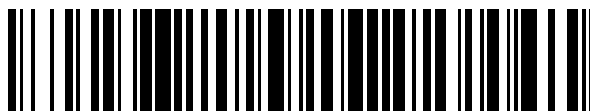


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 684 125**

51 Int. Cl.:

C07C 233/25 (2006.01)

A61K 31/167 (2006.01)

A61P 11/08 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.08.2008 PCT/US2008/074653**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.03.2009 WO09032764**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2008 E 08829102 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.08.2018 EP 2195285**

54 Título: **Estereoisómero de acetamida**

30 Prioridad:

28.08.2007 US 966438 P

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

01.10.2018

73 Titular/es:

**SUNOVION PHARMACEUTICALS INC. (100.0%)
84 Waterford Drive
Marlborough, MA 01752, US**

72 Inventor/es:

**ABOLIN, CRAIG, R.;
WILKINSON, H., SCOTT;
MCVICAR, WILLIAM, K. y
MCGLYNN, PAUL**

74 Agente/Representante:

SÁEZ MAESO, Ana

ES 2 684 125 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

Estereoisómero de acetamida

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a un nuevo estereoisómero de acetamida, a un procedimiento de preparación del estereoisómero de acetamida, a una composición farmacéutica que comprende el estereoisómero de acetamida y al uso del estereoisómero de acetamida en terapia, en particular en el tratamiento de la broncoconstricción asociada con enfermedades reversibles de las vías respiratorias obstructivas que incluyen, pero no se limitan a, asma, fibrosis quística y enfermedad pulmonar obstructiva crónica, que incluyen bronquitis crónica y enfisema.

Antecedentes de la invención

10 Los pacientes que padecen broncoconstricción asociada a enfermedades reversibles de las vías respiratorias obstructivas generalmente se tratan usando un broncodilatador para relajar el músculo liso bronquial.

Los broncodilatadores actualmente en uso caen generalmente en dos clases, los agonistas del adrenoceptor selectivo para β_2 , tales como albuterol (salbutamol), salmeterol y formoterol, y los antagonistas del receptor muscarínico, tales como ipratropio y tiotropio.

15 Los agonistas del adrenoceptor selectivo β_2 pueden causar efectos adversos, y estos pueden deberse en parte a la activación del adrenoceptor β_1 . La selectividad de un agonista para el receptor adrenoceptor β_2 es, por lo tanto, muy importante, ya que limita la dosis que se puede administrar y, así, afecta la magnitud de las broncodilataciones y la frecuencia de dosificación.

20 Una acción de larga duración es importante para los pacientes, no solo para minimizar el tiempo de consumo del fármaco, sino también para evitar tener que tomar el fármaco durante momentos inconvenientes, por ejemplo, en el trabajo, la escuela o durante la noche. Algunos de los agonistas de los adrenoceptores selectivos a β_2 más recientes, en particular el salmeterol y el formoterol, tienen una acción de larga duración, por lo general aproximadamente 12 horas. El formoterol tiene una ventaja particular de que también tiene un inicio de acción rápido. Sin embargo, el formoterol es extremadamente potente, lo que lo hace muy difícil de formular, especialmente para la administración usando un inhalador de dosis medida de una manera que da como resultado una administración uniforme del fármaco mediante dosis de aerosol después de la dosis (esto es, uniformidad del contenido de dosis). Además, es inestable en solución acuosa, lo que significa que las soluciones para administración que usan un nebulizador deben mantenerse refrigeradas durante la mayor parte de su vida útil después de la fabricación.

30 El formoterol es uno de un grupo de derivados de alcohol α -aminometilbencílico para el que se presentaron solicitudes de patente durante principios de los años setenta, por ejemplo, DE2305092 (también publicado como GB1415256). Tal vez debido a las dificultades asociadas con la formulación del compuesto, tardó mucho tiempo en comercializarse. El compuesto contiene dos centros quirales y, por consiguiente, es capaz de existir y aislarse en cuatro formas estereoisoméricas. El compuesto se comercializó en primer lugar como una mezcla racémica de los isómeros activos (R, R) e inactivos (S, S) en una formulación de polvo seco, y luego más recientemente como el isómero activo (R, R) en una solución de nebulizador. También es conocido, por ejemplo, por el documento US 6,303,145 (también publicado como WO 00/67741), que el isómero (S, R) de formoterol está activo. Sin embargo, al igual que el isómero (R, R), este compuesto es inestable a temperatura ambiente en solución acuosa y, por consiguiente, las soluciones de nebulizador deberían almacenarse refrigeradas.

