detalle haciendo referencia a los siguientes ejemplos.

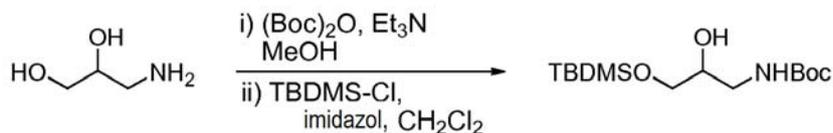
#### EJEMPLO 1

15 Preparación de los sintones 2-(bromometil)-3-fluoroalilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo y 2-(bromometil)-3-fluoroalilcarbamato de (*E*)-*tert*-butilo



#### Preparación de 3-(*tert*-butildimetilsililoxi)-2-hidroxiopropilcarbamato de *tert*-butilo

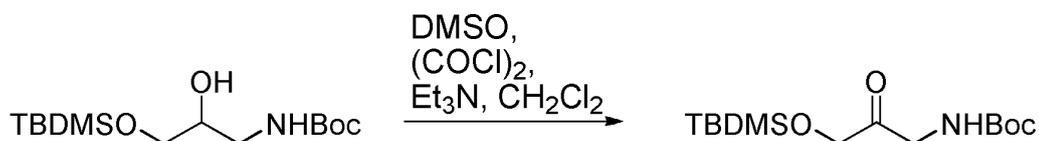
20



25 A una solución en agitación de 3-amino-1,2-propanodiol (10,0 g, 0,11 mol) y trietilamina (23 ml, 0,17 mol) en MeOH (200 ml) a temperatura ambiente se le añadió dicarbonato de di-*tert*-butilo (26,4 g, 0,12 mol). La solución resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida, después se coevaporó con tolueno para eliminar todo el MeOH. El residuo en bruto se recogió en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> y, después de enfriar a 0°C, se añadieron secuencialmente imidazol y *tert*-butil-(cloro)dimetilsilano. La mezcla resultante se dejó en agitación a esta temperatura durante 2 h. La mezcla de reacción se repartió entre agua (100 ml) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (70 ml) y la capa acuosa se extrajo con más CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 70 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron al vacío. El residuo en bruto se purificó sobre gel de sílice eluyendo con n-hexano seguido de acetato de etilo al 10% en hexanos para proporcionar 3-(*tert*-butildimetilsililoxi)-2-hidroxiopropilcarbamato de *tert*-butilo (32,6 g, 97,3%) en forma de un aceite incoloro. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δppm: 0,09 (6 H, s), 0,91 (9 H, s), 1,46 (9 H, s), 2,86 (1 H, dd a, J 4,2 Hz), 3,13 (1 H, ddd, J 14,1, 6,7, 5,3 Hz), 3,30 - 3,43 (1 H, m), 3,54 (1 H, dd, J 10,1, 6,2 Hz), 3,66 (1 H, dd, J 10,1, 4,5 Hz), 3,70 - 3,80 (1 H, m), 4,98 (1 H, s a).

35

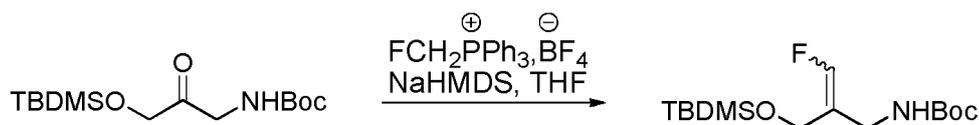
#### Preparación de 3-(*tert*-butildimetilsililoxi)-2-oxopropilcarbamato de *tert*-butilo



40 A una solución en agitación de cloruro de oxalilo (13,6 ml, 0,16 mol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> seco (150 ml) a -78°C en atmósfera de N<sub>2</sub> se le añadió DMSO (15,2 ml, 0,21 mol) gota a gota durante 30 min. Después de completar la adición, la solución resultante se agitó a -78°C durante 1 h. Después se añadió gota a gota durante 20 min una solución de 3-(*tert*-butildimetil-sililoxi)-2-hidroxiopropilcarbamato de *tert*-butilo (32,6 g, 0,11 mol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (50 ml). La agitación se continuó durante 1 hora más y en ese momento se añadió trietilamina (59,6 ml, 0,43 mol). El baño de refrigeración se eliminó y la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se repartió entre agua (100 ml) y CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (70 ml) y la capa acuosa se extrajo con más CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 70 ml); las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron en una corriente de gas nitrógeno. El residuo en bruto se purificó sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 5% en n-hexano para dar 3-(*tert*-butildimetilsililoxi)-2-oxopropilcarbamato de *tert*-butilo (29,8 g, 92%) en forma de un aceite de color amarillo claro. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) δppm: 0,11 (6 H, s), 0,94 (9 H, s), 1,47 (9 H, s), 3,92 (2 H, s), 4,26 (2 H, d, J 4,6 Hz), 5,22 (1 H, s a).

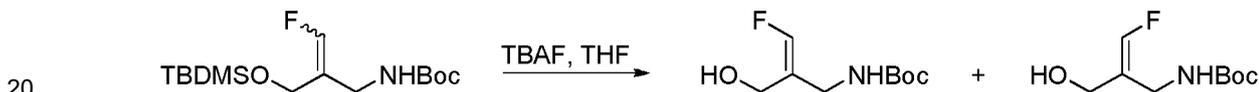
50

#### Preparación de 2-((*tert*-butildimetilsililoxi)metil)-3-fluoroalilcarbamato de *tert*-butilo



5 A una suspensión en agitación vigorosa de tetrafluoroborato de fluorometil(trifenil)-fosfonio (18,9 g, 49,4 mmol) en THF seco (190 ml) a -20 °C en atmósfera de N<sub>2</sub> se le añadió bis(trimetilsilil)amida de sodio (1,0 M en THF; 49,4 ml, 49,4 mmol) lentamente durante 10 min. La solución de color naranja oscuro resultante se dejó en agitación a esta temperatura durante 15 min. Después se añadió lentamente una solución de 3-(*tert*-butildimetilsililoxi)-2-oxopropilcarbamato de *tert*-butilo (10,0 g, 33,0 mmol) en THF (10 ml) durante 10 min. Después de que se completara la adición, la agitación se continuó durante 1 h más y durante ese tiempo se dejó calentar lentamente la reacción a temperatura ambiente. La reacción se interrumpió mediante la adición de agua (5 ml) y la mezcla de reacción se concentró al vacío. El residuo se repartió entre agua (100 ml) y éter dietílico (100 ml) y la capa acuosa se extrajo con más éter dietílico (2 x 100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó sobre gel de sílice eluyendo con n-hexano seguido de acetato de etilo al 6% en n-hexano para dar 2-((*tert*-butildimetilsililoxi)metil)-3-fluoroalilcarbamato de *tert*-butilo como una mezcla de isómeros de doble enlace *E/Z* (*E/Z* = 1:1; 9,9 g, 94%). En esta etapa no se separaron los isómeros.

Preparación de 3-fluoro-2-(hidroximetil)alilcarbamato de (*E*)-*tert*-butilo y 3-fluoro-2-(hidroximetil)alilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo

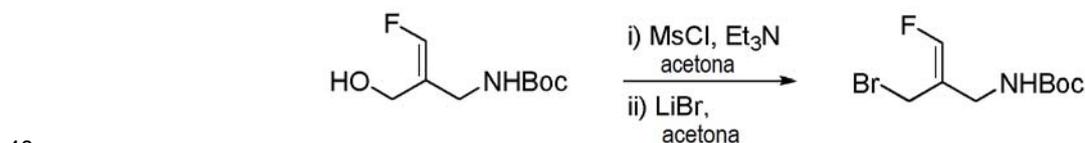


20 A una solución en agitación de 2-((*tert*-butildimetilsililoxi)metil)-3-fluoroalilcarbamato de *tert*-butilo (*E/Z* = 1:1; 12,0 g, 37,6 mmol) en THF (30 ml) a temperatura ambiente se le añadió TBAF (1,0 M en THF; 45,1 ml, 45,1 mmol). La solución resultante se dejó en agitación durante 30 min. La mezcla de reacción se repartió entre agua (70 ml) y acetato de etilo (50 ml). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (50 ml) y las capas orgánicas combinadas se lavaron con NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado (70 ml) seguido de salmuera (70 ml). Después de secar sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, las capas orgánicas se concentraron al vacío. La purificación del material en bruto sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 20% y THF al 5% en n-hexano dio 3-fluoro-2-(hidroximetil)-alilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo (0,5 g, 6,5%), 3-fluoro-2-(hidroximetil)alilcarbamato de (*E*)-*tert*-butilo (1,2 g, 15,6%) y una mezcla de los isómeros *E/Z* (5,5 g, 71,4%).

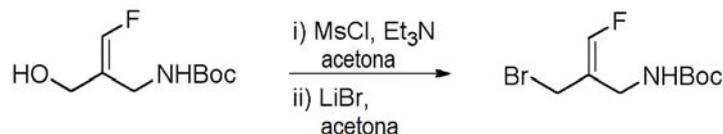
25 3-fluoro-2-(hidroximetil)alilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo: RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) δppm: 1,46 (9 H, s), 3,41 (1 H, s a), 3,74 (2 H, dd, *J* 6,5, 3,1 Hz), 4,28 (2 H, dd, *J* 6,0, 2,3 Hz), 4,87 (1 H, s a), 6,53 (1H, dd, *J* 83,5 Hz).

35 3-fluoro-2-(hidroximetil)alilcarbamato de (*E*)-*tert*-butilo: RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) δppm: 1,47 (9 H, s), 3,78 (1 H, t, *J* 6,4 Hz), 3,93 - 4,02 (4 H, m), 4,94 (1 H, s a), 6,63 (1 H, d, *J* 83,6 Hz).

Preparación de 2-(bromometil)-3-fluoroalilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo

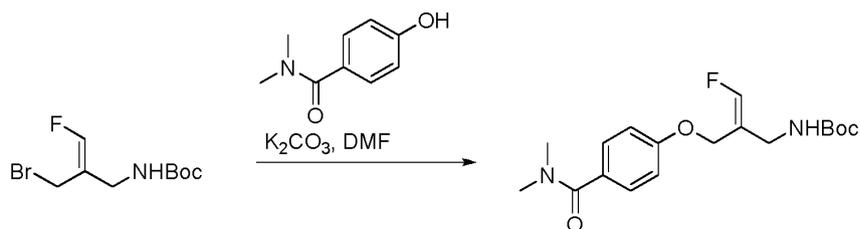


40 A una solución en agitación de 3-fluoro-2-(hidroximetil)-alilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo (0,50 g, 2,44 mmol) en acetona (15 ml) a 0 °C en atmósfera de N<sub>2</sub> se le añadió secuencialmente trietilamina (0,51 ml, 3,65 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0,23 ml, 2,92 mmol). La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 30 min. La mezcla de reacción se filtró para eliminar las sales precipitadas y la torta de filtro se lavó con más acetona (10 ml). El filtrado se cargó con bromuro de litio (1,06 g, 12,18 mmol) y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se repartió entre agua (25 ml) y acetato de etilo (25 ml) y la capa acuosa se extrajo con más acetato de etilo (25 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (25 ml), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron al vacío para dar 2-(bromometil)-3-fluoroalilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo en forma de un aceite de color amarillo claro (0,63 g, 96%). RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) δppm: 1,47 (9 H, s), 3,80 (2 H, s a), 4,09 (2 H, d, *J* 2,6 Hz), 4,75 (1 H, s a), 6,65 (1 H, d, *J* 81,9 Hz).

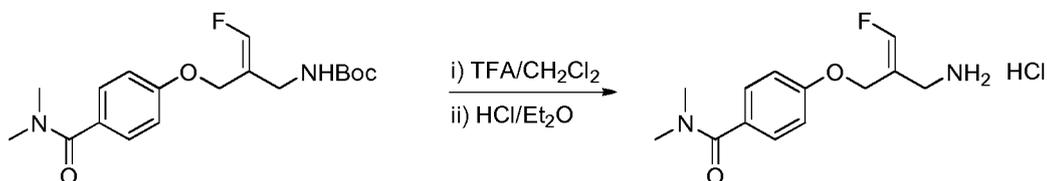
Preparación de 2-(bromometil)-3-fluoroalilcarbamato de (*E*)-*tert*-butilo

5 A una solución en agitación de 3-fluoro-2-(hidroximetil)-alilcarbamato de (*E*)-*tert*-butilo (1,20 g, 5,85 mmol) en acetona (20 ml) a 0 °C en atmósfera de N<sub>2</sub> se le añadió secuencialmente trietilamina (1,22 ml, 8,77 mmol) y cloruro de metanosulfonilo (0,54 ml, 7,02 mmol). La mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 30 min. La mezcla de reacción se filtró para eliminar las sales precipitadas y la torta de filtro se lavó con más acetona (10 ml). El filtrado se cargó con bromuro de litio (2,54 g, 29,24 mmol) y la suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla de reacción se repartió entre agua (25 ml) y acetato de etilo (25 ml) y la capa acuosa se extrajo con más acetato de etilo (25 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (25 ml), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron al vacío para dar 2-(bromometil)-3-fluoroalilcarbamato de (*E*)-*tert*-butilo en forma de un aceite de color amarillo claro (1,46 g, 93%). RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) δppm: 1,47 (9 H, s), 3,97 (2 H, dd, *J* 3,5, 0,7 Hz), 4,02 (2 H, dd a, *J* 6,1 Hz), 4,78 (1 H, s a), 6,79 (1 H, d, *J* 81,1 Hz).

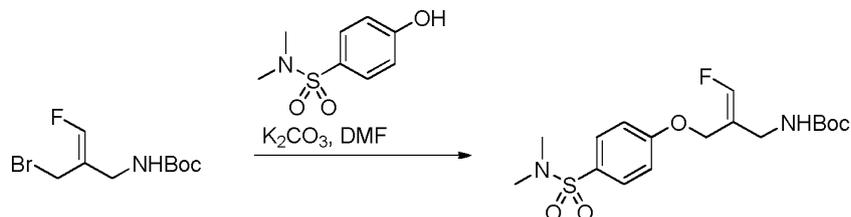
15 EJEMPLO 2

Procedimiento A: Preparación de 2-((4-(dimetilcarbamoyl)fenoxi)-metil)-3-fluoroalilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo

20 A una solución en agitación vigorosa de 2-(bromometil)-3-fluoroalilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo (430,0 mg, 1,60 mmol) y carbonato potásico (332,5 mg, 2,41 mmol) en DMF seco (2,0 ml) a temperatura ambiente en atmósfera de N<sub>2</sub> se le añadió 4-hidroxi-*N,N*-dimetilbenzamida (291,4 mg, 1,76 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se repartió entre agua (40 ml) y acetato de etilo (20 ml) y la capa acuosa se extrajo con más acetato de etilo (2 x 20 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado (40 ml) y salmuera (40 ml), se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron a presión reducida. La purificación del material en bruto sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 60% en *n*-hexano seguido de acetato de etilo al 75% en *n*-hexano dio 2-((4-(dimetilcarbamoyl)fenoxi)metil)-3-fluoroalilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo (520,0 mg, 92%) en forma de un aceite incoloro. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) δppm: 1,44 (9 H, s), 3,07 (6 H, s a), 3,78 (2 H, s a), 4,74 (2 H, dd, *J* 2,7, 0,8 Hz), 4,80 (1 H, s a), 6,75 (1 H, d, *J* 82,7 Hz), 6,95 (2 H, d, *J* 8,9 Hz), 7,42 (2 H, d, *J* 8,8 Hz).

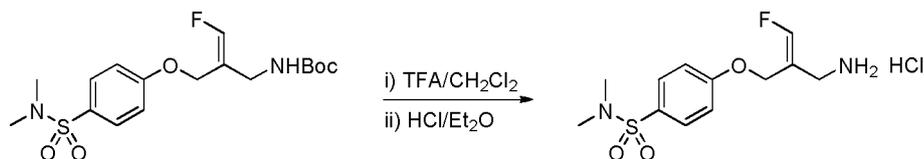
Procedimiento B: Preparación de clorhidrato de (*Z*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N,N*-dimetilbenzamida (compuesto 18 como ejemplo de referencia)

40 A una solución en agitación de 2-((4-(dimetilcarbamoyl)-fenoxi)metil)-3-fluoroalilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo (520,0 mg, 1,48 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (8,0 ml) a temperatura ambiente se le añadió ácido trifluoroacético (2,0 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Todos los volátiles se eliminaron al vacío y el residuo se coevaporó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 ml) para eliminar el ácido trifluoroacético. El aceite resultante se recogió en acetato de etilo (3,0 ml) y después se añadió HCl etéreo (2,0 M en éter dietílico; 1,0 ml, 2,0 mmol). El precipitado formado se aisló y se secó a presión reducida para proporcionar clorhidrato de (*Z*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N,N*-dimetilbenzamida (301 mg, 71%) en forma de un sólido de color amarillo claro; p.f. = 135 - 137 °C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; MeOD) δppm: 3,06 (3 H, s a), 3,10 (3 H, s a), 3,71 (2 H, d, *J* 3,0 Hz), 4,88 (2 H, dd, *J* 2,8, 0,8 Hz), 7,11 (2H, d, *J* 8,9 Hz), 7,13 (1 H, d, *J* 80,8 Hz), 7,45 (2 H, d, *J* 8,9 Hz).

Procedimiento C: Preparación de 2-((4-(*N,N*-dimetilsulfamoil)fenoxi)metil)-3-fluoroalilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo

- 5 A una suspensión en agitación vigorosa de 2-(bromometil)-3-fluoroalilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo (232,0 mg, 0,87 mmol) en DMF seco (2,0 ml) a temperatura ambiente en atmósfera de N<sub>2</sub> se le añadió secuencialmente carbonato potásico (300,0 mg, 2,16 mmol) y 4-hidroxi-*N,N*-dimetilbenzamida (174,0 mg, 0,87 mmol). La suspensión resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla de reacción se repartió entre NH<sub>4</sub>Cl acuoso saturado (40 ml) y acetato de etilo (20 ml) y la capa acuosa se extrajo con más acetato de etilo (20 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentraron a presión reducida. La purificación del material en bruto sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 50% en *n*-hexano dio 2-((4-(*N,N*-dimetilsulfamoil)fenoxi)metil)-3-fluoroalilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo (279,0 mg, 83%) en forma de un aceite incoloro. RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CDCl<sub>3</sub>) δppm: 1,42 (9 H, s), 2,69 (6 H, s), 3,79 (2 H, s a), 4,76 (2 H, d, *J* 2,7 Hz), 4,81 (1 H, s a), 6,76 (1 H, d, *J* 82,6 Hz), 7,04 (2 H, d, *J* 8,9 Hz), 7,72 (2 H, d, *J* 9,0 Hz).

- 15 Procedimiento D: Preparación de clorhidrato de (*Z*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N,N*-dimetilbencenosulfonamida (compuesto 10 como ejemplo de referencia)

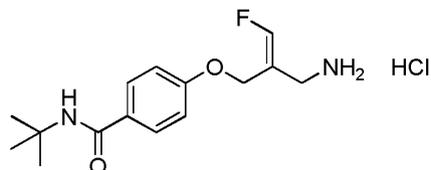


- 20 A una solución en agitación de 2-((4-(*N,N*-dimetilsulfamoil)fenoxi)metil)-3-fluoroalilcarbamato de (*Z*)-*tert*-butilo (279,0 mg, 0,72 mmol) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (4,0 ml) a temperatura ambiente se le añadió ácido trifluoroacético (1,0 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 min. Se retiraron al vacío todos los volátiles y el residuo se coevaporó con CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (2 x 20 ml). El aceite resultante se recogió en acetato de etilo/MeOH (5:1; 3,0 ml) y después se añadió HCl etéreo (2,0 M en éter dietílico; 0,5 ml, 1,0 mmol). El precipitado formado se aisló y se secó a presión reducida para proporcionar clorhidrato de (*Z*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N,N*-dimetilbencenosulfonamida (196,0 mg, 84%) en forma de un sólido de color blanco; p.f. 185 - 187 °C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; d<sub>6</sub>-DMSO) δppm: 3,39 (6 H, s a), 3,54 (2 H, s a), 4,81 (2 H, d, *J* 2,3 Hz), 7,16 (2 H, d, *J* 9,0 Hz), 7,24 (1 H, d, *J* 82,3 Hz), 7,25 (2 H, s a), 7,77 (2 H, d, *J* 9,0 Hz).

30 **EJEMPLO 3**

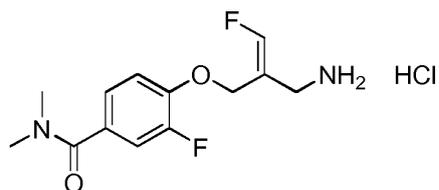
- Los siguientes compuestos se prepararon de acuerdo con los procedimientos A y B como se muestra en el ejemplo 2.

- 35 Clorhidrato de (*Z*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N-tert*-butilbenzamida (compuesto 1 como ejemplo de referencia):



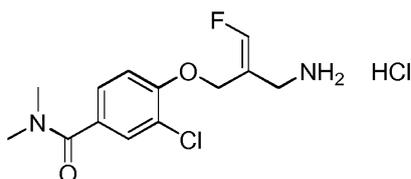
- 40 Sólido de color beis; p.f. 180 - 184 °C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CD<sub>3</sub>OD) δ ppm: 1,45 (9 H, s), 3,70 (2H, d, *J* 2,2 Hz), 4,86 (2 H, dd, *J* 2,9, 0,7 Hz), 7,06 (2 H, d, *J* 9,0 Hz), 7,13 (1 H, d, *J* 80,9 Hz), 7,76 (2 H, d, *J* 8,9 Hz).

- 45 Clorhidrato de (*Z*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-3-fluoro-*N,N*-dimetil-benzamida (compuesto 4 como ejemplo de referencia):



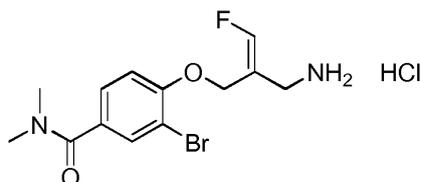
Sólido de color pardo; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  ppm: 3,04 (3 H, s a), 3,09 (3 H, s a), 3,73 (2 H, d,  $J$  2,4 Hz), 4,93 (2 H, dd,  $J$  2,9, 0,8 Hz), 7,16 (1 H, d  $J$  90,0 Hz), 7,25 - 7,29 (2 H, m)

5 Clorhidrato de (Z)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-3-cloro-*N,N*-dimetilbenzamida (compuesto 6 como ejemplo de referencia):



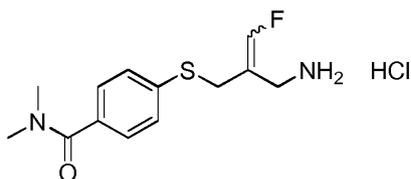
10 Sólido de color pardo; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  ppm: 3,04 (3 H, s a), 3,09 (3 H, s a), 3,76 (2 H, d,  $J$  2,3 Hz), 4,96 (2 H, dd,  $J$  2,8, 0,9 Hz), 7,16 (1 H, d, 80,6 Hz), 7,26 (1 H, d,  $J$  8,6 Hz), 7,43 (1 H, dd,  $J$  8,5, 2,1 Hz), 7,55 (1 H, d,  $J$  2,0 Hz)

15 Clorhidrato de (Z)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-3-bromo-*N,N*-dimetilbenzamida (compuesto 20 como ejemplo de referencia):



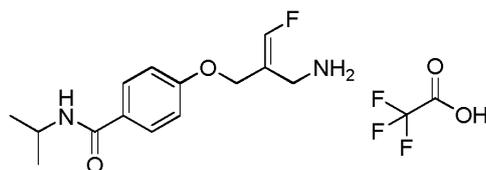
20 Sólido de color beis; p.f. 54 - 57 °C; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  ppm: 3,04 (3 H, s a), 3,09 (3 H, s a), 3,78 (2 H, d,  $J$  2,4 Hz), 4,95 (2 H, dd,  $J$  2,9, 0,9 Hz), 7,15 (1 H, d,  $J$  80,5 Hz), 7,22 (1 H, d,  $J$  8,5 Hz), 7,47 (1 H, dd,  $J$  8,5, 2,1 Hz), 7,71 (1 H, d,  $J$  2,0 Hz)

25 Clorhidrato de 4-(2-(aminometil)-3-fluoroalilio)-*N,N*-dimetilbenzamida como una mezcla de isómeros *E* y *Z* (compuestos 8*E* y 8*Z* como ejemplos de referencia):



30 Sólido incoloro; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz;  $\text{CD}_3\text{OD}$ )  $\delta$  ppm: 2,99 (3 H, s a), 3,00 (3 H, s a), 3,10 (6 H, s a), 3,64 (2 H, d,  $J$  3,0 Hz), 3,71 (2 H, dd,  $J$  3,1, 1,1 Hz), 3,77 (2 H, d,  $J$  1,0 Hz), 3,87 (2 H, dd,  $J$  2,1, 0,8 Hz), 6,82 (1 H, d,  $J$  82,1 Hz), 6,93 (1 H, d,  $J$  81,6 Hz), 7,38 (2 H, d,  $J$  8,6 Hz), 7,41 (2 H, d,  $J$  8,6 Hz), 7,48 (2 H, d,  $J$  8,6 Hz), 7,49 (2 H, d,  $J$  8,3 Hz).

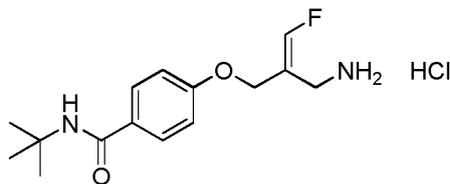
Trifluoroacetato de (E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N*-isopropilbenzamida (compuesto 39):



35 Goma de color amarillo; RMN  $^1\text{H}$  (300 MHz;  $d_6$ -DMSO)  $\delta$  ppm: 1,13 (6 H, d,  $J$  6,9 Hz), 3,58 (2 H, d,  $J$  5,1 Hz), 4,05 (1 H, septet,  $J$  6,6 Hz), 4,65 (2 H, d,  $J$  3,6 Hz), 7,02 (2 H, d,  $J$  6,9 Hz), 7,32 (1 H, d,  $J$  81,9 Hz), 7,82 (2 H, d,  $J$  6,9 Hz), 8,07 (1 H, d,  $J$  7,5 Hz), 8,18 (3 H, s a).

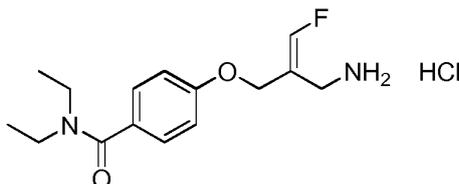
## ES 2 668 300 T3

Clorhidrato de (*E*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N*-*terc*-butilbenzamida (compuesto 23):



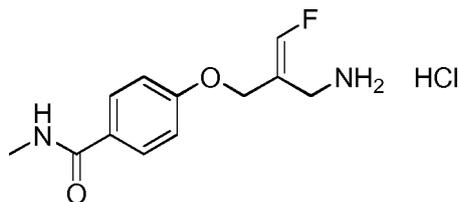
- 5 Polvo incoloro; p.f. 140 - 142°C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; d<sub>6</sub>-DMSO) δ ppm: 1,37 (9 H, s), 3,60 (2 H, d, *J* 3,9 Hz), 4,68 (2 H, d, *J* 3,6 Hz), 7,02 (2 H, d, *J* 6,9 Hz), 7,34 (1 H, d, *J* 82,5 Hz), 7,61 (1 H, s), 7,81 (2 H, d, *J* 6,9 Hz), 8,28 (3 H, s a).

Clorhidrato de (*E*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N,N*-dietilbenzamida (compuesto 24):



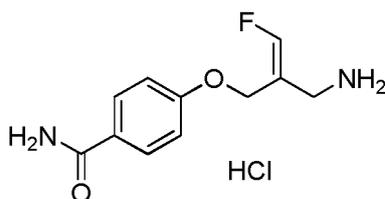
- 10 Sólido de color pardo; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CD<sub>3</sub>OD) δ ppm: 1,18 (3 H, s a), 1,25 (3 H, s a), 3,37 (2 H, s a), 3,56 (2 H, s a), 3,83 (2 H, s), 4,68 (2 H, d, *J* 3,5 Hz), 7,12 (2 H, d, *J* 8,6 Hz), 7,40 (2 H, d, *J* 8,7 Hz).

15 Clorhidrato de (*E*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N*-metilbenzamida (compuesto 25):



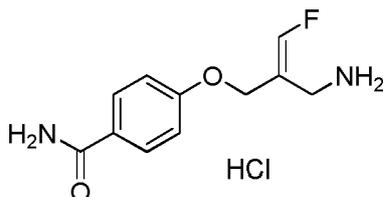
- 20 Sólido incoloro; p.f. 203 - 205°C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CD<sub>3</sub>OD) δ ppm: 2,90 (3 H, s), 3,83 (2 H, d, *J* 1,8 Hz), 4,67 (2 H, dd, *J* 3,7, 0,8 Hz), 7,07 (2 H, d, *J* 9,0 Hz), 7,24 (1 H, d, *J* 81,2 Hz), 7,81 (2 H, d, *J* 9,0 Hz).

Clorhidrato de (*Z*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)benzamida (compuesto 2 como ejemplo de referencia):



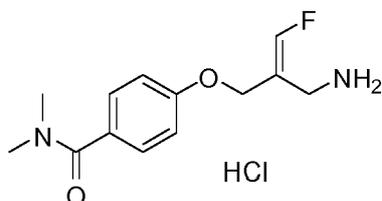
- 25 Sólido incoloro; p.f. 195 - 198°C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; MeOD) δ ppm: 3,72 (2H, d, *J* 2,2 Hz), 4,90 (2H, dd, *J* 2,9, 0,8 Hz), 7,11 (2H, d, *J* 9,0 Hz), 7,14 (1H, d, *J* 80,8 Hz), 7,90 (2H, d, *J* 9,0 Hz).

Clorhidrato de (*E*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)benzamida (compuesto 3):



- 35 Sólido incoloro; p.f. 225 - 228°C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; MeOD) δ ppm: 3,85 (2H, s), 4,70 (2H, dd, *J* 3,6, 1,0 Hz), 7,10 (2H, d, *J* 9,0 Hz), 7,26 (1H, d, *J* 81,2 Hz), 7,90 (2H, d, *J* 9,0 Hz).

Clorhidrato de (*E*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N,N*-dimetilbenzamida (compuesto 13):



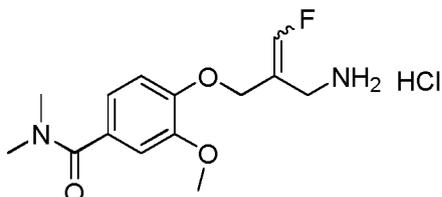
5 p.f. 185-187 °C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; d<sub>6</sub>-DMSO) δppm: 2,95 (6 H, s), 3,60 (2 H, d (a), *J* 4,2 Hz), 4,67 (2 H, d, *J* 3,6 Hz), 7,03 (2 H, d, *J* 8,7 Hz), 7,33 (1 H, d, *J* 82,2), 7,40 (2 H, d, *J* 8,7 Hz), 8,29 (3 H, s a).

Clorhidrato de (*Z*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N,N*,2-trimetilbenzamida (compuesto 26 como ejemplo de referencia):



10 RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; DMSO) δppm: 2,17 (3 H, s), 2,75 (3 H, s), 2,98 (3 H, s), 3,54 (2 H, m (a)), 4,72 (2 H, d, *J* 2,4 Hz), 6,85 (1 H, dd, *J* 2,4, 8,4 Hz), 6,89 (1 H, d, *J* 2,4 Hz), 7,10 (1 H, d, *J* 8,4 Hz), 7,21 (1 H, d, *J* 82,2 Hz), 8,15 (3 H, s).

15 Clorhidrato de 4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-3-metoxi-*N,N*-dimetilbenzamida como una mezcla de isómeros *E* y *Z* (compuestos 7*E* y 7*Z* como ejemplos de referencia):



20 Isómero *E*

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; DMSO) δppm: 2,95 (6 H, s), 3,52 (2 H, m (a)), 3,79 (3 H, s), 4,65 (2 H, d, *J* 3,3 Hz), 6,95 - 7,09 (3 H, m), 7,24 (1 H, d, *J* 82,0 Hz), 8,25 (3 H, s).

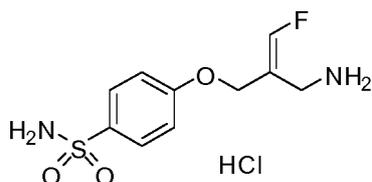
25 Isómero *Z*

RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; DMSO) δppm: 2,95 (6 H, s), 3,59 (2 H, m (a)), 3,79 (3 H, s), 4,77 (2 H, d, *J* 2,1 Hz), 6,95 - 7,09 (3 H, m), 7,29 (1 H, d, *J* 82,0 Hz), 8,25 (3 H, s).

30 EJEMPLO 4

Los siguientes compuestos se prepararon de acuerdo con los procedimientos C y D como se muestra en el ejemplo 2.

35 Clorhidrato de (*E*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)benzenosulfonamida (compuesto 11):



40 Sólido incoloro; p.f. 107 - 110°C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; MeOD) δppm: 3,85 (2H, d, *J* 2,0 Hz) 4,71 (2H, dd, *J* 3,6, 0,8 Hz), 7,16 (2H, d, *J* 9,0 Hz), 7,27 (1H, d, *J* 81,5 Hz), 7,88 (2H, d, *J* 9,0 Hz).

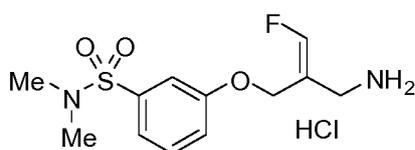
Clorhidrato de (*E*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N,N*-dimetilbencenosulfonamida (compuesto 14):



5 p.f. 178-180°C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; d<sub>6</sub>-DMSO) δppm: 2,57 (6 H, s), 3,61 (2 H, d (a), *J* 2,1 Hz), 4,73 (2 H, d, *J* 3,3 Hz), 7,22 (2 H, d, *J* 8,7 Hz), 7,36 (1 H, d, *J* 82,2 Hz), 7,71 (2 H, d, *J* 8,7 Hz), 8,29 (3 H, s a).

Clorhidrato de (*Z*)-3-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N,N*-dimetilbencenosulfonamida (compuesto 15 como ejemplo de referencia):

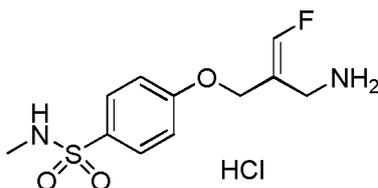
10



Sólido de color blanquecino; p.f. 140 - 142 °C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; CD<sub>3</sub>OD) δ ppm: 2,70 (6 H, s), 3,71 (2 H, d, *J* 2,3 Hz), 4,90 (2 H, dd, *J* 2,9, 0,8 Hz), 7,14 (1 H, d, *J* 80,8 Hz), 7,31 - 7,62 (4 H, m).

15

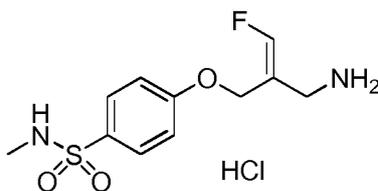
Clorhidrato de (*E*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N*-metilbencenosulfonamida (compuesto 28):



20 Sólido de color beis; p.f. 143 - 146°C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; MeOD) δppm: 2,51 (3H, s), 3,85 (2H, s), 4,73 (2H, d, *J* 3,3 Hz), 7,19 (2H, d, *J* 8,8 Hz), 7,27 (1H, d, *J* 81,0 Hz), 7,80 (2H, d, *J* 8,7 Hz).

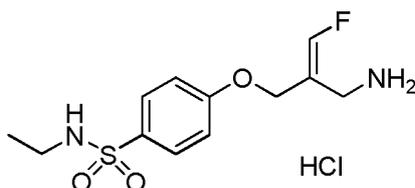
Clorhidrato de (*Z*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N*-metilbencenosulfonamida (compuesto 29 como ejemplo de referencia):

25



30 Sólido incoloro; p.f. 178 - 180°C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; d<sub>6</sub>-DMSO) δppm: 2,38 (3H, d, *J* 5,0 Hz), 3,55 (2H, s a), 4,81 (2H, d, *J* 2,3 Hz), 7,20 (2H, d, *J* 8,9 Hz), 7,25 (1H, d, *J* 82,0 Hz), 7,34 (1H, q, *J* 5,1 Hz), 7,73 (2H, d, *J* 8,9 Hz), 8,15 (3H, s a).

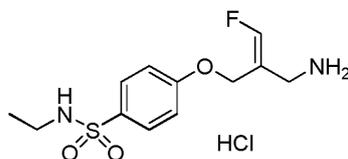
Clorhidrato de (*E*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N*-etilbencenosulfonamida (compuesto 30):



35

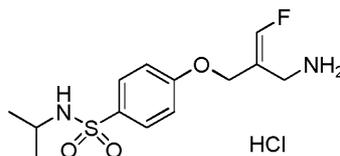
Sólido incoloro; p.f. 80 - 85°C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; MeOD) δppm: 1,06 (3H, t, *J* 7,3 Hz), 2,88 (2H, q, *J* 7,2 Hz), 3,85 (2H, d, *J* 2,0 Hz), 4,72 (2H, dd, *J* 3,6, 0,8 Hz), 7,18 (2H, d, *J* 9,0 Hz), 7,27 (1H, d, *J* 81,0 Hz), 7,82 (2H, d, *J* 9,0 Hz).

Clorhidrato de (*Z*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N*-etilbencenosulfonamida (compuesto 31 como ejemplo de referencia):



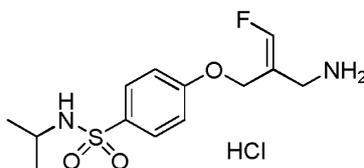
5 Sólido de color blanco; p.f. 65 - 67 °C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; d<sub>6</sub>-DMSO) δppm: 0,96 (3H, t, *J* 7,2 Hz), 2,74 (2H, cd, *J* 7,0, 7,2 Hz), 3,55 (2H, s a), 4,80 (2H, s a), 7,19 (2H, d, *J* 8,8 Hz), 7,25 (1H, d, *J* 81,9 Hz), 7,44 (1H, t, *J* 5,5 Hz), 7,74 (2H, d, *J* 8,7 Hz), 8,16 (3H, s a).

10 Clorhidrato de (*E*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N*-isopropilbencenosulfonamida (compuesto 32):



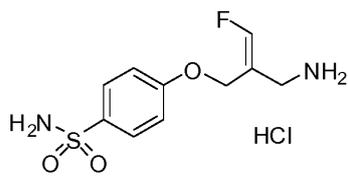
15 Sólido incoloro; p.f. 151 - 153 °C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; MeOD) δppm: 1,03 (6H, d, *J* 6,6 Hz), 3,33 (1H, m), 3,85 (2H, s), 4,72 (2H, d, *J* 3,8 Hz), 7,17 (2H, d, *J* 9,0 Hz), 7,27 (1H, d, *J* 80,9 Hz), 7,83 (2H, d, *J* 8,9 Hz).

Clorhidrato de (*Z*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-*N*-isopropil-bencenosulfonamida (compuesto 33 como ejemplo de referencia):



20 Sólido de color blanco; p.f. 50 - 52 °C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; d<sub>6</sub>-DMSO) δppm: 0,94 (6H, d, *J* 6,5 Hz), 3,18 (1H, m), 3,56 (2H, s a), 4,81 (2H, s a), 7,18 (2H, d, *J* 8,9 Hz), 7,25 (1H, d, *J* 81,9 Hz), 7,46 (1H, d, *J* 7,1 Hz), 7,76 (2H, d, *J* 8,9 Hz), 8,09 (3H, s a).

25 Clorhidrato de (*Z*)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)bencenosulfonamida (compuesto 9 como ejemplo de referencia):



30 p.f. 227-230 °C; RMN <sup>1</sup>H (300 MHz; d<sub>6</sub>-DMSO) δppm: 3,54 (2 H, a), 4,80 (2 H, s), 7,24 (1 H, d, *J* 82,2 Hz), 7,15 (2 H, d, *J* 8,7 Hz), 7,26 (2 H, s), 7,77 (2 H, d, *J* 8,7 Hz), 8,14 (3 H, s a).

#### EJEMPLO 5

35 Método para determinar la capacidad de los compuestos de fórmula II para inhibir a SSAO/VAP-1 humana recombinante

Se probaron los efectos inhibidores de todos los compuestos de fórmula II contra SSAO/VAP-1 humana recombinante usando el método colorimétrico acoplado descrito para monoamina oxidasa, amina oxidadas que contienen cobre y enzimas relacionadas (Holt A. y Palcic M., A peroxidase-coupled continuous absorbance plate-reader assay for flavin monoamine oxidases, copper-containing amine oxidases and related enzymes. *Nat. Protoc.* 2006, 1, 2498-2505). En resumen, se ensambló un molde de ADNc clonado correspondiente a los restos 34-763 de SSAO/VAP-1 y que incorpora una secuencia de Ig kappa (κ) de ratón, marcador epítópico Flag N-terminal y el sitio de escisión del virus del grabado del tabaco (TEV), en un vector de expresión de mamífero (pLO-CMV) de Genent AG. Este vector que contiene restos de SSAO/VAP-1 humana se transfectó en la línea celular mutante para glucosilación de CHO-K1, Lec 8. Se aisló un clon que expresaba de manera estable SSAO/VAP-1 humana y se

5 cultivó a gran escala. Se purificó SSAO/VAP-1 humana activa y se recuperó usando cromatografía de  
 inmunofinidad. Esta se usó como fuente de actividad de SSAO/VAP-1. Se llevó a cabo un ensayo colorimétrico de  
 alto rendimiento usando un formato de 96 o 384 pocillos. En resumen, en un ensayo en placa de ensayo de 96  
 pocillos, se añadieron 50 µl en cada pocillo de SSAO/VAP-1 humana purificada (0,25 µg/ml) en tampón de NaPO<sub>4</sub>  
 0,1 M (pH 7,4). Los compuestos se disolvieron en DMSO y se evaluaron en una curva de respuesta a la  
 concentración (CRC) con 4-9 puntos de datos, normalmente en el intervalo micromolar o nanomolar después  
 10 de incubación con SSAO/VAP-1 humana durante 30 min a 37°C. Después de 30 min de incubación, se añadieron 50 µl  
 de la mezcla de reacción que contenía bencilamina 600 µM (Sigma Aldrich), Amplex Red 120 µM (Sigma Aldrich) y  
 1,5 U/ml de peroxidasa de rábano picante (Sigma Aldrich) preparada en tampón NaPO<sub>4</sub> 0,1 M (pH 7,4) a los pocillos  
 correspondientes. Se leyeron las unidades de fluorescencia (URF) cada 2,5 min durante 30 min a 37°C, con  
 excitación a 565nm y emisión a 590 (Optima; BMG labtech). Se calculó la pendiente de la cinética para cada pocillo  
 usando el programa informático para el análisis de datos MARS (BMG Labtech) y este valor se usó para deducir el  
 valor de CI<sub>50</sub> (Dotmatics). Los resultados se muestran en la tabla 2.