40 El documento DE 2305092 describe la preparación de varios derivados del alcohol α -aminometilbencílico útiles como estimulantes β -adrenérgicos, y apropiados como agentes broncodilatadores.

Se describe la síntesis de una mezcla racémica del alcohol 3-acetilamino-4-hidroxi- α - [N- (1-metil-2-p-hidroxifeniletíl) aminometil] bencílico. La actividad de esta mezcla no fue probada.

El documento JP 56115751 describe la preparación de alcoholes 3-acilamino-4-hidroxi- α - (aralquilaminometil)bencílicos, que se dice que son útiles como broncodilatadores.

45 El documento WO 98/21175 describe métodos de preparación de isómeros ópticamente puros de formoterol.

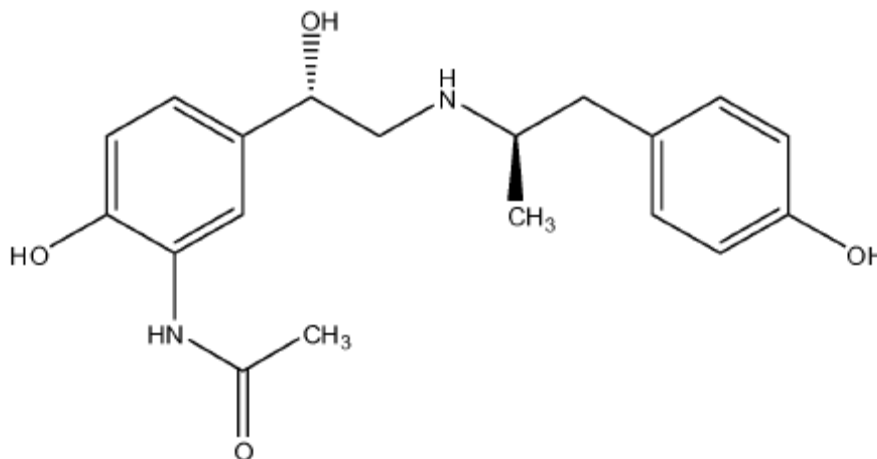
En "New β -Adrenoreceptor Stimulants. Studies on 3-Acylamino-4-hydroxy- α -(N-substituted aminomethyl) benzyl Alcohols", K. Murase et al., Chem. Pharm. Bull., Vol. 25 (1977) No. 6 p 1368-1377, estimulantes β -adrenérgicos, alcoholes 3-acilamino-4-hidroxi- α -(aminometil N-sustituido)-bencílicos se prepararon a través de alcoholes 3-amino-4-benciloxi- α - (aminometil N-sustituidos) bencílicos.

50 Akapo et al (Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 33, 5, 2003, 35-94) describen un método de cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa que indica la estabilidad para el ensayo de fumarato de formoterol.

Resumen de la invención

Sorprendentemente, ahora se ha descubierto que al sustituir el grupo metoxi en (S, R)-formoterol por un grupo hidroxilo y el átomo de hidrógeno del formilo por un grupo metilo, se ha obtenido un isómero que tiene una combinación de propiedades particularmente atractiva.

- 5 De acuerdo con un aspecto, por lo tanto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I)



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El compuesto de fórmula (I) también se puede denominar con el nombre químico N-[2-hidroxi-5-[(1S)-1-hidroxi-2-[[[(1R)-2-(4-hidroxifenil)-1-metiletil]amino]etil]fenil]acetamida.

- 10 Se ha encontrado que el isómero de fórmula (I) posee propiedades particularmente ventajosas. En particular, posee una afinidad buena, pero no muy alta, por el adrenoceptor β_2 , una alta selectividad para el adrenoceptor β_2 sobre el β_1 , una acción de larga duración y una buena estabilidad en solución acuosa a temperatura ambiente.

Breve descripción del dibujo

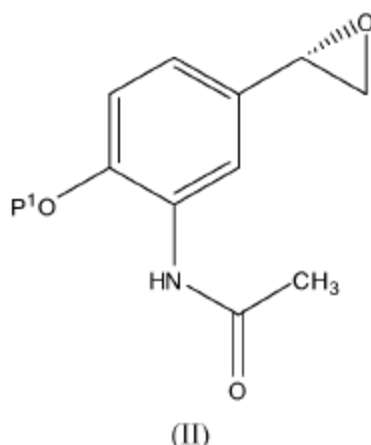
- 15 La figura 1 muestra los efectos N-[2-hidroxi-5-[(1S)-1-hidroxi-2-[[[(1R)-2-(4-hidroxifenil)-1-metiletil]amino]etil]fenil]acetamida sobre los efectos de la acetilcolina sobre la resistencia de las vías respiratorias.