15

Tabla 2

Actividades inhibitoras sobre SSAO/VAP-1, MAO-B y DAO de los ejemplos de compuestos de la invención y compuestos de comparación				
Compuesto (* indica un ejemplo de referencia)	CI <sub>50</sub> de actividad sobre MAO-B humana (micromolar)	CI <sub>50</sub> de la actividad de SSAO/VAP-1 humana expresada en células HMEC (nanomolar)	CI <sub>50</sub> de la actividad de SSAO/VAP-1 endógena en grasa de rata (nanomolar)	CI <sub>50</sub> de la actividad de diamina oxidasa humana (micromolar)
1*	< 1	< 100	< 100	< 1
2*	> 1	< 100	< 100	< 0,1
3*	> 10	< 100	< 100	> 1
4*	> 0,1	< 100	< 100	< 1
6*	> 1	< 100	NT	< 1
7*	> 10	< 100	NT	< 1
8*	> 1	< 100	NT	NT
9*	> 10	< 100	< 100	< 1
10*	> 10	< 100	< 100	> 1
11	> 10	< 100	< 100	> 10
13	> 0,1	< 100	< 100	> 1
14	> 10	< 100	< 100	> 10
15*	> 100	< 100	< 100	NT
18*	> 0,1	< 100	< 100	< 0,1
20*	> 1	< 100	NT	< 1
23	> 1	< 100	< 100	> 10
24	> 1	< 100	< 100	> 10
25	> 1	< 100	< 100	< 1
26*	> 1	< 100	NT	< 1
28	> 10	< 100	< 100	> 10
29*	> 10	< 100	< 100	> 1
30	> 10	< 100	< 100	> 10
31*	> 1	< 100	< 100	< 1
32	> 10	< 100	< 100	> 10
33*	> 10	< 100	< 100	< 1
Mofegilina	5 nM	19	6	> 10

## EJEMPLO 6

Método para determinar la capacidad de los compuestos de fórmula II para inhibir a SSAO/VAP-1 humana recombinante expresada en células HMEC

5 La actividad de SSAO/VAP-1 se determinó usando un método similar al descrito en el ejemplo 5, salvo por la fuente de SSAO/VAP-1 humana. Se transfectó ANDpc-DEST40-hSSAO/VAP-1 en células HMEC usando lipofectamina (Invitrogen Ltd). Se seleccionó un clon que expresaba de manera estable SSAO/VAP-1 humana y se almacenó en nitrógeno líquido hasta que se necesitó el lisado celular para el ensayo colorimétrico. En resumen, se cultivaron  
 10 células HMEC que expresaban SSAO/VAP-1 humana en varias placas de Petri de 10 cm, una vez que las células alcanzaron una confluencia del 100%, se recogieron las células y se prepararon homogeneizados. Las células se lavaron dos veces con 5 ml de tampón HES enfriado (HEPES 20 mM, EDTA 1 mM, sacarosa 250 mM, pH 7,4). Se incubaron el tampón HES que contenía inhibidor de proteasa 1x (Sigma Aldrich) y las células sobre hielo durante 3  
 15 min. Se retiró el tampón y se rasparon las células y se transfirieron a un tubo de centrifugación. Los lisados celulares se prepararon haciéndolas pasar a través de una aguja del calibre 23 10 veces seguido de una aguja del calibre 27 10 veces. Como alternativa, los lisados se prepararon usando un homogeneizador IKA Ultra-Turrax T 10 durante 3 min para cada 10 ml de suspensiones de células. Después, se centrifugaron las células durante 5 min a 300xg. El sobrenadante transparente se transfirió a un nuevo tubo de centrifugación y se almacenó a -80 °C hasta que se llevó a cabo el ensayo colorimétrico. Antes del ensayo, se añadió pargilina 0,5 mM para inhibir cualquier actividad de  
 20 MAO residual. El ensayo se llevó a cabo como se describe en el ejemplo 5. En resumen, se incubaron 50 µl de lisado celular con los compuestos de ensayo durante 30 min a 37°C. Se añadieron las mezclas de reacción y se leyó la cinética como se describe de manera detallada en el ejemplo 5. La tabla 2 muestra los datos de varios compuestos de fórmula II.

## EJEMPLO 7

Método para determinar la capacidad de los compuestos de fórmula II para inhibir a SSAO/VAP-1 en homogeneizado de grasa de ratón y de rata

30 Se extrajo quirúrgicamente grasa abdominal de ratones BALB/c y ratas Wistar o Sprague Dawley, que es un tejido rico en SSAO/VAP-1. Por cada gramo de tejido de grasa abdominal del animal, se añadió 1 ml de tampón NaPO4 0,1 M (pH 7,4). Los tejidos se homogeneizaron usando un homogeneizador IKA Ultra-Turrax T 10 durante 3 minutos, y el homogeneizado se centrifugó durante 15 min a 3000 xg. La capa intermedia (sobrenadante transparente) se descartó sin alterar la capa superior (alto contenido en grasa) o los restos en la parte inferior del tubo. La actividad  
 35 de SSAO/VAP-1 se determinó comprobando la señal fluorescente. Se determinaron los valores de  $K_m/V_{m\max}$  y se separó en alícuotas el homogeneizado de grasa y se almacenó a -80 °C hasta que se llevaron a cabo los ensayos. El ensayo se llevó a cabo de un modo similar al empleado para SSAO/VAP-1 humana (ejemplo 5), salvo por que las concentraciones de sustrato (bencilamina) usadas para el homogeneizado de grasa de ratón y el homogeneizado de grasa de rata fueron de 80 µM y 30 µM, respectivamente. Los resultados se muestran en la tabla 2.

## EJEMPLO 8

Método para determinar la capacidad de los compuestos de fórmula II para inhibir a MAO-B humana recombinante

45 Se comprobó la especificidad de los compuestos de la invención determinando su capacidad para inhibir las actividades de MAO-B *in vitro*. Se usó MAO-B humana recombinante (0,06 mg/ml; Sigma Aldrich) como fuente de actividad enzimática de MAO-B. El ensayo se llevó a cabo de un modo similar al empleado para SSAO/VAP-1 humana (ejemplo 5), salvo por que el sustrato, bencilamina, se usó a 100 µM. La tabla 2 muestra datos para varios compuestos de fórmula II.

## EJEMPLO 9

Método para determinar la capacidad de los compuestos de fórmula II para inhibir a diamina oxidasa humana recombinante

55 Se conocen tres genes humanos que codifican amina oxidasas que contienen cobre. La diamina oxidasa (DAO) es una de las enzimas producidas por el gen AOC1, nombrado de este modo por su preferencia de sustrato por las diaminas. Se comprobó la especificidad de los compuestos de fórmula II determinando su capacidad para inhibir las actividades de DAO *in vitro*. Se usó DAO humana recombinante (2,4 µg/ml) como fuente de actividad enzimática de  
 60 DAO. El ensayo se llevó a cabo como se describe en el método para SSAO/VAP-1 (ejemplo 5) salvo por que el sustrato usado fue putrescina 200 µM y los pocillos de control contenían aminoguanina 10 µM en lugar de mofegilina. La tabla 2 muestra datos para varios compuestos de fórmula II.

## EJEMPLO 10

Método para determinar la capacidad de los compuestos de fórmula II para inhibir a lisil oxidasa

La lisil oxidasa (LOX) es una enzima extracelular dependiente de cobre que oxida los restos de peptidil lisina e hidroxilisina en el colágeno y los restos de lisina en la elastina para producir peptidil alfa-aminoaldehído. Esta reacción catalítica puede inhibirse de manera irreversible por  $\beta$ -aminopropionitrilo ( $\beta$ APN) que se une al sitio activo de LOX (Tang S.S., Trackman P.C. y Kagan H.M., Reaction of aortic lysyl oxidase with beta-aminopropionitrile. J. Biol. Chem. 1983, 258, 4331-4338). Existen cinco miembros de la familia de LOX; estos son LOX, LOXL1, LOXL2, LOXL3 y LOXL4. Se comprobó la especificidad de los compuestos de fórmula II determinando su capacidad para inhibir diferentes fuentes de la familia de LOX *in vitro*.

Se prepararon dos fuentes de LOX enriquecidas usando (1) sobrenadante de fibroblastos pulmonares humanos normales (NHLF) y (2) homogeneizado de piel de rata. En resumen, Se cultivaron NHLF en medio completo que contenía suplementos SingeQuot con FBS al 5% (Lonza Australia Pty Ltd) y medio de FGM-2 (Lonza Australia Pty Ltd) en un matraz T175 hasta una confluencia del 60% al 80%. Una vez que se alcanzó una confluencia óptima, se lavaron las células dos veces usando suero salino tamponado con fosfato y se reemplazó por medio que contenía FBS al 0,1% y medio de FGM-2. De dos a cuatro días después, se recogió el sobrenadante y se centrifugó durante 5 min a 300xg. Los restos celulares se retiraron y se enriquecieron adicionalmente las proteínas LOX usando unidades de filtro para centrifugadora Amicon® Ultra-4, con un valor de corte de 10 kDa (Millipore Ltd). En resumen, se añadieron las muestras a las columnas y se centrifugaron a 4000xg, a 4°C hasta que se obtuvo un volumen final de 1ml. Durante el proceso de centrifugación, se intercambiaron los tampónes usando tampón de borato de sodio (Urea 1,2 M; borato de sodio 0,05 M; pH 8,2). Se probaron diferentes sustratos en el sobrenadante de LOX enriquecido y se midieron las señales fluorescentes usando un ensayo colorimétrico. Se corroboraron la especificidad del sustrato y las propiedades farmacológicas con las referencias bibliográficas publicadas. El sobrenadante enriquecido se separó en alícuotas y se almacenó a -80°C.

Las proteínas LOX se encuentran altamente expresadas en la piel (Rucker *et al* 1995), por lo que se usó homogeneizado de piel de rata como segunda fuente para determinar la actividad enzimática de LOX. En resumen, por cada gramo de tejido de piel de rata finamente cortado, se añadieron 3 ml de suero salino tamponado con fosfato. Después, se homogeneizaron los tejidos usando un homogeneizador IKA Ultra-Turrax T 10 durante 3 min. Esta y todas las homogeneizaciones posteriores se llevaron a cabo sobre hielo. El homogeneizado se centrifugó (20817xg, 30 min) a 4°C y se desechó el sobrenadante. Los tejidos se resuspendieron en tampón de urea-borato de sodio 4,2M y se homogeneizaron durante aproximadamente 3 min (2,5 ml de tampón/g). El homogeneizado se incubó durante una noche a 4°C. La muestra se centrifugó (20817xg, 30 min) y se recogieron los sobrenadantes. El sedimento de células se sometió a dos ciclos de homogeneización y se recogió el sobrenadante de cada proceso. Se agruparon todos los sobrenadantes y se enriquecieron las proteínas LOX en el homogeneizado de piel de rata usando unidades de filtro de centrifugación Amicon® Ultra-4, con un corte de 10 kDa. La muestra se sometió a intercambio del tampón hasta que se alcanzó una concentración de urea 1,2 M. Los diferentes sustratos se probaron en los homogeneizados de piel enriquecidos para LOX y se midieron las señales fluorescentes usando un ensayo colorimétrico. Se determinaron la especificidad del sustrato y las propiedades farmacológicas. El homogeneizado de piel enriquecido se separó en alícuotas y se almacenó a -80°C.

La especificidad de los compuestos de fórmula II se probó usando las dos diferentes fuentes de sobrenadante de LOX de los fibroblastos de pulmón humano normales (NHLF) y del homogeneizado de piel de rata. Los ensayos se llevaron a cabo como se describe en el método para SSAO/VAP-1 humana (ejemplo 5) salvo por que estas dos fuentes se trataron con pargilina (0,5 mM), el sustrato usado fue putrescina 10 mM, los pocillos de control contenían  $\beta$ APN 10  $\mu$ M en lugar de mofegilina y se leyó a 45°C. La tabla 2 muestra datos para varios compuestos de fórmula II.

#### EJEMPLO 11

##### Método para determinar la capacidad de los compuestos de fórmula II para inhibir a SSAO/VAP-1 cuando se administra a ratones y ratas

Se administró por vía oral (p.o.) o intravenosa (i.v.) los compuestos de la invención a diversas concentraciones que variaron de 0,1 mg/kg a 100 mg/kg. Al grupo de control se le administró el mismo volumen de vehículo p.o. o i.v. Se recogió la grasa abdominal, plasma y tejido pulmonar, hepático y aórtico en varios instantes, en el intervalo de 0 a 96 horas.

Cada tejido se homogeneizó en tampón HES con inhibidor de fosfatasa 1x (Sigma Aldrich) e inhibidor de proteasa 1x (5 ml/g para ratas y 20 ml/g para ratones). El homogeneizado se usó para medir la actividad de SSAO como se describe para SSAO/VAP-1 humana (ejemplo 5), salvo por que el homogeneizado de ratones y ratas se diluyó adicionalmente usando tampón NaPO<sub>4</sub> 0,1 M (pH 7,4) a una proporción de 1:5 y 1:20, respectivamente. Las concentraciones de sustrato (bencilamina) usadas para el homogeneizado de grasa de ratón y el homogeneizado de grasa de rata fueron de 80  $\mu$ M y 30  $\mu$ M, respectivamente. Se calculó la pendiente para la cinética de cada pocillo usando el programa informático de análisis de datos MARS. El porcentaje de respuesta se calculó usando la actividad de SSAO de tejido de animales tratados normalizado a los animales de control. Las gráficas se representaron usando el programa informático GraphPad Prism. Se usó el método descrito por Yu, P.H. et al., Involvement of SSAO-mediated deamination in adipose glucose transport and weight gain in obese diabetic KKay mice, Am J Physiol Endocrinol Metab 2004, 286: E634-E64 para determinar el grado de inhibición de SSAO/VAP-1 en

plasma. Las figuras 1A - 1E, 2A - 2E y 3A - 3E muestran el perfil de respuesta a la dosis para el compuesto 23 en todos los tejidos empleando diversos protocolos de administración.

#### EJEMPLO 12

5

##### Inhibición del edema en pata de rata inducido por carragenano

El edema de la pata inducido por carragenano es una prueba ampliamente usada para determinar la actividad antiinflamatoria de diversos agentes terapéuticos y es un sistema experimental útil para evaluar la eficacia de los compuestos para aliviar la inflamación. La inflamación se induce mediante la inyección intraplantar de 20 µl de suspensión de carragenano (al 1% en suero salino) tal como se describe (véase Roussin, A. et al., Neutrophil-associated inflammatory responses in rats are inhibited by phenylarsine oxide. Eur. J. Pharmacol, 1997, 322, 91-96 y Wise, L.E. et al., Evaluation of fatty acid amides in the carrageenan-induced paw edema model. Neuropharmacology, 2008, 54, 181-188). El compuesto de ensayo (0,1-100 mg/kg) se administra 1 hora antes de la administración del carragenano. El grosor de la pata se mide con calibres digitales electrónicos antes y 1, 3, 5, 6 y 24 horas después de la inyección del carragenano, para demostrar una inhibición mayor del 50% del edema en comparación con los animales de control.

#### EJEMPLO 13

20

##### Eficacia en un modelo de inflamación sistémica

La evaluación de la eficacia de los compuestos de la invención se lleva a cabo en un modelo de endotoxemia que consiste en la inyección intraperitoneal de una alta dosis de lipopolisacárido (LPS) (5 mg/kg) (véase Schabbauer, G. et al., PI3K-Akt pathway suppresses coagulation and inflammation in endotoxemic mice. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2004, 24, 1963-1969 y Lentsch, A.B. et al., STAT4 and STAT6 regulate systemic inflammation and protect against lethal endotoxemia. J. Clin. Invest., 2001, 108, 1475-1482). Se recogen muestras de sangre (50 µl) a las 0, 1, 2, 4 y 8 h después de la inyección del LPS y se usan para frotis de sangre y la evaluación de las citocinas. Las concentraciones plasmáticas de TNF-α, IL-6, MCP-1 y KC en los ratones tratados con el compuesto (0,1-100 mg/kg) se reducen entre un 20-80% medidas mediante ELISA. Las tasas de supervivencia de los animales se registran durante los 3 días siguientes y los ratones tratados con el compuesto muestran una tasa de supervivencia un 20% mayor.

#### EJEMPLO 14

35

##### Inhibición de la inflamación por bolsillo de aire en ratones

La inyección de carragenano induce inflamación y el bolsillo sirve como depósito de células y mediadores que pueden medirse fácilmente en el fluido que se acumula localmente.

40

Se anestesió a los ratones y se inyectaron 6 ml de aire estéril por vía subcutánea tal como se ha descrito (véase Romano, M. et al., Carrageenan-induced acute inflammation in the mouse air pouch synovial model. Role of tumour necrosis factor. Mediators Inflamm, 1997, 6, 32-38). Después de 3 días, se volvieron a inyectar 3 ml de aire estéril en los bolsillos. En el día 6, los controles recibieron 1 ml de vehículo; los controles tratados recibieron 10 mg/kg de dexametasona y el grupo de compuesto 23 recibió 2 mg/kg. 1 hora después del tratamiento, se inyectó a los ratones 1 ml de solución de carragenano en el bolsillo de aire. A las 4 horas después de la inyección de carragenano, se sacrificó a los animales y se lavaron los bolsillos con suero salino. Los exudados se usaron para el recuento de células así como para la medición de citocinas. Los ratones tratados con compuesto 23 mostraron una inflamación reducida, con una reducción significativa en el volumen de exudado y la infiltración de neutrófilos, así como una producción significativamente reducida de TNF-α e IL-6 (figura 4).

50

#### EJEMPLO 15

##### Inhibición de la migración de leucocitos en la microcirculación cremastérica

55

Se usó la preparación de cremáster de ratón para estudiar la inhibición de la migración de leucocitos a la microcirculación y al tejido conectivo, tal como se ha descrito (véase Pinho, V. et al., Tissue- and Stimulus-Dependent Role of Phosphatidylinositol 3-Kinase Isoforms for Neutrophil Recruitment Induced by Chemoattractants In Vivo. J Immunol 2007; 179:7891-7898 y Nanhekan, L. V., Microcirculatory hemodynamics of the rat cremaster muscle flap in reduced blood flow states. Ann Plast Surg. 2003 Aug;51(2):182-8).

60

En resumen, se practicó una incisión en la piel del escroto para exponer el músculo cremáster izquierdo, que posteriormente se retiró cuidadosamente de la fascia asociada. Se practicó una incisión longitudinal en la superficie ventral del músculo cremáster usando un cauterizador. Se separaron el testículo y el epidídimo del músculo subyacente y se movieron al interior de la cavidad abdominal. Después, se dispuso el músculo sobre un pedestal de visionado ópticamente transparente y se fijó a lo largo de los bordes con una sutura. El tejido expuesto se perfundió

65

superficialmente con suero salino tamponado con bicarbonato caliente. Se seleccionaron vénulas cremastéricas no ramificadas individuales (diámetro de 25-40  $\mu\text{m}$ ) y, para minimizar la variabilidad, se observó la misma sección de vénula cremastérica a lo largo del experimento. Se determinó el número de leucocitos rodantes, adherentes y emigrados tras la estimulación con KC o LPS posteriormente durante el análisis de reproducción de vídeo. Los leucocitos rodantes se definieron como aquellas células que se movían a una velocidad menor que la de los eritrocitos dentro de un vaso concreto. Se midió el flujo de células rodantes como el número de células rodantes que pasaban por un punto dado en la vénula por minuto. Se consideró que un leucocito era adherente si permanecía estacionario durante al menos 30 s y se cuantificó la adhesión total de leucocitos como el número de células adherentes a lo largo de una sección de vénula de 100  $\mu\text{m}$  de longitud. El compuesto 23 (6 mg/kg) se administró 1 hora antes de la administración de estímulo. El compuesto 23 demostró una inhibición >50% de la rodadura y la adhesión cuando se comparó con el grupo de control (figura 5).

#### EJEMPLO 16

##### Inhibición de la inflamación tras la inducción de la lesión por ligadura cecal y perforación (CLP)

El procedimiento CLP implicó una laparotomía y la ligadura del ciego, distal respecto de la válvula ileocecal, tal como se ha descrito (véase Martín, E. et al Phosphoinositide-3 Kinase y Activity Contributes to Sepsis and Organ Damage by Altering Neutrophil Recruitment Am. J. Respir. Crit. Care Med. Septiembre de 2010 182 (6) 762-773 y Lutterloh, E.C., Inhibition of the RAGE products increases survival in experimental models of severe sepsis and systemic infection. Crit Care. 2007; 11(6):R122).

Se punzó el ciego con una aguja para inducir una septicemia moderada; después de la punción, se extrajo de cada punción una pequeña cantidad de material fecal. Los animales con tratamiento simulado se sometieron a una laparotomía sin manipulación del ciego. El compuesto 23 se administró 6 horas antes de la punción. Después de la ligadura y la punción, se reintrodujo el ciego en el abdomen, se cerraron las incisiones peritoneales y cutáneas y se dejó que se recuperasen los animales. Dieciocho horas después de la cirugía CLP/simulada, se sacrificó a una proporción de los animales de cada grupo y se efectuó un lavado de los pulmones. El lavado se centrifugó para aislar las células inflamatorias para un análisis celular diferencial, mientras que se usó una alícuota separada para contar el número de células vivas total usando un hemocitómetro y microscopía óptica. La supervivencia se monitorizó a lo largo de 7 días. En comparación con el grupo tratado con vehículo que mostró una incidencia de letalidad del 50%, los ratones tratados con compuesto lograron una reducción estadísticamente significativa de la letalidad, sobreviviendo un 90% de los ratones en el día 7 (figura 6B). Además, se observó el efecto inhibitorio del compuesto sobre el componente inflamatorio de la enfermedad por la reducción en los linfocitos totales en el BALF (figura 6A).

#### EJEMPLO 17

##### Inhibición de la colitis inducida químicamente

Este procedimiento se emplea para seleccionar compuestos que inhiben el desarrollo de colitis en comparación con los controles usando el modelo de colitis inducida por TNBS (véase Maslowski, K.M. et al., Regulation of inflammatory responses by gut microbiota and chemoattractant receptor GPR43. Nature, 2009. 461, 1282-1286). En resumen, se sensibiliza a los animales aplicando una mezcla de acetona/aceite de oliva (50:50) con TNBS (50:50 en total) sobre la piel afeitada entre los homóplatos. Siete días después, se expuso a los ratones por vía intra-rectal con 2,5 mg de TNBS con etanol al 50%, a 3,5 cm desde el borde anal. Se sometió a los ratones a ayuno durante una noche antes de la exposición intra-rectal y se les administró dextrosa al 5% en el agua de bebida. Se analiza a los ratones 3 días después de la exposición a TNBS.