Descripción detallada de la invención

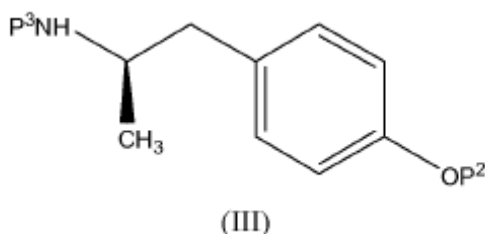
- 20 Como se usa en este documento, el término "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a una sal preparada a partir de un ácido farmacéuticamente aceptable, relativamente no tóxico, que incluye ácidos inorgánicos y ácidos orgánicos. Los ácidos apropiados incluyen ácido acético, bencenosulfónico, benzoico, canforsulfónico, carbónico, cítrico, dihidrogenofosfórico, etenosulfónico, fumárico, galactunórico, glucónico, glucurónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, yodhídrico, isobutírico, isetiónico, láctico, maleico, málico, malónico, mandélico, metanosulfónico, monohidrogenocarbonico, monohidrogenofosfórico, monohidrogenosulfúrico, mícico, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, ftálico, propiónico, subérico, succínico, sulfúrico, tartárico, toluenosulfónico, incluyendo ácidos p-
25 toluenosulfónico m-toluenosulfónico y o-toluenosulfónico, y similares (véase, por ejemplo, Berge et al., J. Pharm. Sci., 66:1-19 (1977); Stahl and Wermuth, Handbook of Pharmaceutical Salts, Wiley VCH, (2002)). También se incluyen sales de otros compuestos relativamente no tóxicos que poseen carácter ácido, que incluyen aminoácidos, tales como arginina y similares, y otros compuestos, tales como aspirina, ibuprofeno, sacarina y similares. Las sales de adición de ácido se pueden obtener poniendo en contacto la forma neutra de tales compuestos con una cantidad suficiente del ácido deseado, ya sea puro o en un solvente inerte apropiado. Como sólidos, las sales pueden existir en modificaciones
30 cristalinas o amorfas.

Los compuestos de la presente invención también se pueden preparar en forma deuterada, esto es, en la que uno o más átomos de hidrógeno, por ejemplo, en el grupo acetilo, se reemplazan con deuterio.

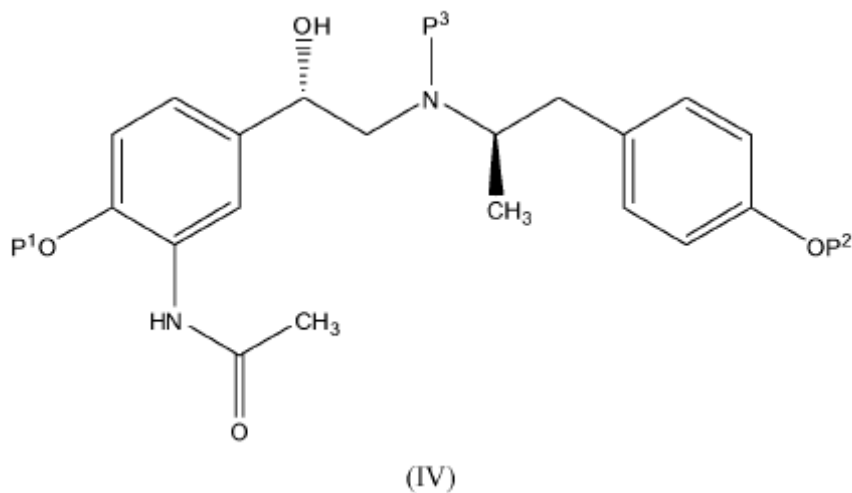
El isómero de acetamida y sus sales farmacéuticamente aceptables se pueden preparar mediante un procedimiento, que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula general (II)



en la que P¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de hidroxilo, con un compuesto de fórmula general (III)



5 en la que P² representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de hidroxilo y P³ representa un grupo protector de amina bencílica, para proporcionar un compuesto de fórmula general (IV)