La colitis también se induce mediante sal de sulfato sódico de dextrano (DSS), tal como se ha descrito (véase Vieira, A.T. et al., Treatment with a novel chemokine-binding protein or eosinophil lineage-ablation protects mice from experimental colitis. Am. J. Pathol, 2009. 175. 2382-2891). Los ratones reciben DSS al 4% (p/v) en su agua de bebida a voluntad durante 7 días, y después se cambia a agua de bebida autoclavada. Los compuestos se administran a lo largo del periodo experimental a 0,1-100 mg/kg. Los ratones son sacrificados en el séptimo día y se analiza el colon. Para los estudios de supervivencia, se efectúa un seguimiento de los ratones durante 25 días después de iniciarse el tratamiento con DSS. Los compuestos inhiben la progresión de la enfermedad, según se evalúa por una menor pérdida de peso (20%) y una reducción en los síntomas clínicos. También retrasan la presencia de sangre en las heces y en la pérdida de firmeza. El análisis histológico de las secciones de colon demuestra una inflamación >30% menor. La medición de las citocinas muestra una inhibición de hasta el 70% de la producción de IL5, IL6 y TNF $\alpha$ .

#### EJEMPLO 18

##### Inhibición de la lesión hepática inducida por ConA en ratones

Las enfermedades hepáticas autoinmunitaria incluyen hepatitis autoinmunitaria (AIH), una forma distinta de la enfermedad inflamatoria hepática aguda y crónica en la que se ha observado que las reacciones inmunitarias contra antígenos del hospedador son el principal mecanismo patológico. La AIH puede ocasionar una enfermedad hepática grave, tal como cirrosis hepática. La lesión específica de hígado inducida por ConA es un modelo animal experimental, que se ha estudiado intensamente en la patogénesis de la lesión hepática. Se considera que la inmunidad mediada por linfocitos T y la posterior liberación de TNF- $\alpha$  desempeña un papel importante en esta enfermedad.

Se administran 10 mg/kg de concanavalina A (ConA) por vía intravenosa en suero salino. A los ratones de control se les inyecta suero salino. Las transaminasas y la fosfatasa alcalina en la sangre y el hígado se redujeron en > 40% gracias al compuesto a 0,1-100 mg/kg. Las citocinas, tales como IL-6, TNF- $\alpha$  e IL-5, se encuentran significativamente reducidas, mostrando una reducción de hasta el 75% en comparación con el control. La histopatología hepática demuestra una inflamación reducida y daño tisular en el grupo tratado con compuesto (véase Hu, X.D. et al., Preventive effects of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> against ConA-induced mouse hepatitis through promoting vitamin D receptor gene expression. *Acta Pharmacol. Sin.*, 2010, 31, 703-708; Zhang, X.L. et al., Protective effects of cyclosporine A on T-cell dependent ConA-induced liver injury in Kunming mice. *World J. Gastroenterol.*, 2001, 7, 569-571; Erhardt, A. et al., IL-10, regulatory T cells, and Kupffer cells mediate tolerance in concanavalin A-induced liver injury in mice. *Hepatology*, 2007, 475-485).

## EJEMPLO 19

### Inhibición de la patología de la enfermedad de Parkinson en ratas

#### Modelo A: Exposición sistémica a LPS para promover la neurodegeneración

La enfermedad de Parkinson es un trastorno patológico neurodegenerativo asociado con la edad caracterizado por una degeneración específica y progresiva de las neuronas dopaminérgicas. La exposición periférica al LPS, un potente inductor de la inflamación en roedores, ha demostrado dar como resultado neuroinflamación, activación persistente de la microglía, pérdida retrasada y progresiva de la dopamina de las neuronas en la sustancia negra, similar a la observada en la enfermedad de Parkinson. Pruebas recientes han relacionado la inflamación en la neurodegeneración de las neuronas dopaminérgicas nigrostriatales y se ha demostrado que el LPS la promueve (véase Qin, L. et al. Systemic LPS causes chronic neuroinflammation and progressive neurodegeneration, 2007 *Glia*, 453-462).

Se administró por vía intraperitoneal (ip) a ratas Long Evans 2 mg/kg de compuesto 9 (ejemplo de referencia) o vehículo 1 h antes de las inyecciones primera (tiempo 0 h) y tercera (tiempo 24 h) de LPS. En tiempo 0, los animales recibieron una dosis de 10 mg/kg de LPS. En tiempo 6 y 24 h, se dosificó a los animales 3 mg/kg de solución de LPS, ip. 30 h después de la primera dosis de LPS, los animales recibieron inyecciones ip de Lethabarb y se les perfundió por vía transcardíaca 400 ml de PBS a 4°C seguido de 400 ml de paraformaldehído (PFA) al 4%. Posteriormente se fijaron los cerebros durante una noche en PFA al 4% a 4°C seguido de solución de sacarosa al 20% durante 24 h. Se recogieron secciones de 30  $\mu$ m y se tiñeron para inmunofluorescencia, inmunohistoquímica y análisis por transferencia de Western. El grupo tratado con compuesto 9 (ejemplo de referencia) mostró una infiltración de neutrófilos reducida en el estriado dorso-lateral y el hipocampo y una reducción en el reclutamiento y la activación de células de la microglía (longitud, superficie y volumen de dendritas) en la sustancia negra y el estriado dorso-lateral (figura 7).

#### Modelo B: Exposición localizada a LPS para promover la neurodegeneración

Puede efectuarse una inyección directa del LPS en áreas seleccionadas del cerebro para inducir una respuesta inflamatoria localizada en el cerebro. Las neuronas dopaminérgicas son más vulnerables a la neurotoxicidad basada en inflamación y las inyecciones locales de LPS en las áreas relevantes, tales como la sustancia negra y el estriado se han usado como modelo para la enfermedad de Parkinson (véase Liu, M., y Bing, G. Lipopolysaccharide animal models for Parkinson's disease. *Parkinson's disease*, 2011, 327089; Choi, D.-Y. et al. Striatal neuroinflammation promotes Parkinsonism in rats. *PloS one*, 2009, 4(5), e5482). También se ha demostrado que el LPS promueve la degeneración de las neuronas dopaminérgicas de la sustancia negra (véase Machado, A. et al., Inflammatory animal model for Parkinson's Disease: The intranigral injection of LPS induced the inflammatory process along with the selective degeneration of nigrostriatal dopaminergic neurons. *ISRN Neurology*, 2011, 1-16).

Se inyecta una solución que contiene 2  $\mu$ l de 1 mg/ml de LPS en la sustancia negra izquierda de ratas hembra previamente anestesiadas. Se trata a los animales con 0,1-100 mg/kg de compuesto y los resultados muestran reducciones de hasta el 80% en la inflamación, con menos activación de la microglía en comparación con los animales de control. Los animales tratados con vehículo presentan pérdida de neuronas dopaminérgicas y reducciones en el contenido intracelular de dopamina (DA), efectos que se ven inhibidos de manera significativa por el compuesto. La pérdida media del sistema dopaminérgico en los grupos tratados con vehículo es de aproximadamente el 35%, mientras que en el grupo tratado con compuesto es <20%.

## EJEMPLO 20

Inhibición de la inflamación asociada con ictus en ratones

5 El desarrollo del daño tisular cerebral en el ictus está formado por un componente inmediato seguido de una  
 respuesta inflamatoria con daño secundario en el tejido tras la reperfusión. El modelo de isquemia/reperfusión imita  
 el daño en el tejido así como el componente inflamatorio (véase Hase, Y. et al., Cilostazol, a phosphodiesterase  
 10 de nailon en la arteria carótida común izquierda (CCA). Se introduce cuidadosamente hasta 11 cm desde la  
 bifurcación de la arteria carótida y se establece una oclusión proximal de la arteria cerebral media derecha. Después  
 de 90 min de oclusión, se extrae el filamento para permitir la reperfusión durante 22,5 h más. Los animales se tratan  
 con 0,1-100 mg/kg de compuesto y muestran una reducción de hasta el 50% en la agregación plaquetaria y el  
 15 apilamiento de leucocitos en los microvasos. El tratamiento reduce significativamente la tasa de mortalidad, con una  
 supervivencia >80% de los animales.

## EJEMPLO 21

Inhibición de la inflamación pulmonar aguda en el modelo inducido por LPS

20 Se indujo inflamación por instilación de LPS en los pulmones de ratones usando un método de exposición quirúrgica  
 traqueal (véase Innate immune responses to LPS in mouse lung are suppressed and reversed by neutralization of  
 GM-CSF via repression of TLR-4. Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol., 2004, L877-85; y Harrod, K.S., A.D.  
 Mounday y J.A. Whitsett, Adenoviral E3-14.7K protein in LPS-induced lung inflammation. Am. J. Physiol. Lung Cell.  
 25 Mol. Physiol., 2000, 278, L631-9). En resumen, 1 hora después del tratamiento con 10 mg/kg de dexametasona o 2  
 mg/kg de compuesto 9 (ejemplo de referencia), se anestesió a los ratones, se efectuó una incisión en la línea media  
 del cuello, las capas de músculo se separaron por disección macroscópica y se inyectó 1 ml/kg de LPS (20 mg/kg) o  
 de vehículo en la tráquea. La incisión se cerró con grapas quirúrgicas y se devolvió a los ratones a sus jaulas.

30 Seis horas después de la inyección de LPS/salino, se anestesió a los ratones, se retiraron las grapas de la herida, se  
 canuló la tráquea con una aguja roma del calibre 23G y se lavaron los pulmones ocho veces con 0,5 ml de suero  
 salino heparinizado. Se agruparon los lavados, se invirtieron cuidadosamente y se conservó una muestra para el  
 análisis diferencial de glóbulos blancos de la sangre (WBC). El resto del lavado se centrifugó, y los sobrenadantes se  
 35 usaron para el análisis de citocinas. El compuesto 9 (ejemplo de referencia) mostró una reducción significativa en la  
 infiltración de neutrófilos y una disminución de los niveles de IL-6 y TNF- $\alpha$  en comparación con los controles (figura  
 8).

## EJEMPLO 22

Inhibición de inflamación alérgica pulmonar de ratones infectados por virus

Las infecciones víricas respiratorias en las primeras etapas de la vida, de manera destacable con el virus respiratorio  
 sincitial (RSV), aumentan el riesgo de desarrollo posterior de asma infantil. La infección con el virus de la neumonía  
 45 de ratones (PVM), que pertenece a la misma familia (*Paramyxoviridae*) y género (*Pneumovirus*) que el RSV,  
 proporciona un modelo de enfermedad por RSV (véase Rosenberg H.F. et al., The pneumonia virus of mice infection  
 model for severe respiratory syncytial virus infection: identifying novel targets for therapeutic intervention. Pharmacol.  
 Ther., 2005, 105, 1-6). La inflamación alérgica de las vías respiratorias, que incluye el reclutamiento de eosinófilos,  
 es prominente en animales que se infectan por PVM siendo aún neonatos y cuando se les expone a antígeno OVA  
 (véase Siegle, J.S. et al., Early-life viral infection and allergen exposure interact to induce an asthmatic phenotype in  
 50 mice. Respir. Res., 2010, 11, 14).

En los días 1 y 2 de vida, se inocularon a los ratones por vía intranasal 2 ufp (PVM, cepa J3666  $\sim 1 \times 10^5$  ufp/ml) en 5  
 $\mu$ l de suero salino tamponado con fosfato (PBS) en las narinas externas. En los animales de control se simuló la  
 infección únicamente con PBS. La sensibilización a OVA intranasal se efectúa en los días 1 y 2 de vida o en los días  
 55 28 y 29, con 5  $\mu$ g de OVA/5  $\mu$ l de PBS i 100  $\mu$ g/40  $\mu$ l, respectivamente. Los ratones reciben exposición a aerosol de  
 bajo nivel con ovoalbúmina (concentración en masa de  $\approx 3$  mg/m<sup>3</sup> de ovoalbúmina durante 30 min/día, 3  
 días/semana durante 4 semanas). Esto va seguido de una sola exposición a nivel moderado ( $\approx 30$  mg/m<sup>3</sup> durante 30  
 minutos) para inducir los cambios de una exacerbación aguda. El fin de este estudio es evaluar el efecto  
 antiinflamatorio del compuesto (0,1 - 100 mg/kg) en ratones que tienen predisposición al desarrollo de características  
 60 del asma debido a una infección en las primeras etapas de la vida.

Se llevó a cabo un lavado broncoalveolar (BAL) para la recuperación de células luminales de las vías respiratorias.  
 Este procedimiento se logra mediante la instilación intratraqueal de 800  $\mu$ l de PBS/ratón. El número total de  
 leucocitos se cuenta usando un hemocitómetro. Se preparan portaobjetos Cytospin a partir del fluido del BAL y  
 65 después se tiñen con tinción de Wright-Giemsa para el recuento diferencial de células. Las células se clasifican  
 como células mononucleadas, eosinófilos, neutrófilos y linfocitos según criterios morfológicos estándar y se contaron

al menos 200 células por portaobjetos mediante microscopía óptica. Para la histología pulmonar, se perfunden los pulmones, se inflan y se fijan en formalina al 10% antes del análisis inmunohistoquímico. El alcance del infiltrado de leucocitos se puntúa como 0, inflamación mínima o nula; 1, inflamación leve, solo perivascular o peribronquiolar; 2, inflamación moderada, cierta implicación parenquimal; 3, inflamación marcada, implicación parenquimal ampliamente diseminada; 4, inflamación grave, tal como se ha descrito anteriormente. Los compuestos se administran a razón de 0,1 mg/kg-100 mg/kg y los animales muestran una reducción del 40-80% en la infiltración de neutrófilos, una disminución de IL-6 y TNF $\alpha$  de hasta el 30% en comparación con los controles.

#### EJEMPLO 23

##### Inhibición de la exacerbación en un modelo de asma inducida por HDM

Las infecciones respiratorias, que están causadas predominantemente por rinovirus en las personas con asma, exacerbaban la inflamación de las vías respiratorias y además contribuye a la carga de la enfermedad y al coste del cuidado sanitario. El modelo por ácaro del polvo doméstico (HDM) exacerbado por rinovirus se usó para estudiar el efecto del compuesto 23 en un modelo de asma alérgica (Collison, A. et al. The E3 ubiquitin ligase midline 1 promotes allergen and rhinovirus-induced asthma by inhibiting protein phosphatase 2A activity. Nat. Med. 2013, 19(2): 232-7).

Se sensibilizó y expuso a los ratones exponiéndolos por vía intranasal a extracto de HDM en bruto (50  $\mu$ g al día en los días 0, 1 y 2, seguido de cuatro exposiciones de 5  $\mu$ g de HDM al día desde el día 14 hasta el día 17 suministrados en 50  $\mu$ l de suero salino estéril). Se infectó a los animales (día 18, 1 d después de la última exposición a HDM) con 50  $\mu$ l de RV1B41 infeccioso o inactivado por luz (UV) (mediana de 2,5 x 10<sup>6</sup> de dosis infectiva en cultivos) por vía intranasal. Los compuestos se dosificaron a razón de 0,1-100 mg/kg 1 h antes de la exposición al rinovirus. Se sacrificó a los ratones 24 h después de la última exposición al alérgeno o al rinovirus. Se prepararon portaobjetos Cytospin a partir de fluido de lavado broncoalveolar y después se tiñeron con tinción de Wright-Giemsa para el recuento diferencial de células. Las células se clasifican como células mononucleadas, eosinófilos, neutrófilos y linfocitos según criterios morfológicos estándar y se contaron al menos 200 células por portaobjetos mediante microscopía óptica. Los animales tratados con compuesto 23 a 6 mg/kg mostraron una reducción significativa en el infiltrado de neutrófilos en el BALF (figura 9A) y una hiper-reactividad reducida en las vías respiratorias en respuesta a la exposición a metacolina de nuevo a la del grupo de control (figura 9B).

#### EJEMPLO 24

##### Inhibición de la inflamación cutánea en el modelo de psoriasis en ratones SCID

La psoriasis es una enfermedad inflamatoria cutánea caracterizada por una diferenciación epitelial anómala, una formación de capilares extensa en la dermis papilar y una acumulación de leucocitos inflamatorios, incluyendo linfocitos T, linfocitos NK y granulocitos. El trasplante de piel humana en ratones inmunocomprometidos (ratones con inmunodeficiencia severa combinada [SCID]) proporciona un modelo para estudiar la psoriasis. Usando esta estrategia, el engrosamiento epidérmico, la formación extensa de crestas de Rete y la presencia de células inflamatorias se mantiene durante un periodo de tiempo prolongado en la piel trasplantada (véase Zeigler, M. et al., Anti-CD11a ameliorates disease in the human psoriatic skin-SCID mouse transplant model: comparison of antibody to CD11a with Cyclosporin A and clobetasol propionate. Lab. Invest, 2001, 81, 1253-1261 y Nickoloff, B.J. et al., Severe combined immunodeficiency mouse and human psoriatic skin chimeras. Validation of a new animal model. Am. J. Pathol., 1995, 146, 580-588).

Se prepara a los ratones SCID (6-8 semanas de edad) para los xenoinjertos ortópticos de piel. Los xenoinjertos de piel humana (que miden 1,5 x 1,5 x 0,05 cm) se suturan en el flanco de cada ratón SCID con sutura Dexon absorbible. El vendaje se cambia cada 2 días y los animales se mantienen libres de patógenos durante el estudio. Las quimeras de piel humana/ratones SCID se sacrifican a las 4 o 6 semanas después del trasplante del xenoinjerto (ya que este periodo de tiempo asegura una aceptación y curación adecuadas). Las biopsias de los xenoinjertos se procesan para ELISA de citocinas así como para análisis histopatológico. Después del trasplante, el grupo tratado con compuesto (0,1-100 mg/kg) muestra una reducción de, 20-50% en la inflamación en la dermis y la epidermis, en comparación con el grupo tratado con vehículo. Además, se inhiben las citocinas, tales como IL-6 y TNF $\alpha$  hasta en un 80% mediante el tratamiento con el compuesto.

#### EJEMPLO 25

##### Actividad antimicrobiana - Infección por *Klebsiella pneumoniae*

Se investigó la eficacia del compuesto en un modelo de infección pulmonar causada por la bacteria gramnegativa, *Klebsiella pneumoniae*. Los resultados fueron las diferencias en las tasas de letalidad entre el compuesto y el control, los recuentos bacterianos y los índices de inflamación después de la infección pulmonar de ratones (véase Soares, A.C. et al., Dual function of the long pentraxin PTX3 in resistance against pulmonary infection with *Klebsiella pneumoniae* in transgenic mice. Microbes Infect., 2006, 8, 1321-1329).

Se dividió a ratones BALB/c (8 semanas de edad) en 3 grupos; 2 infectados y 1 no infectado. Grupos infectados: Grupo A, se administró a los animales vehículo por vía oral; Grupo B, se administró a los animales 2 mg/kg de compuesto por vía oral; y Grupo C, no se infectó a los animales. Se recogió fluido de lavado broncoalveolar (BALF) para determinar el número total de leucocitos. Se prepararon portaobjetos Cytospin a partir del fluido del BAL y después se tiñeron con tinción de Wright-Giemsa para el recuento diferencial de células. Las células se clasifican como células mononucleadas, eosinófilos, neutrófilos y linfocitos según criterios morfológicos estándar y se contaron al menos 200 células por portaobjetos mediante microscopía óptica. Para los recuentos bacterianos, se homogeneizaron los pulmones, se diluyeron en serie y se sembraron en placas de agar MacConkey. Se contaron las unidades formadoras de colonias al final de las 24 horas de incubación a 37°C. Las tasas de supervivencia animal se registraron durante los 10 días siguientes.

En comparación con el grupo tratado con vehículo que mostró una incidencia de letalidad del 45%, los ratones tratados con compuesto 23 mostraron una reducción estadísticamente significativa en la letalidad, con una supervivencia del 100% de los ratones ( $p = 0,0597$ ) después de 8 días (figura 10A). Además, se observó el efecto inhibidor del compuesto 23 en el componente inflamatorio de la enfermedad por una reducción del infiltrado de leucocitos en el BALF (figura 10B).

#### EJEMPLO 26

##### Inhibición en la enfermedad pulmonar obstructiva crónica

La enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) es un trastorno debilitante del pulmón. La enfermedad se caracteriza por una inflamación crónica de las vías respiratorias, exceso de secreción de moco, remodelado de las vías respiratorias y enfisema, que ocasiona una función pulmonar reducida y falta de aliento. La limitación del caudal de aire normalmente es progresiva y se asocia con una respuesta inflamatoria anormal de los pulmones a gases y partículas nocivas. El humo del tabaco desencadena una lesión inflamatoria por repetición que se cree que, por la acción de mediadores, tales como las proteinasas, ocasiona un daño estructural y funcional en los pulmones. Además, los pacientes con EPOC son más susceptibles a las infecciones del tracto respiratorio (véase Beckett, E.L., A new short-term mouse model of chronic obstructive pulmonary disease identifies a role for mast cell tryptase in pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol.* marzo de 2013; 131(3):752-762.e7; Guerassimov, A., The Development of Emphysema in Cigarette Smoke-exposed Mice Is Strain Dependent. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* noviembre de 2004 (170) 974-980 and Morris, A., Comparison of Cigarette Smoke-Induced Acute Inflammation in Multiple Strains of Mice and the Effect of a Matrix Metalloproteinase Inhibitor on These Responses. *JPET* diciembre de 2008 (327) 851-862).

Se expuso simultáneamente a ratones BALB/c al humo del tabaco (doce cigarrillos 3R4F de referencia [University of Kentucky, Lexington, Ky] dos veces al día y 5 veces a la semana durante 1 a 12 semanas) usando un sistema de inhalación diseñado a medida y construido para este fin, de flujo dirigido que actúa solo sobre la nariz (CH Technologies, Westwood, NJ) alojado en una campana para humos y de flujo laminar. Cada exposición duró aproximadamente 75 minutos. La exposición únicamente a través de la nariz se logró usando tubos de contención especializados que suministraron el humo y aire normal directamente a la nariz del animal. Este protocolo permitía un suministro más intensivo de humo que los sistemas de exposición de cuerpo completo. Durante los 2 primeros días, se expuso a los ratones a 1 sesión de humo con 12 inhalaciones de cada cigarrillo para permitir la aclimatación. El humo se suministró en inhalaciones de 2 segundos, con 30 segundos de aire normal entre cada inhalación. Después del día 2, se sometió a los ratones a 2 sesiones en las que se les expuso al humo de 12 cigarrillos (mañana y tarde, separadas por un periodo de recuperación). Se administró el compuesto 23 a 2 mg/kg desde la semana 6 en adelante del procedimiento experimental e inhibió significativamente el contenido de colágeno pulmonar (figura 11).

#### EJEMPLO 27

##### Inhibición de la fibrosis hepática inducida por CCl<sub>4</sub>

Se lleva a cabo un análisis del uso de inhibidores de VAP-1/SSAO para tratar enfermedades inflamatorias/fibróticas mediante el uso de un modelo de fibrosis hepática inducida por CCl<sub>4</sub>. La lesión hepática normalmente va seguida de una regeneración parenquimal completa, debido a la potencia regeneradora de los hepatocitos. Sin embargo, la activación concomitante de las células almacenadoras de grasa da lugar a la acumulación de matriz extracelular, acompañada por una necrosis recurrente de los hepatocitos, inflamación y procesos regenerativos y provoca fibrosis hepática y por consiguiente, cirrosis hepática (véase Natsume, M. et al., Attenuated liver fibrosis and depressed serum albumin levels in carbon tetrachloride-treated IL-6-deficient mice. *J. Leukoc. Biol.*, 1999, 66., 601-608.).

Se indujo fibrosis hepática en ratas Sprague Dawley (SD) macho mediante la aplicación oral de CCl<sub>4</sub> (2,5µl/g de solución de CCl<sub>4</sub> en aceite de oliva, 3 veces a la semana). Se administraron a las ratas vehículo (PBS) y el control positivo, mesilato de imatinib (2,5 mg/kg) desde el día 1 hasta el día 28 y se administró compuesto 23 (6 mg/kg) a las ratas desde el día 14 hasta el día 28. El compuesto 23 demostró una clara tendencia a reducir los niveles de tejido fibrótico, lo que se representa por una reducción en la tinción con rojo sirio (figura 12C). Además, El compuesto 23

mostró efectos protectores de la función hepática y una reducción en la inflamación, que se evidenciaron por niveles significativamente reducidos de ALT y AST en suero (figura 12A y 12B) y una reducción en la puntuación de inflamación (12D) en comparación con el grupo de solo CCl<sub>4</sub>.

## 5 EJEMPLO 28

### Inhibición de la fibrosis hepática inducida por esteatohepatitis no alcohólica (NASH)

10 Se lleva a cabo un análisis del uso de inhibidores de VAP-1/SSAO para tratar enfermedades inflamatorias/fibróticas mediante el uso de un modelo de fibrosis hepática inducida por esteatohepatitis no alcohólica (NASH). Se indujo el modelo de NASH, STAM, en 30 ratones macho mediante una sola inyección subcutánea de solución de estreptozocina 2 días después de su nacimiento y se les alimentó con dieta alta en grasas (HDF, 57% de las kcal de grasa) desde las 4 semanas de edad hasta las 10 semanas de edad. A partir de las 7 semanas de edad, se administró a los ratones por vía oral una dosis diaria de vehículo (PBS), compuesto 23 (6 mg/kg) o el control positivo, telmisartán (10 mg/kg) durante 3 semanas. El compuesto 23 redujo las puntuaciones tanto de inflamación como de enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) tras el examen clínico (figura 13A y 13B). También se redujo la fibrosis, evidenciada por una reducción en el área positiva a rojo sirio (figura 13C).

## 20 EJEMPLO 29

### Inhibición de la uveítis

25 Este procedimiento tiene como finalidad determinar la inhibición de la uveítis mediante compuestos de acuerdo con la invención. La uveítis es una enfermedad ocular inflamatoria compleja que puede ocasionar ceguera. Puede afectar a cualquier parte del ojo y se caracteriza por la acumulación de leucocitos en los tejidos oculares. Las terapias actuales para la uveítis incluyen corticosteroides y agentes quimioterapéuticos para reducir la inflamación. Sin embargo, los graves efectos secundarios de estos fármacos, tales como un aumento en la presión intraocular o la citotoxicidad limitan su uso (véase Moorthy, R.S. et al., Glaucoma associated with uveitis. Surv. Ophthalmol., 1997, 41, 361-394 y Lightman, S., New therapeutic options in uveitis. Eye 1997, 11, 222-226).

30 Se dividió a treinta (30) ratas albinas Lewis en cuatro (4) grupos. Para tres grupos de los 4, se indujo inflamación mediante una sola inyección en la almohadilla de la pata de 1 mg/kg de lipopolisacárido (LPS de *Salmonella typhimurium*). Se administraron el compuesto 23 (2 mg/kg) y vehículo (1 ml/kg) por sonda nasogástrica 1 hora antes de la inducción (día 0). El artículo de referencia (dexametasona, 2 mg/kg) se administró por inyección intravenosa (2,5 ml/kg) justo antes de la inducción (día 0). La inflamación ocular se evaluó mediante examen clínico y cuantificación de los neutrófilos, eosinófilos y proteínas en el humor acuoso, 24 h después de la inducción.

40 Examen clínico de la inflamación; Se examinó a los animales con una lámpara de ranura al inicio (día -1) y posteriormente, 24 h después de la inducción (día 1). Se graduó la inflamación en cada animal usando un sistema de puntuación como se ha descrito (Devos A. et al., Systemic antitumor necrosis factor antibody treatment exacerbates Endotoxin Induced Uveitis in the rat. Exp. Eye. Res. 1995; 61: 667-675.). Se puntuó la ausencia (0) o presencia (1) de reflejo flamígero, miosis e hipopión y se puntuó la ausencia (0) o la presencia leve (1) o grave (2) de hiperemia y células en la cámara anterior. La puntuación máxima (suma de las puntuaciones de los cinco parámetros) es 7. En el grupo tratado con el compuesto 23, se detectó una reducción del 33% en la gravedad de la inflamación ocular, en comparación con la puntuación observada para el grupo de vehículo, 24 horas después de la inducción y 25 horas después de la administración oral (figura 14A).

50 Al final de la evaluación clínica (24 h después de la inducción), se anestesió a los animales con una inyección intramuscular de una solución mixta de Rompun® (xilazina) e Imalgene® 1000 (ketamina) y se les sacrificó mediante una inyección cardíaca de una sobredosis de pentobarbital. Se recogió inmediatamente el humor acuoso de cada ojo.

55 Cuantificación de la infiltración celular en el humor acuoso; Se contaron manualmente los neutrófilos y eosinófilos infiltrados en una preparación citológica de muestras de humor acuoso diluidas 10 veces con PBS antes de la tinción de Giemsa. Se observó una reducción significativa en los eosinófilos (media  $\pm$  DTM: 8,9  $\pm$  1,7 células/ $\mu$ l, n=20) para el grupo tratado con el compuesto 23 frente al grupo tratado con el vehículo (p=0,033) (figura 14B).

## EJEMPLO 30

### Inhibición de la degeneración macular

60 La degeneración macular asociada a la edad (AMD) es la principal causa de ceguera y se produce en dos formas principales. La primera es una forma de atrofia geográfica ("seca") que se define por la degeneración de los fotorreceptores y del epitelio pigmentario retinal (RPE) próximo a la mácula, la acumulación de lipofusina (A2E) y la formación de drusas. La segunda es una forma "húmeda" que se asocia con la neovascularización corooidal (véase Randazzo, J. et al., Orally active multi-functional antioxidants are neuroprotective in a rat model of light-induced

retinal damage. PLoS One, 2011, 6 e21926 y Davis, S.J. et al., The Effect of Nicotine on Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy in a Mouse Model of Neovascular Age-Related Macular Degeneration. Retina, 2011).

Modelo A: Modelo de luz

5 Después de dos semanas de adaptación a la oscuridad, se expone a ratas de cada grupo a luz dañina durante tres horas a 1000 lux de luz fluorescente blanca fría (ratas dañadas por luz, LD). Las ratas de control en cada grupo se colocan también en el aparato de caja de luz durante tres horas, pero no se las expone a la luz (ratas no dañadas por luz, NLD). Se evaluaron los marcadores de estrés oxidativo inmediatamente después de la exposición a la luz.  
 10 Los animales tratados con 0,1-100 mg/kg de compuesto muestran una reducción >20% en el estrés oxidativo, tal como se observa mediante la evaluación de las retinas neurales, que se diseccionan (una vez sacrificados) del ojo desnucleado. Para la evaluación funcional y morfológica, se devuelve a las ratas al ambiente oscuro después de la exposición y se evalúa la función retinal mediante ERG, de 5 a 7 días después. Después del análisis ERG, se sacrifica a las ratas y se procesan inmediatamente los ojos desnucleados para analizar su morfología. El grupo  
 15 tratado con compuesto demuestra una reducción en la gravedad de la enfermedad, según se observa por reducciones en los cambios morfológicos de los ojos en comparación con los animales de control.

Modelo B: Modelo de láser

20 La CNV se induce por fotocoagulación láser en ratones con un láser de argón (tamaño del punto, 50 mm; duración, 0,05 segundos; potencia, 260 mW). Se colocan tres puntos láser en cada ojo próximos al nervio óptico. La producción de una burbuja de vaporización en el momento del láser confirma la ruptura de la BM. Se sacrifica a animales de cada grupo en los días 1, 3, 5 y 7 después del láser. En comparación con el control, los ratones tratados con compuesto (0,1-100 mg/kg) muestran una reducción significativa en el tamaño (20%) y la incidencia de la CNV  
 25 (>40%) según se determina por microscopía.

EJEMPLO 31

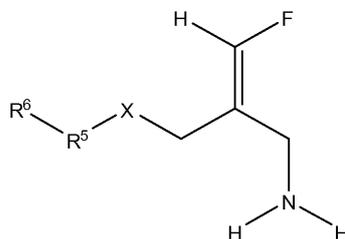
Inhibición de la progresión del cáncer

30 Se inyectan células de melanoma B16F10 ( $4 \times 10^5$  células/animal) en la región abdominal rasurada del animal, tal como se describe en Marttila-Ichihara, F. et al., Small-Molecule Inhibitors of Vascular Adhesion Protein-1 Reduce the Accumulation of Myeloid Cells into Tumors and Attenuate Tumor Growth in Mice. The Journal of Immunology, 2010, 184, 3164-3173. Se efectúa un seguimiento del crecimiento tumoral midiendo las dimensiones usando calibres electrónicos. La progresión tumoral se reduce en los animales tratados con compuesto (0,1-100 mg/kg), con un crecimiento tumoral hasta un 25% menor en comparación con el grupo de control. Los grupos tratados con compuesto muestran una acumulación atenuada de células mieloides en los tumores, mostrando una infiltración  
 35 >40% menor; además, los ratones tratados demuestran una inhibición de la neoangiogénesis.

40

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula II:



5

Fórmula II

o una sal, solvato o forma polimórfica farmacéuticamente aceptable del mismo; en donde:

10  $R^5$  es un grupo fenileno sin sustituir o un grupo fenileno sustituido por uno o más grupos seleccionados independientemente entre alquilo, halo, alcoxi y haloalquilo;  
 $R^6$  se selecciona entre



15

$R^7$  y  $R^8$  se seleccionan independientemente entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo  $C_{1-6}$  opcionalmente sustituido y cicloalquilo  $C_{3-7}$  opcionalmente sustituido; y

X es oxígeno;

20

en donde el término "alquilo" se refiere a radicales hidrocarburo saturados de cadena lineal o ramificada que tienen de 1 a 6 átomos de carbono y

en donde el término "halo" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo y

en donde el término "alcoxi" se refiere a grupos alquilo de cadena lineal o ramificada, en donde alquilo es como se ha definido anteriormente y

25

en donde la expresión "opcionalmente sustituido" significa que el grupo al que dicha expresión se refiere puede estar sin sustituir o puede estar sustituido con uno o más grupos seleccionados independientemente entre halógeno, alquilo  $C_{1-6}$ , alqueno  $C_{2-6}$ , haloalquilo  $C_{1-6}$ , alcoxi  $C_{1-6}$ , hidroxialquilo ( $C_{1-6}$ ), cicloalquilo  $C_{3-6}$ ,  $C(O)H$ ,  $C(O)OH$ ,  $NHC(O)H$ ,  $NHC(O)$ alquilo  $C_{1-4}$ ,  $C(O)$ alquilo  $C_{1-4}$ ,  $NH_2$ ,  $NH$ alquilo  $C_{1-4}$ ,  $N$ (alquilo  $C_{1-4}$ ) $_2$ ,  $NO_2$ ,  $OH$  y  $CN$ .

30

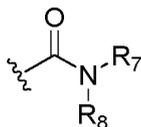
2. Un compuesto de la reivindicación 1, en donde  $R^5$  es un grupo fenileno sin sustituir o un grupo fenileno sustituido por uno o más grupos seleccionados independientemente entre metilo, flúor, cloro, bromo,  $OCH_3$  y  $CF_3$ .

35

3. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 o 2 en donde  $R^7$  como  $R^8$  son ambos hidrógeno,  $R^7$  y  $R^8$  son ambos alquilo  $C_{1-6}$  o  $R^7$  es hidrógeno y  $R^8$  es alquilo  $C_{1-6}$ .

40

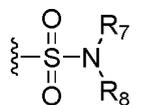
4. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde  $R^6$  es



40

en donde  $R^7$  y  $R^8$  se definen en la reivindicación 1 o 3.

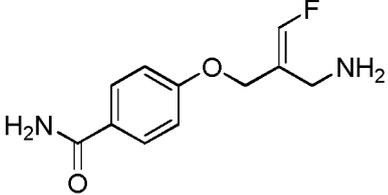
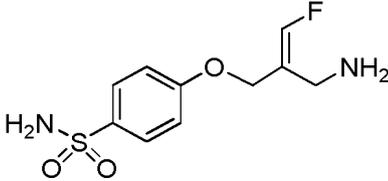
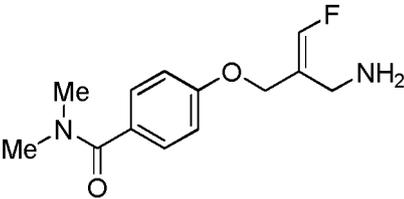
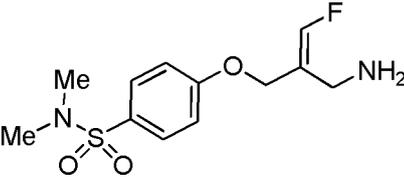
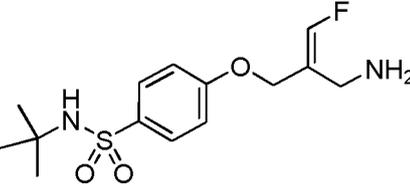
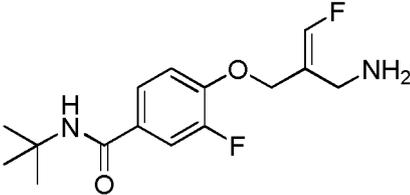
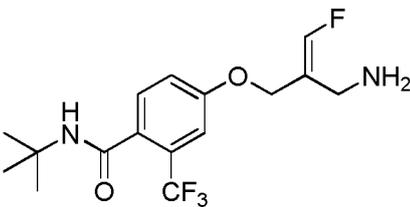
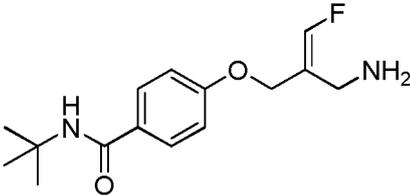
5. Un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 en donde  $R^6$  es



45

en donde  $R^7$  y  $R^8$  se definen en la reivindicación 1 o 3.

6. Un compuesto de la reivindicación 1, en donde dicho compuesto se selecciona entre el grupo que consiste en:

3		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)benzamida;
11		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)bencenosulfonamida;
13		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N,N-dimetilbenzamida;
14		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N,N-dimetilbencenosulfonamida;
17		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-terc-butilbencenosulfonamida;
19		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-terc-butil-3-fluorobenzamida;
21		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-terc-butil-2-(trifluorometil)benzamida;
23		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-terc-butilbenzamida;

24		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N,N-dietilbenzamida;
25		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-metilbenzamida;
28		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-metilbencenosulfonamida;
30		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-etilbencenosulfonamida;
32		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-isopropilbencenosulfonamida;
39		(E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-isopropilbenzamida;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

5 7. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en donde dicho compuesto es (E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-*tert*-butilbenzamida, o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

10 8. Una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7.

9. La sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la reivindicación 8 caracterizada por que es una sal de adición de ácido.

15 10. La sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la reivindicación 9 caracterizada por que la sal de adición de ácido se selecciona entre el grupo que consiste en clorhidratos, bromhidratos, sulfatos, formiatos, acetatos, lactatos, malatos, tartratos, citratos, ascorbatos, succinatos, maleatos, butiratos, valeratos y fumaratos.

11. La sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la reivindicación 10 caracterizada por que la sal de adición de ácido es una sal de clorhidrato.
- 5 12. La sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con la reivindicación 11 donde dicha sal farmacéuticamente aceptable es clorhidrato de (E)-4-(2-(aminometil)-3-fluoroaliloxi)-N-*terc*-butilbenzamida.
- 10 13. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una sal farmacéuticamente aceptable de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12 o un solvato del mismo y al menos un excipiente, portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.
- 15 14. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 8 a 12 o un solvato del mismo, para su uso en un método para el tratamiento de una enfermedad asociada con o modulada por la proteína SSAO/VAP-1, que comprende la administración a un sujeto que lo necesite de una cantidad terapéuticamente eficaz de dicho compuesto o de dicha sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde la enfermedad es inflamación, fibrosis, una enfermedad inducida por la diabetes, una enfermedad neuroinflamatoria o un cáncer.
- 20 15. El compuesto o la sal o solvato farmacéuticamente aceptable para el uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde dicha inflamación se asocia con enfermedad hepática, enfermedad respiratoria, fibrosis quística, asma o enfermedad pulmonar obstructiva crónica o una enfermedad ocular.
- 25 16. El compuesto o la sal o solvato farmacéuticamente aceptable para el uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde la enfermedad es una enfermedad inducida por la diabetes seleccionada entre el grupo que consiste en nefropatía diabética, glomeruloesclerosis, retinopatía diabética, enfermedad del hígado graso no alcohólico y neovascularización coroidal.
- 30 17. El compuesto o la sal o solvato farmacéuticamente aceptable para el uso de acuerdo con la reivindicación 14, en donde la enfermedad se selecciona entre el grupo que consiste en fibrosis quística, fibrosis hepática, cirrosis hepática, fibrosis renal, esclerodermia, fibrosis pulmonar idiopática y fibrosis inducida por radiación.
18. El compuesto o la sal o solvato farmacéuticamente aceptable para el uso de acuerdo con la reivindicación 17, caracterizado por que la enfermedad es una enfermedad de hígado graso no alcohólico, esteatohepatitis no alcohólica (NASH) o fibrosis inducida por alcohol que desemboca en cirrosis hepática.