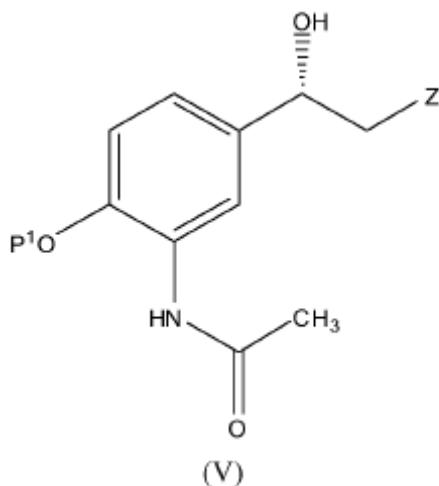
o una sal del mismo, seguido de la eliminación de cualquier grupo protector P¹, P² y P³ y, si se desea, formar una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable

- 10 Los grupos protectores pueden ser cualquier grupo protector apropiado, por ejemplo, como se describe en Green et al., "Protective Groups in Organic Chemistry," (Wiley, 2nd ed. 1991). Los ejemplos de grupos protectores de hidroxilo incluyen grupos aralquilo, tales como grupos bencilo y trialquilsililo, tales como t-butil-dimetilsililo (TBDMS). Los ejemplos de un grupo protector de amina bencílica son grupos bencilo opcionalmente sustituidos en el anillo de benceno por uno o más, por ejemplo, 1, 2 o 3 sustituyentes opcionales, por ejemplo, seleccionados de halo, alquilo (C1-4) y alcoxi (C1-4); por ejemplo, bencilo no sustituido.
- 15

La reacción entre los compuestos de fórmula (II) y (III) se lleva a cabo convenientemente fundiendo los dos compuestos juntos, por ejemplo, calentando en el intervalo de 110 a 130 °C.

Cualquier grupo protector representado por P¹, P² y P³ se puede eliminar usando un procedimiento convencional. Por ejemplo, un grupo bencilo se puede eliminar mediante hidrogenación catalítica en presencia de paladio sobre carbono, y un grupo trialquilsililo mediante tratamiento con fluoruro de tetrabutilamonio.

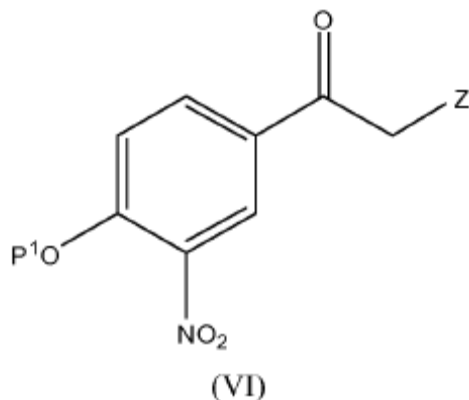
Los compuestos de fórmula (II) se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula (V)



5

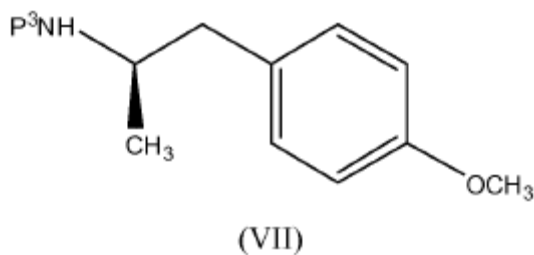
en la que Z representa un átomo o grupo saliente, tal como un átomo de bromo, con una base, por ejemplo, un carbonato de metal alcalino tal como carbonato de potasio.

Los compuestos de fórmula (V) se pueden preparar por reducción estereoselectiva de un compuesto de fórmula (VI)

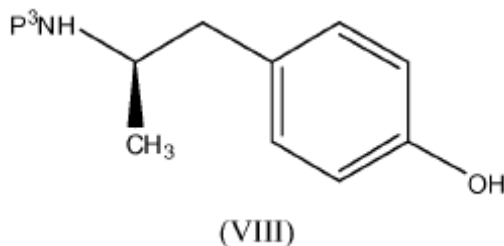


10 usando, por ejemplo, borano en presencia de un auxiliar quiral, tal como (1S,2R)-1-amino-2-indanol, seguido de la reducción del grupo nitro a un grupo amino y la acetilación del grupo amino resultante.