Fig. 1(A) Grasa abdominal

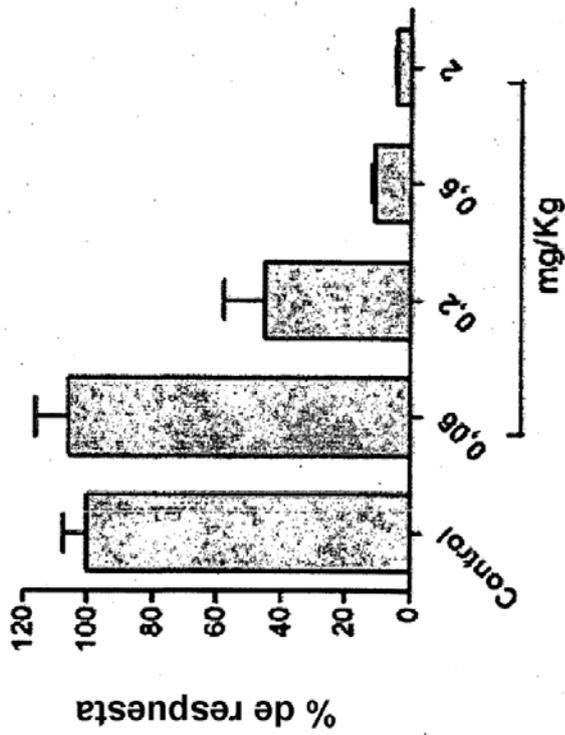


Fig. 1(B) Plasma

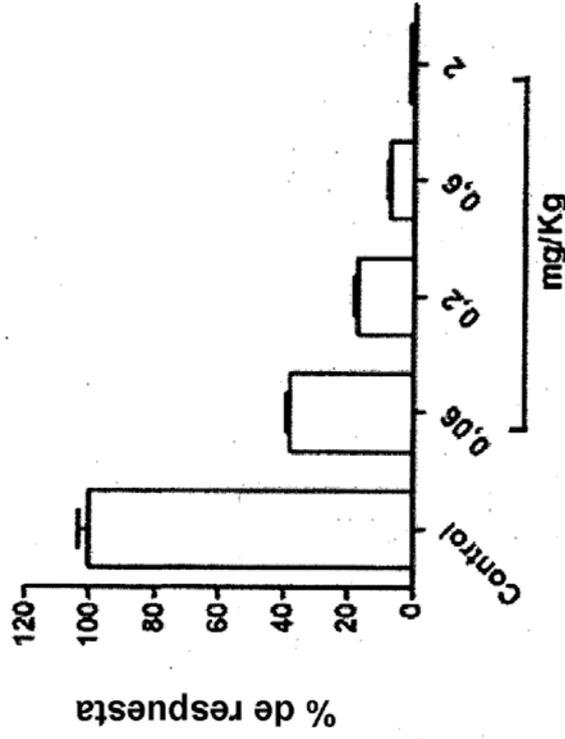


Fig. 1(D) Aorta

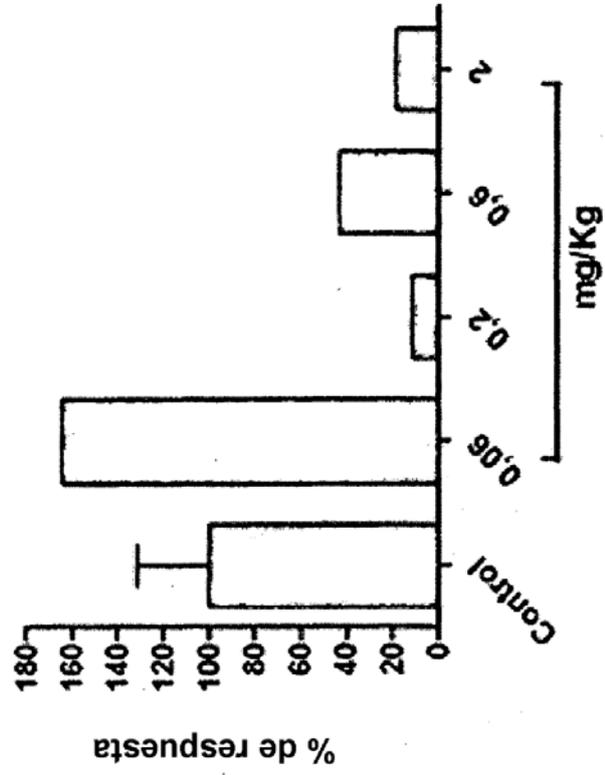


Fig. 1(C) Pulmón

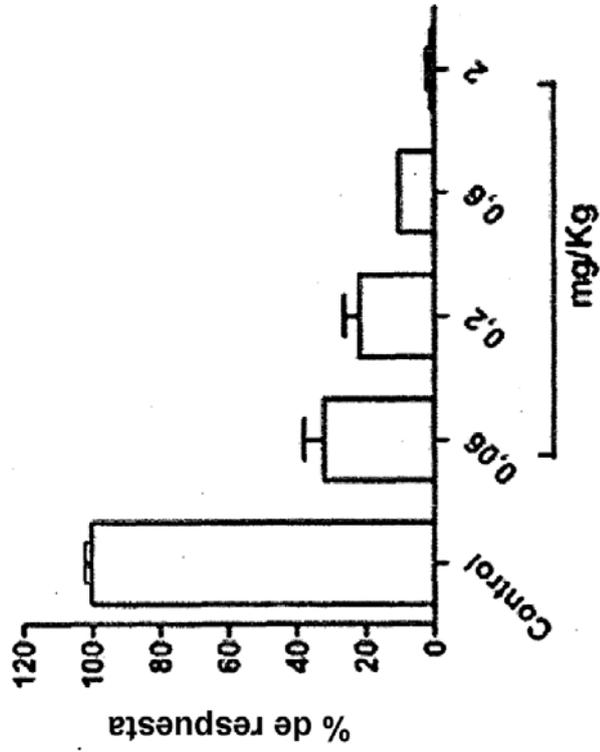


Fig. 1(E) Hígado

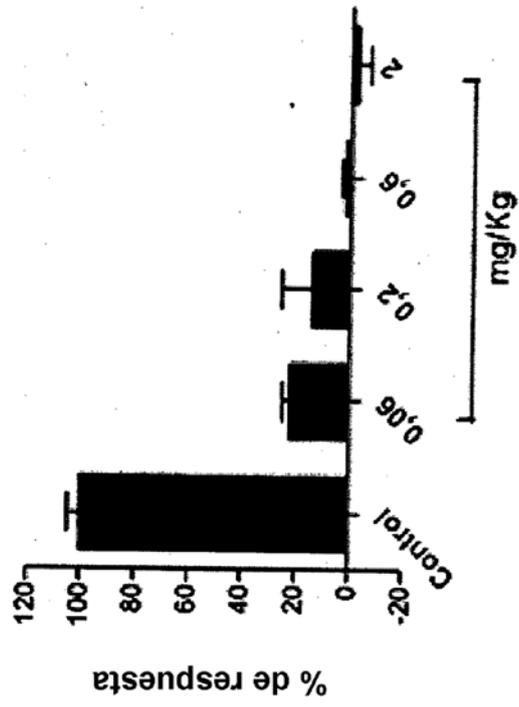


Figura 1

Fig. 2(A) Grasa abdominal

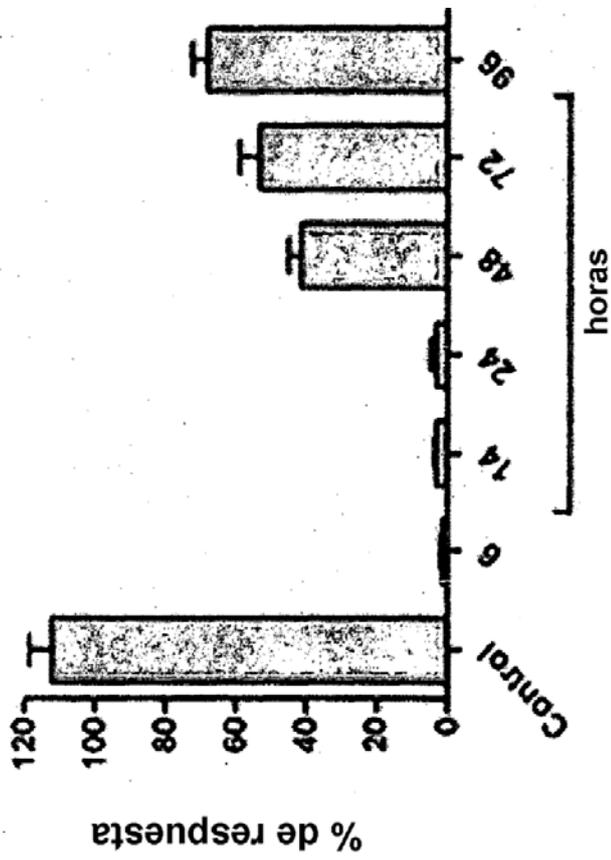


Fig. 2(B) Plasma

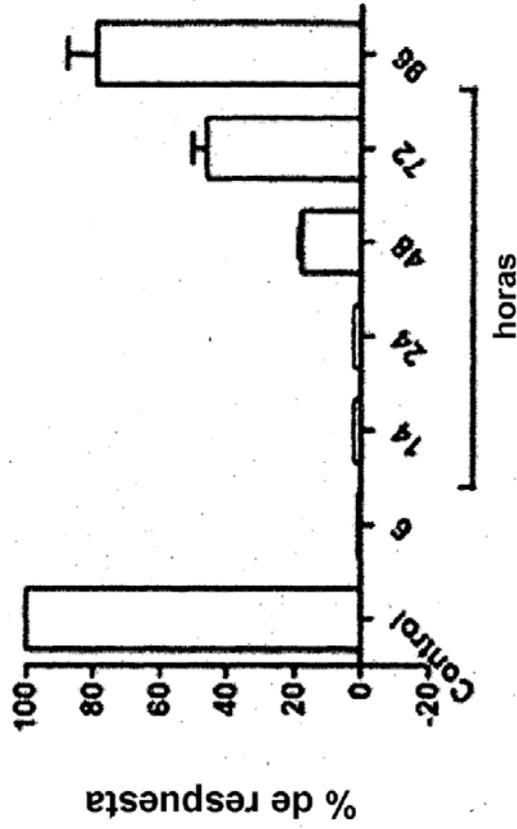


Fig. 2(D) Aorta



Fig. 2(C) Pulmón

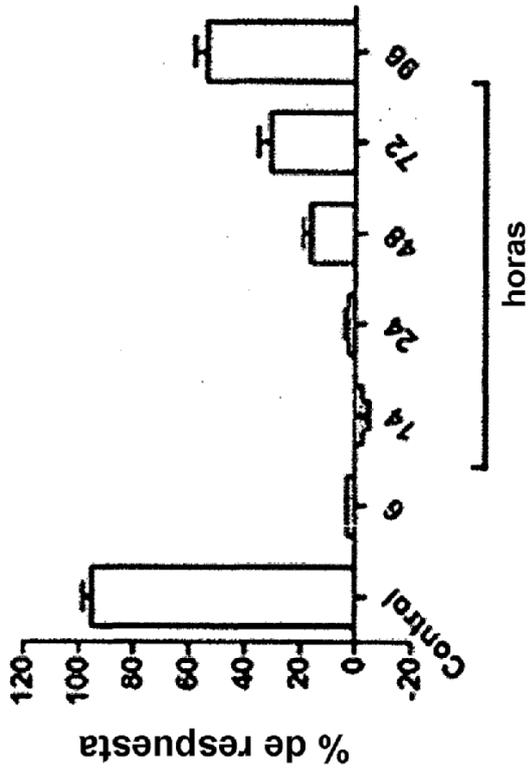


Fig. 2(E) Hígado

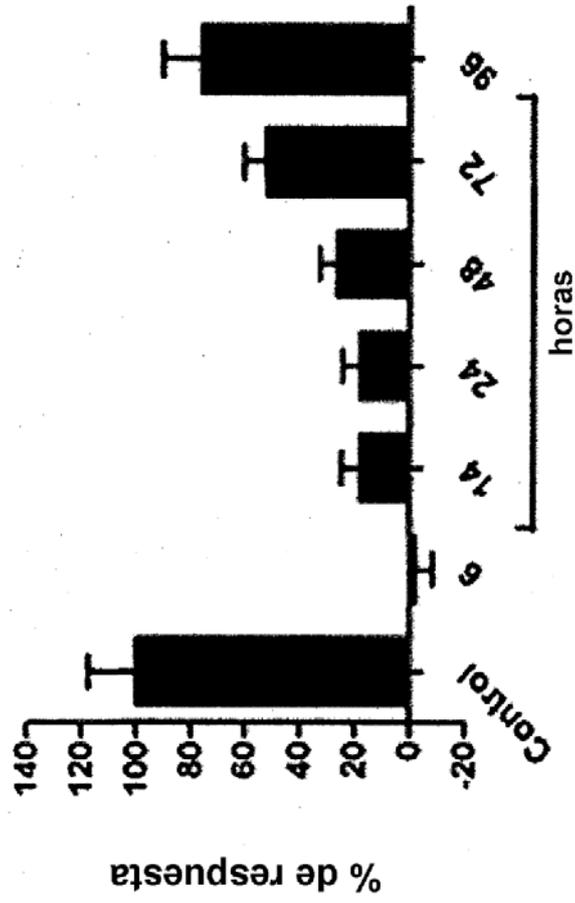


Figura 2

Fig. 3(A) Grasa abdominal

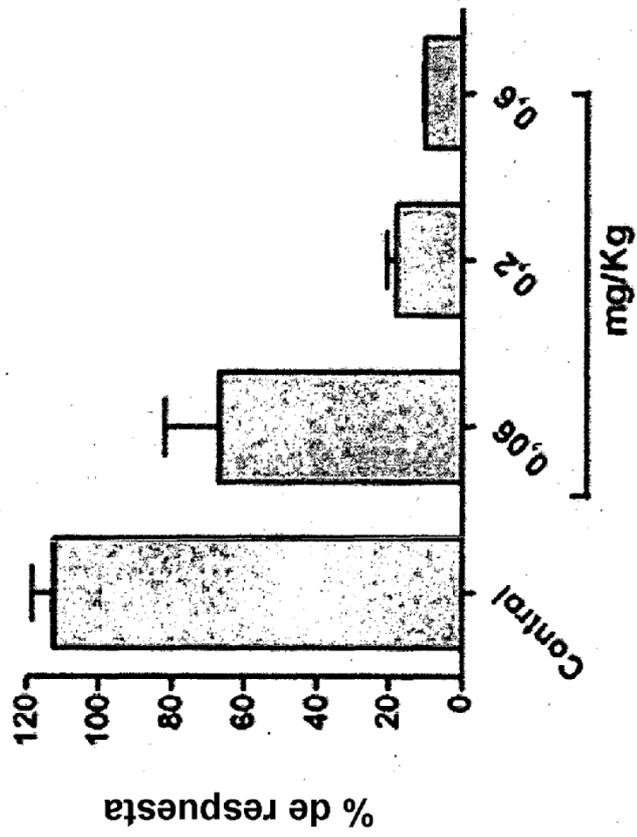


Fig. 3(B) Plasma

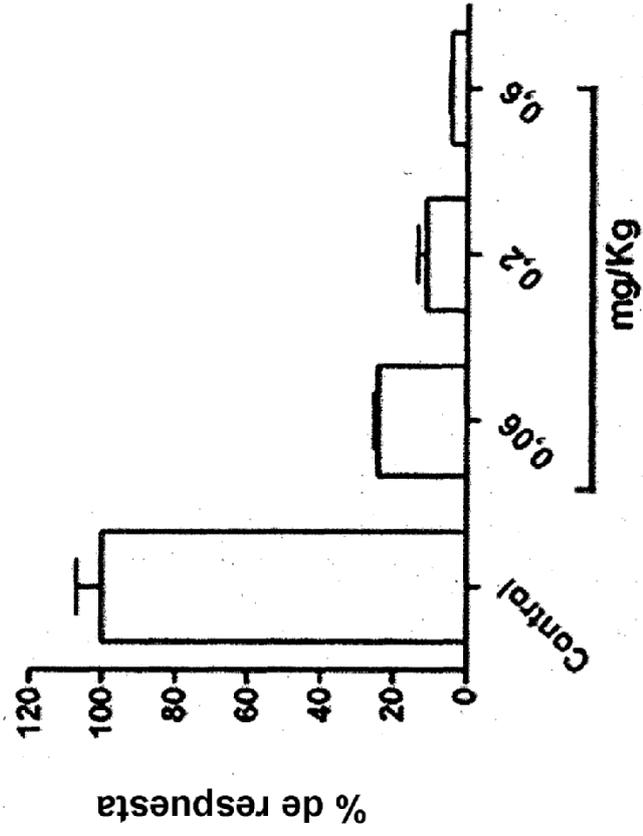


Fig. 3(D) Aorta

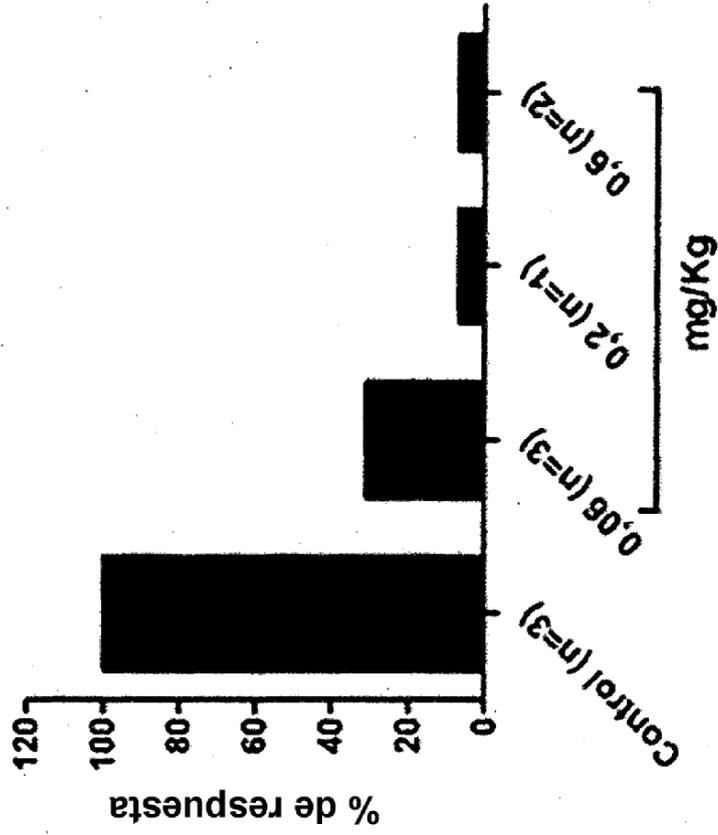


Fig. 3(C) Pulmón

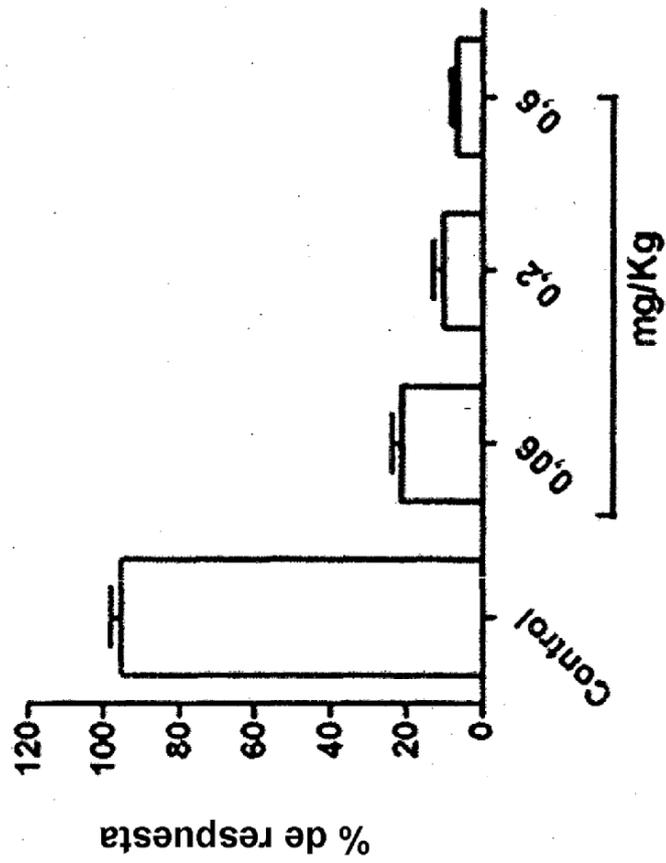


Fig. 3(E) Hígado

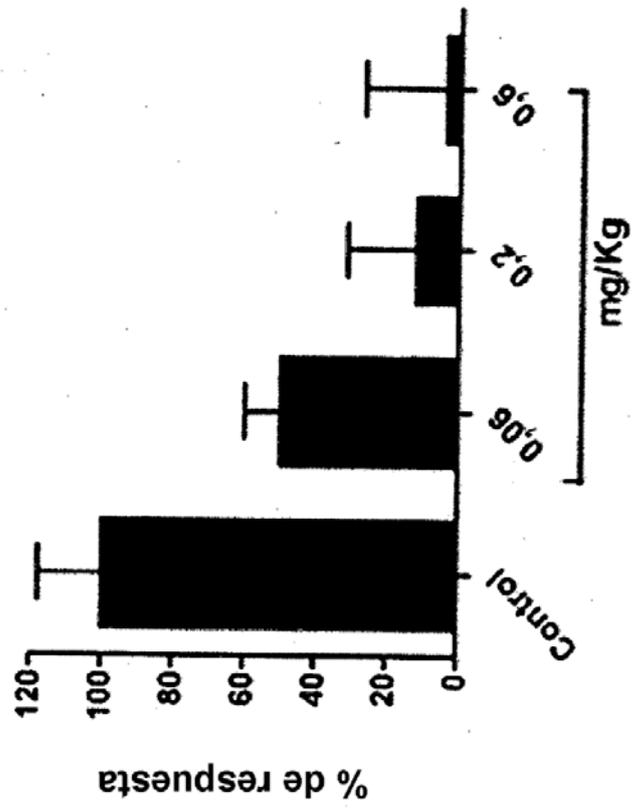


Figura 3

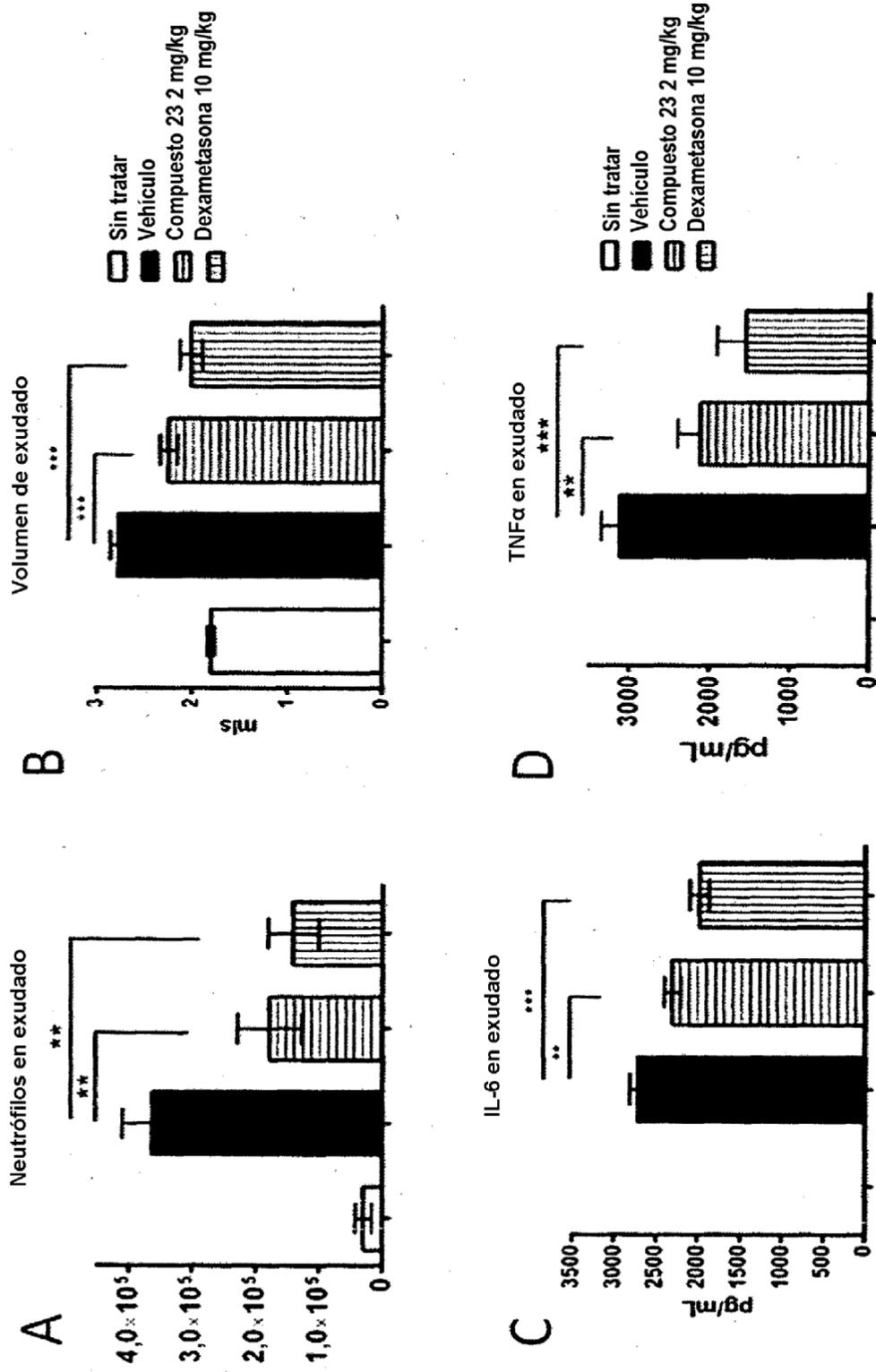


Figura 4

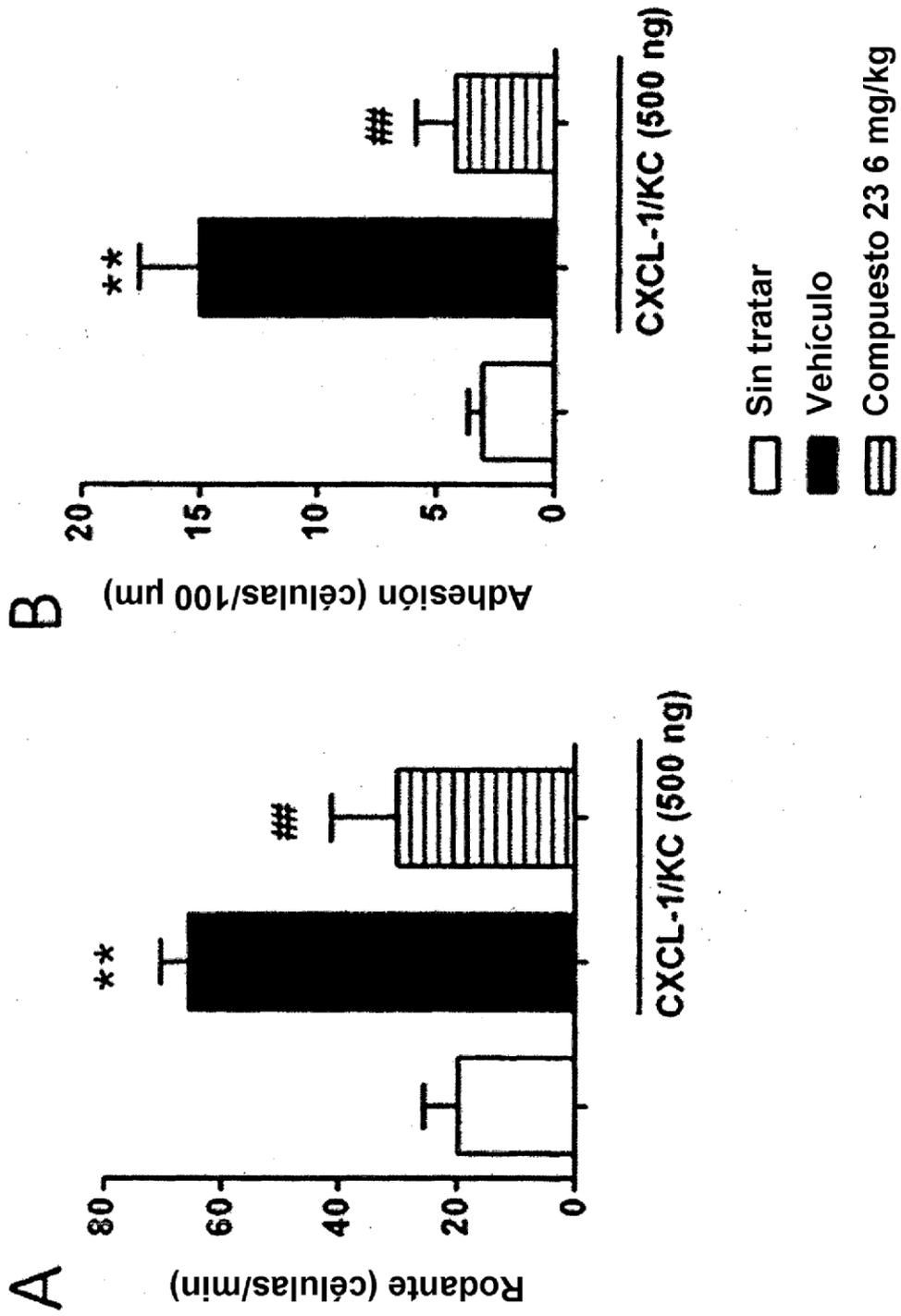


Figura 5

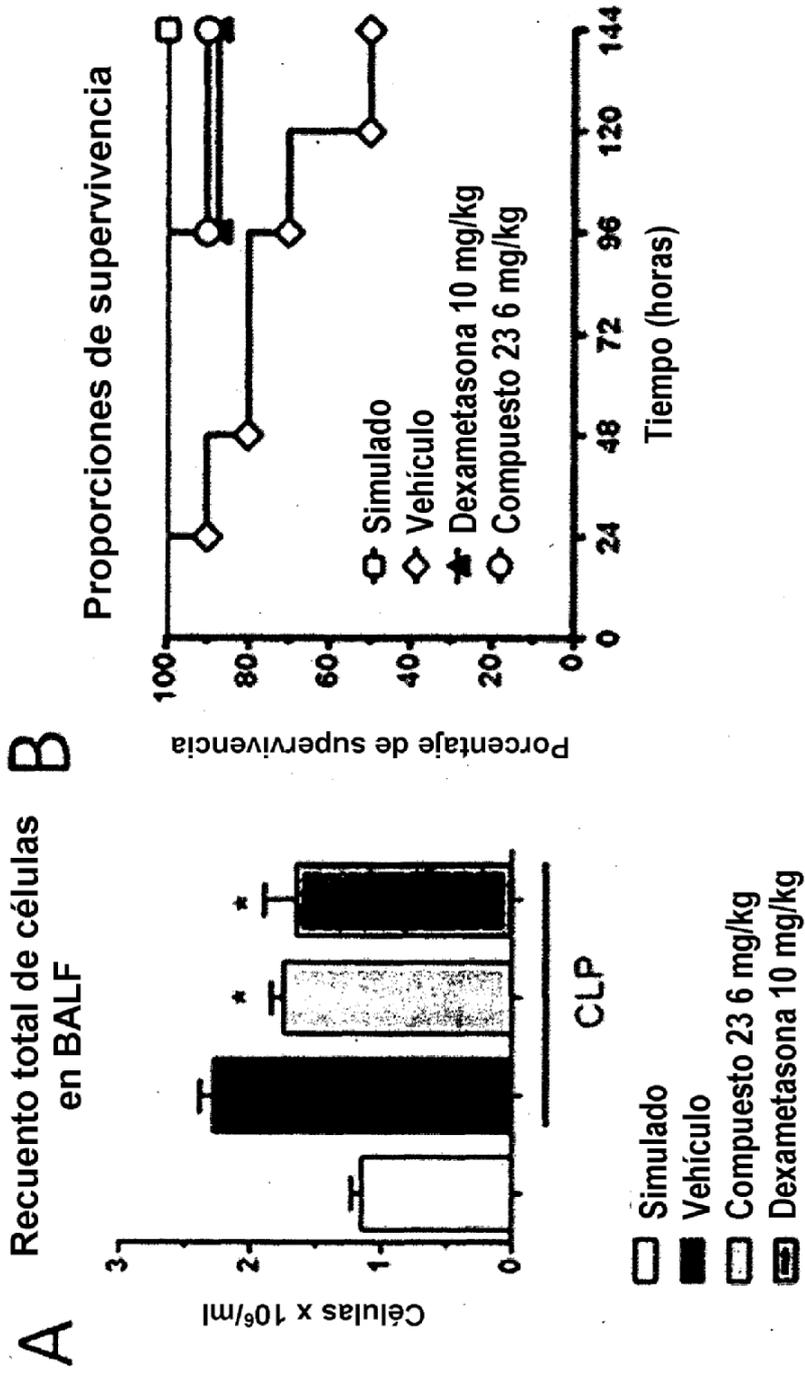


Figura 6