Los compuestos de fórmula general (III) se pueden preparar haciendo reaccionar un compuesto de fórmula general (VII)



con tribromuro de boro, para proporcionar un compuesto de fórmula (VIII)



El grupo hidroxilo se puede proteger luego, por ejemplo, por reacción con un haluro de trialquilsililo, tal como cloruro de t-butildimetilsililo.

Los intermedios de fórmula general (IV) se proporcionan como un aspecto adicional de la presente invención.

- 5 Según otro aspecto, por lo tanto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como se describe en este documento, junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

10 La composición farmacéutica según la invención puede adaptarse para administración a pacientes por cualquier ruta conveniente, tal como por administración oral, mucosal (por ejemplo, nasal, sublingual, vaginal, bucal o rectal), parenteral o transdérmica. Puede estar en forma de, por ejemplo, una solución, suspensión, polvo, comprimido, formulación en aerosol, comprimido para deshacer en la boca, supositorio, emulsión, cápsula de gelatina dura o blanda o jarabe. El compuesto de fórmula (I) puede disolverse en el portador, diluirse en el portador o estar soportado por el portador. De este modo, el vehículo puede ser un soporte para el compuesto de fórmula (I), tal como una cápsula, bolsita, papel u otro recipiente farmacéutico.

15 En una realización, la composición farmacéutica es una solución acuosa adaptada para administración usando un nebulizador. La formulación acuosa puede ser isotónica y regulada a un pH óptimo para la estabilidad. La formulación acuosa para la nebulización también podría ser una suspensión de nanopartículas o una suspensión micronizada de base libre o una sal insoluble o un aducto de ciclodextrina.

20 En otra realización, la composición farmacéutica es una formulación en aerosol adaptada para administración usando un inhalador de dosis medida, la formulación en aerosol que comprende el isómero de acetamida en forma cristalina y un propelente o en solución con un propelente apropiado, combinación de propelentes o combinación de propelente (s) y un cosolvente aceptable u otro agente solubilizante.

25 El propelente puede ser cualquier propelente apropiado usado en formulaciones en aerosol, por ejemplo, un hidrofluoroalcano (HFA), tal como 1,1,1,2-tetrafluoroetano (HFA134) o 1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano (HFA227) o una combinación de propelentes. Se prefiere el HFA134. El propelente puede comprender al menos 90% en peso de la formulación en aerosol, que también puede incluir, entre otros, gases inertes para ayudar en la formación del aerosol.

30 La formulación en aerosol puede comprender además un surfactante. El surfactante sirve para estabilizar y dispersar el isómero de acetamida en una suspensión, y también puede servir como un lubricante de válvula en el inhalador de dosis medida. Puede ser cualquier surfactante apropiado utilizado en formulaciones en aerosol. Los ejemplos de surfactantes usados en formulaciones en aerosol se describen en la Patente de los Estados Unidos número 5,225,183, que se incorpora en este documento como referencia. Un surfactante preferido es el ácido oleico. El surfactante, cuando está presente, puede estar presente generalmente en una cantidad de 1:100 a 1:10 de surfactante: isómero de acetamida, preferiblemente de aproximadamente 1:20.

35 La formulación en aerosol puede comprender además un cosolvente. Una función del cosolvente en la formulación en aerosol es facilitar la disolución del surfactante, que puede tener una escasa solubilidad en el propelente. Puede ser cualquier portador apropiado usado en formulaciones en aerosol. Se puede usar un cosolvente tal como glicerol o etanol. Un cosolvente preferido es el etanol, especialmente el etanol deshidratado. El contenido de etanol puede ser convenientemente de hasta 30% en peso de la formulación en aerosol, tal como desde 2 a 6%.

40 Los inhaladores de dosis medida comprenden por lo general un bote que contiene una formulación en aerosol, una válvula dosificadora, un vástago de válvula y un actuador que acepta el vástago de válvula. En uso, un paciente presiona el bote en el actuador e inhala, lo que provoca que se administre una dosis de la formulación y se la lleve a los pulmones del paciente.

45 De acuerdo con un aspecto adicional, por lo tanto, la presente invención proporciona un inhalador de dosis medida que comprende un bote que contiene una formulación en aerosol como se describe en este documento, una válvula dosificadora y un actuador.

Preferiblemente, la superficie interior del bote está recubierta, por ejemplo, con un polímero protector, o tratada de otro modo para minimizar la interacción química o física entre la formulación y el bote. El inhalador tiene preferiblemente una abertura con un diámetro en el intervalo de 0.2 a 0.60 mm.