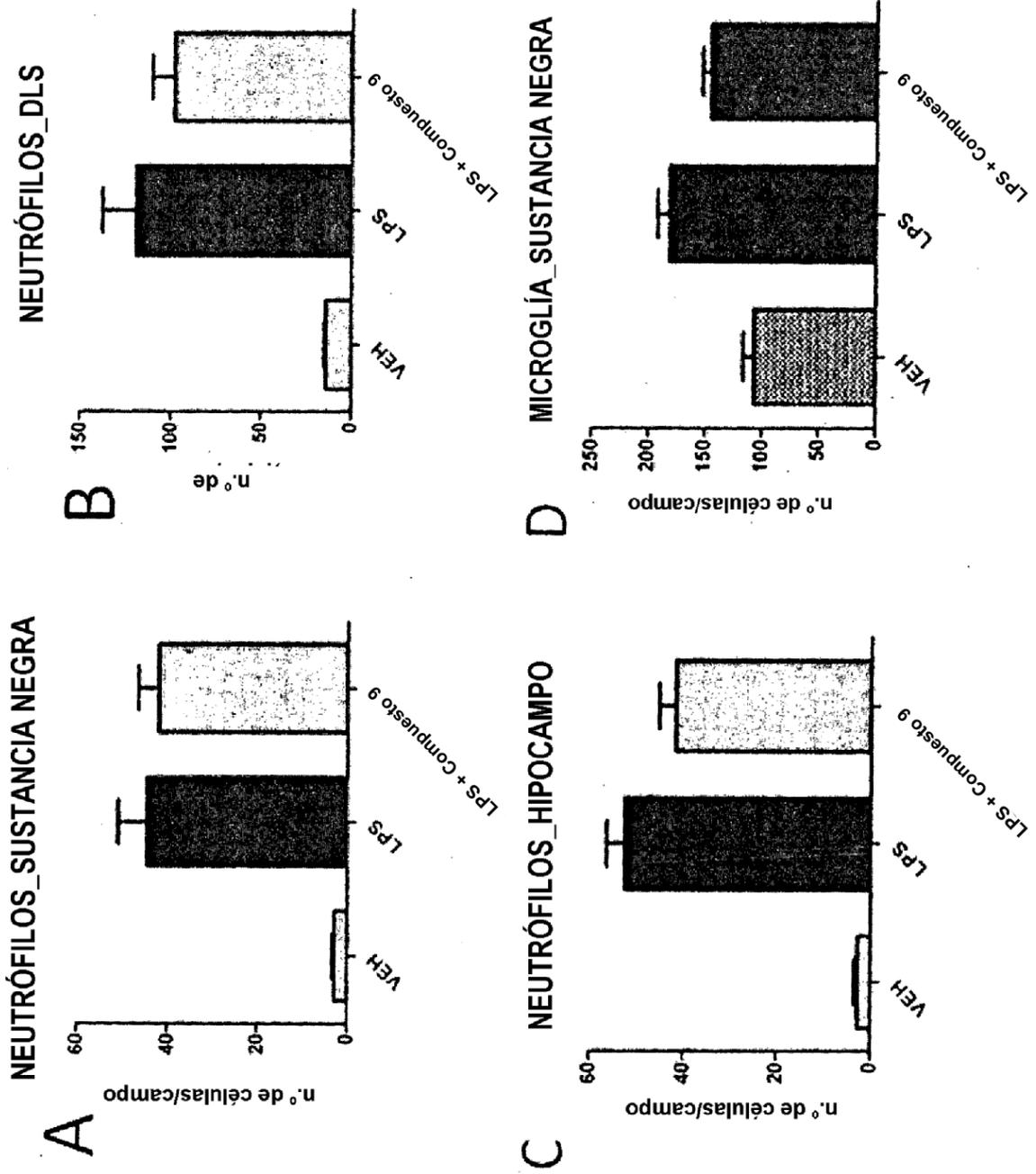


Figura 7

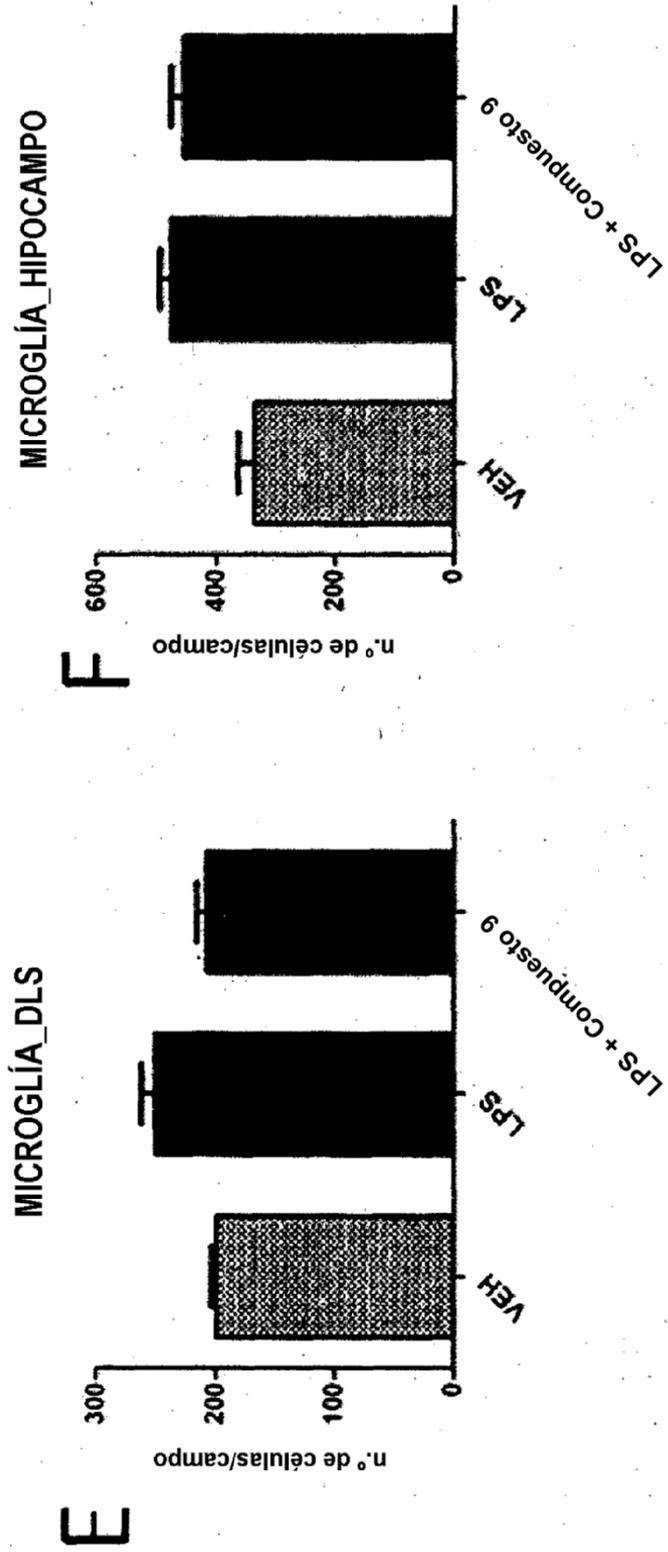


Figura 7

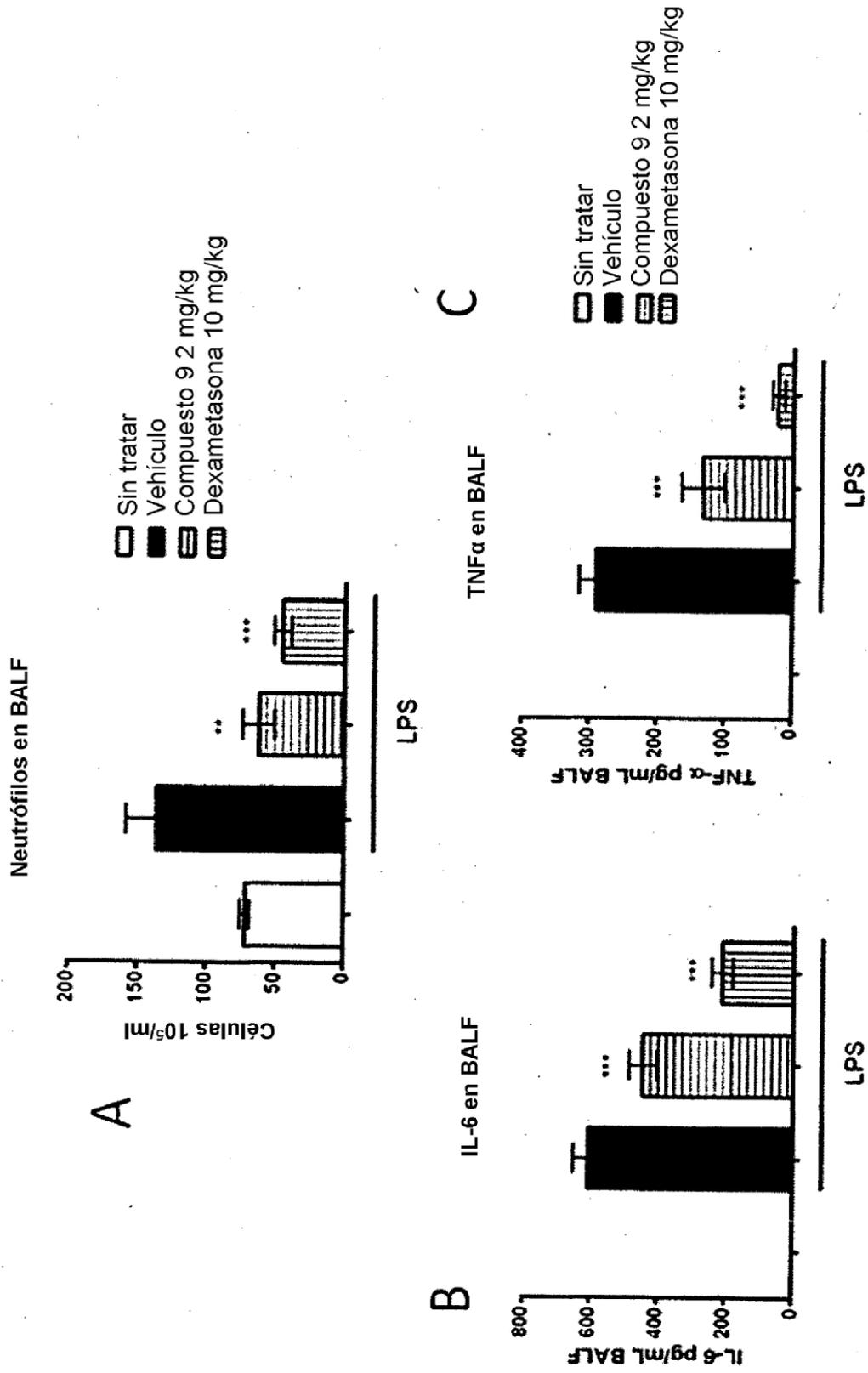


Figura 8

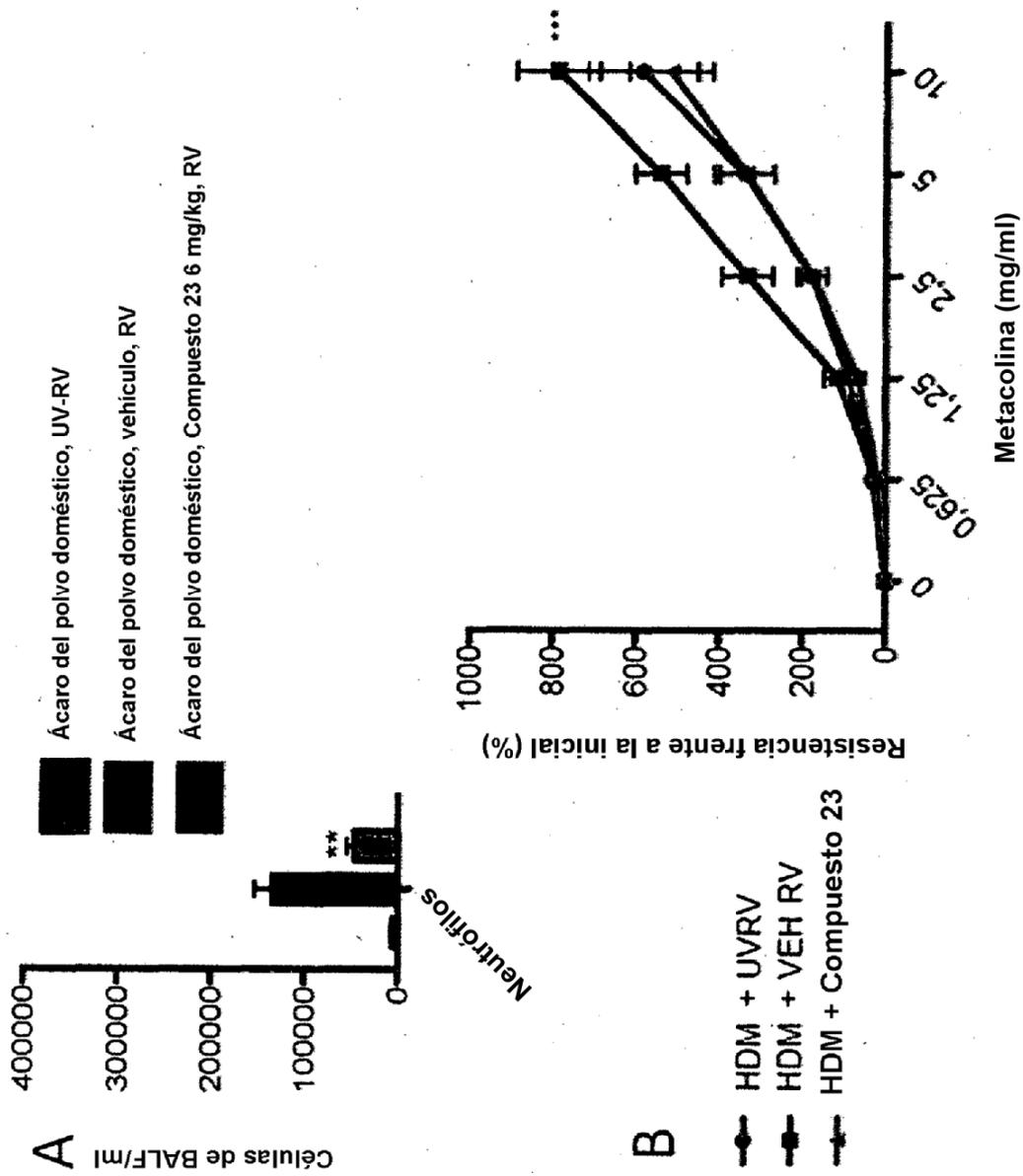


Figura 9

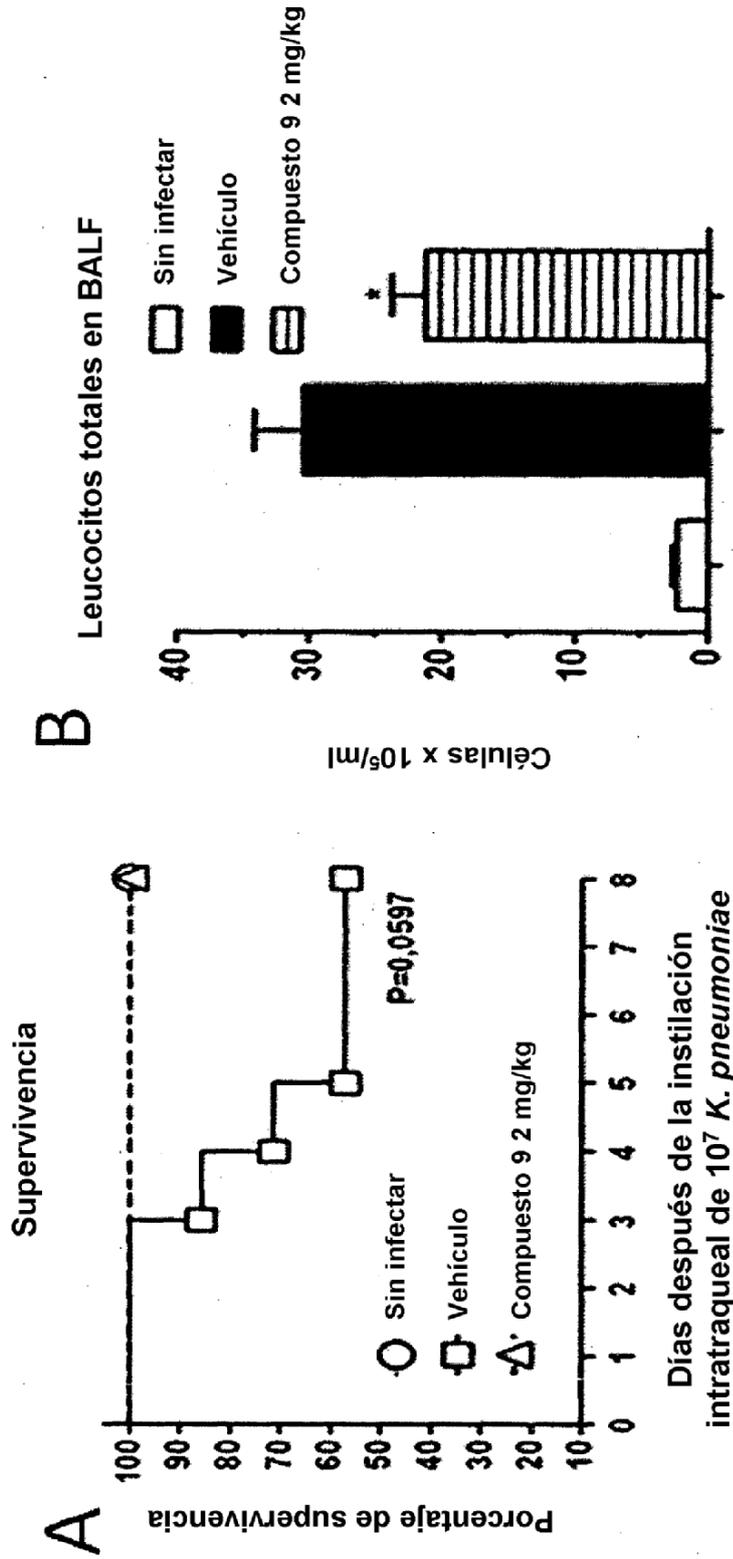


Figura 10

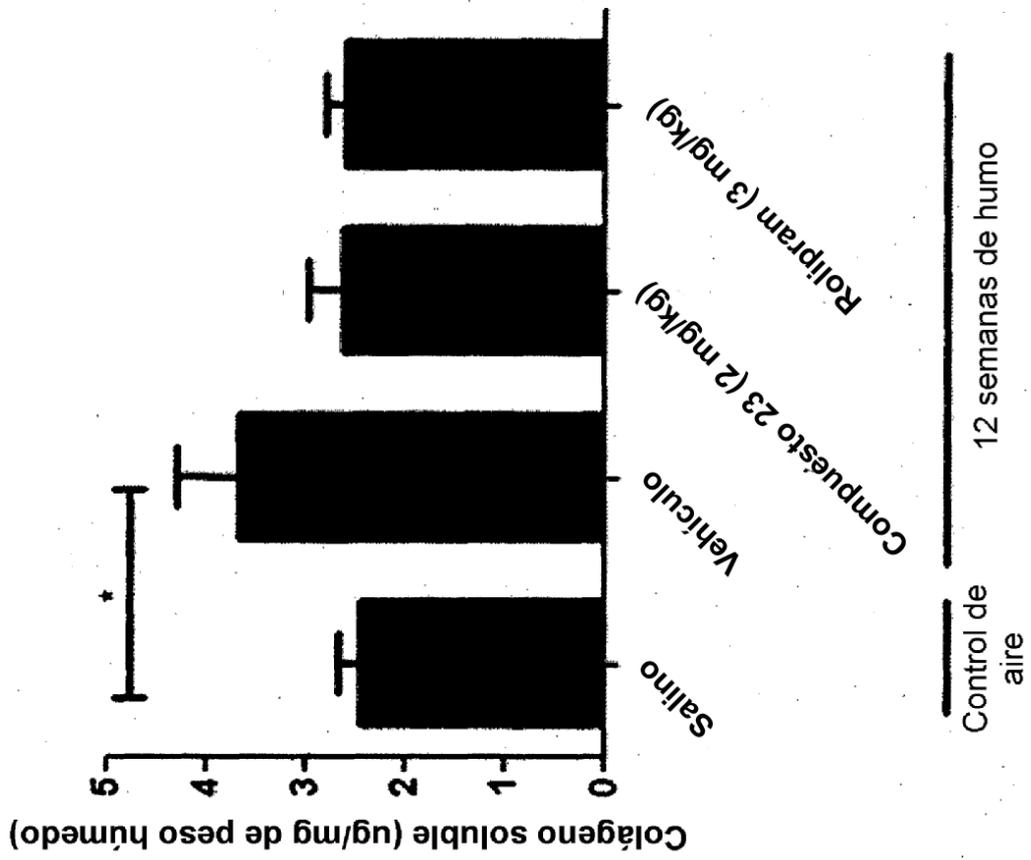


Figura 11

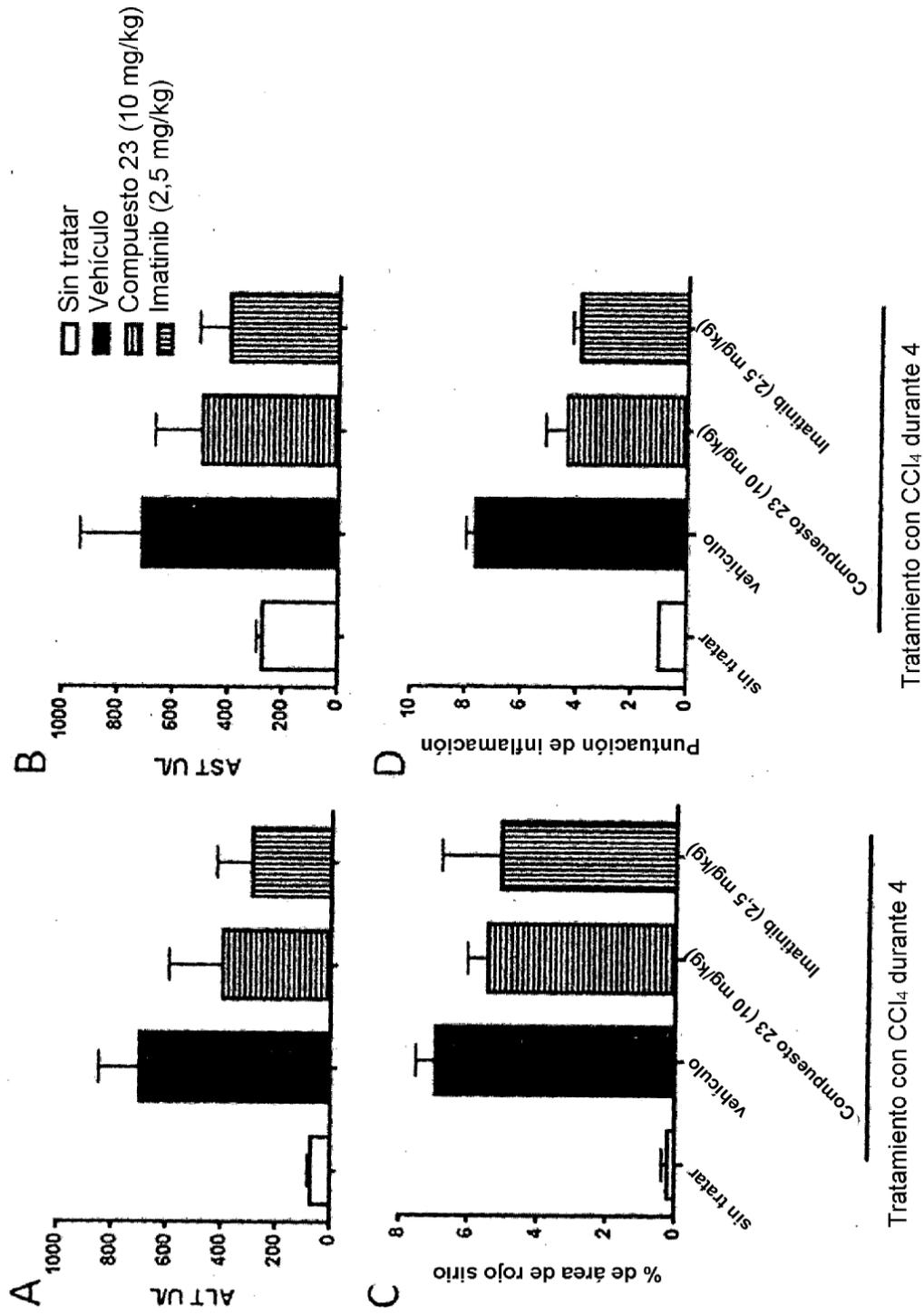
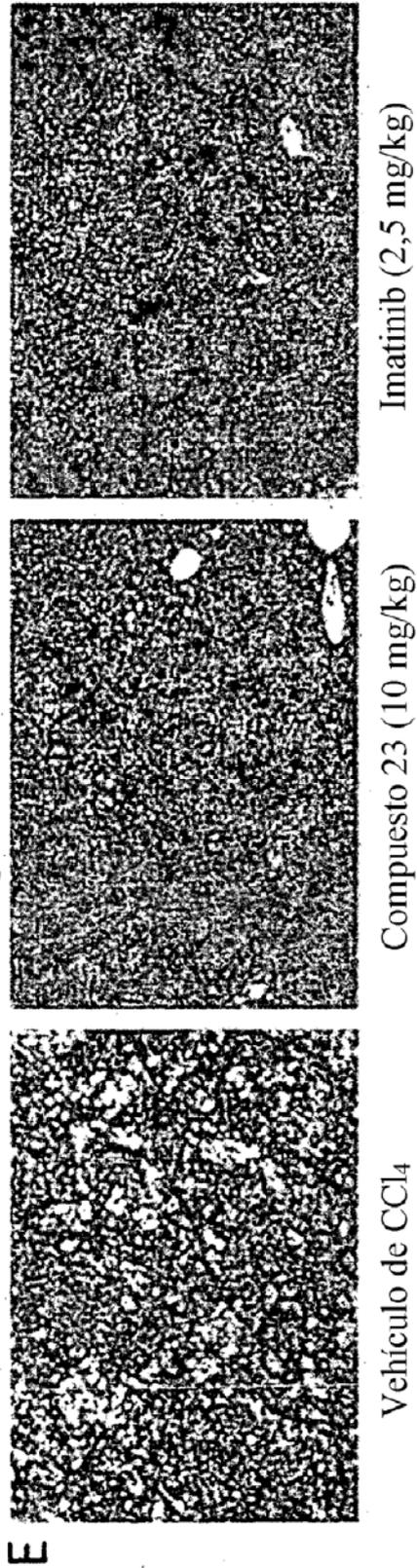


Figura 12



**Figura 12**

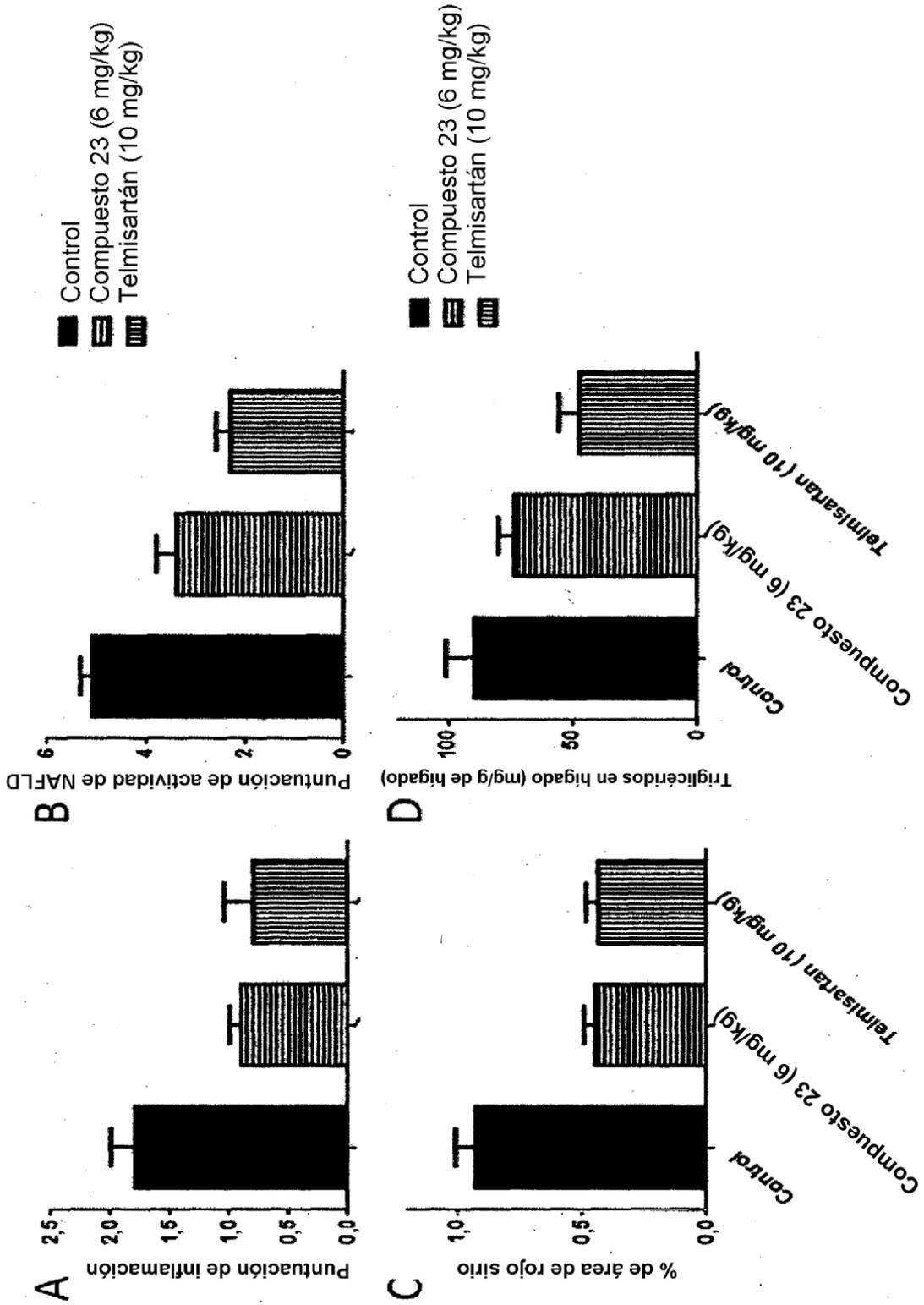


Figura 13

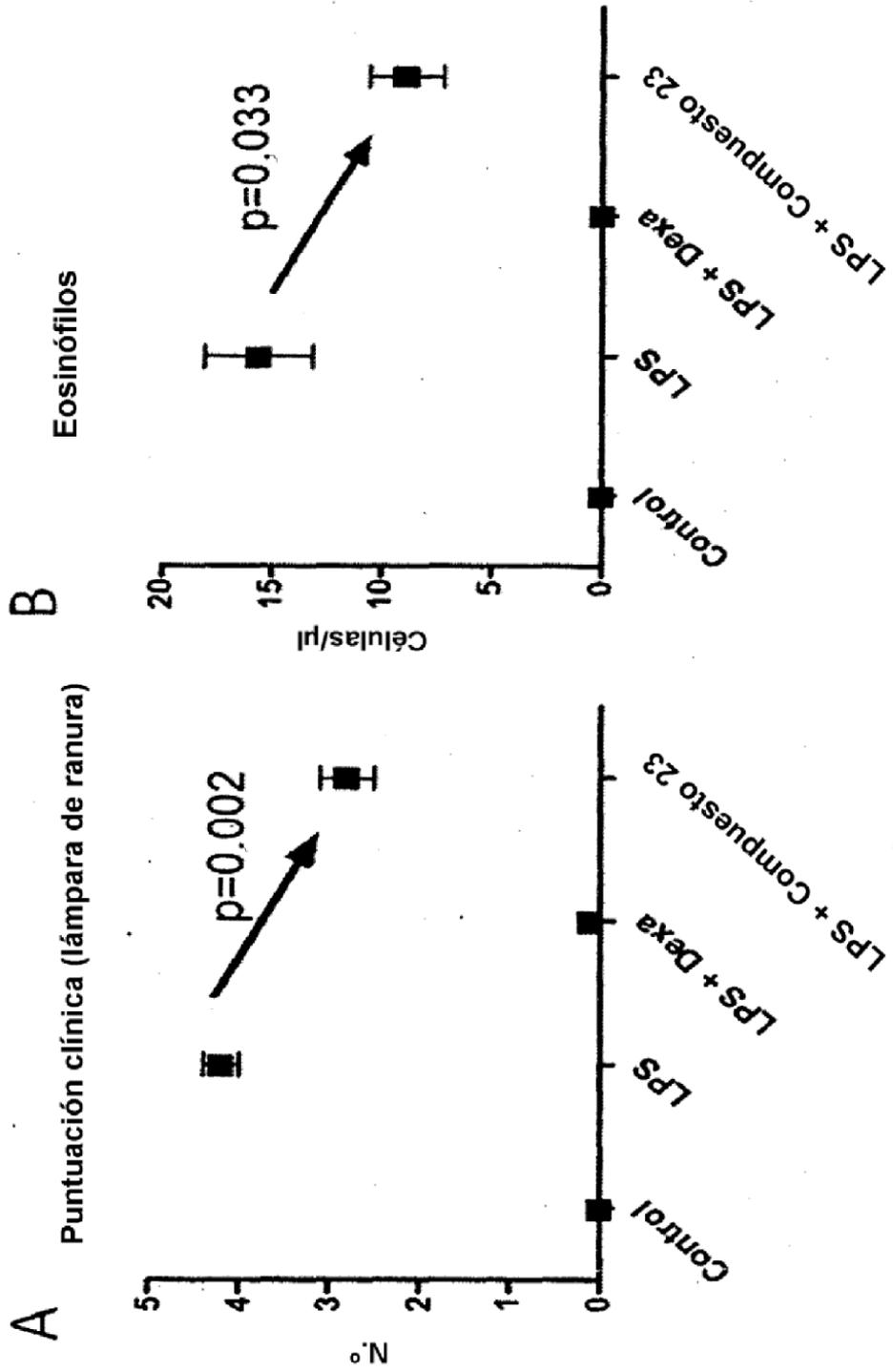


Figura 14