5 En aún otra realización, la composición farmacéutica está en forma de un polvo seco apropiado para inhalación o insuflación. La composición puede comprender cristales de isómero de acetamida solos (por ejemplo, con un diámetro aerodinámico mediano másico de 1 a 10 micras, preferiblemente de 2 a 7 micras) o isómero de acetamida mezclado, coprecipitado, cocristalizado o secado por pulverización junto con un portador o portadores farmacéuticamente aceptables. Los portadores farmacéuticamente aceptables apropiados incluyen, sin limitación, solvatos de uno o más carbohidratos naturales o sintéticos, tales como monosacáridos, disacáridos, trisacáridos, oligosacáridos, polisacáridos, polioles, aminoácidos y proteínas, y/o en la forma de sus ésteres, acetales o sales farmacéuticamente aceptables (donde existen tales derivados). El portador es preferiblemente lactosa, más preferiblemente lactosa monohidrato. La composición de polvo seco se puede presentar en forma de dosificación unitaria en, por ejemplo, cápsulas o cartuchos de, por ejemplo, gelatina, o blísters a partir de los cuales se puede administrar el polvo con la ayuda de un inhalador o insuflador. La composición de polvo seco se puede presentar en forma de múltiples dosis medida con la ayuda de un inhalador o insuflador, o dosificarse previamente en dosis discretas dentro del dispositivo para administraciones en serie.

Convenientemente, las formulaciones de polvo seco se administran usando inhaladores de polvo seco multidosis.

20 La presente invención por lo tanto también proporciona un inhalador de polvo seco multidosis, que comprende un depósito de polvo seco que contiene una formulación en aerosol de polvo seco de isómero de acetamida como se describió anteriormente, y una cámara de dosificación.

25 El compuesto de fórmula (I) según la presente invención se puede coadministrar con uno o más de otros ingredientes activos, por ejemplo, seleccionados de esteroides, tales como beclometasona, triamcinolona, funisólida, mometasona, budesonida o fluticasona, antagonistas del receptor muscarínico, tal como ipratropio, tiatropio o glicopirrolato. De acuerdo con lo anterior, en una realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede comprender además un esteroide y/o un antagonista del receptor muscarínico y/o un agente controlador o broncodilatador con un nuevo mecanismo.

En otra realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede comprender además agentes antiinflamatorios tales como inhibidores del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), dipeptidil peptidasa IV y anticuerpos frente a interleucinas proinflamatorias tales como IL4. e IL13.

30 En otra realización, la composición farmacéutica de acuerdo con la presente invención puede comprender además agentes mucolíticos tales como cromoglicato, acetilcisteína, arginina o 2-mercaptoetanosulfonato.

De acuerdo con otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable para uso en el tratamiento de enfermedad broncoconstrictora.

35 La enfermedad broncoconstrictora puede ser, por ejemplo, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (tal como enfisema o bronquitis), fibrosis quística o asma.

El paciente puede ser un mamífero humano o no humano, tal como un perro, gato, caballo, vaca, oveja o cerdo. Preferiblemente, el paciente es un humano.

40 La cantidad de compuesto administrado dependerá de muchos factores, tales como la especie, el peso y la edad del paciente, y la gravedad de la afección que se va a tratar. Por ejemplo, una dosis administrada a un ser humano puede contener de 75 a 5,000 μg del isómero de acetamida (calculado como la base libre). La dosis se puede administrar, por ejemplo, una o dos veces al día.

Según otro aspecto, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso en terapia.

45 Según otro aspecto más, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

Según otro aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable para el tratamiento de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, o para uso como un broncodilatador

50 Ejemplos

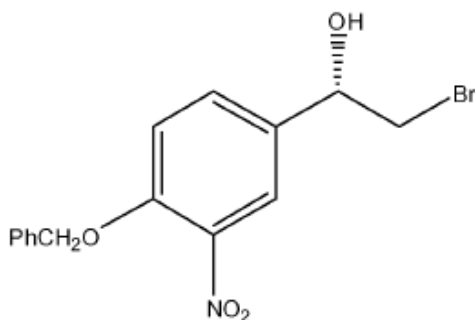
Los siguientes ejemplos ilustran la invención.

THF se refiere a tetrahidrofurano, EtOAc se refiere a acetato de etilo y Et₂O se refiere a éter dietílico.

Ejemplo 1

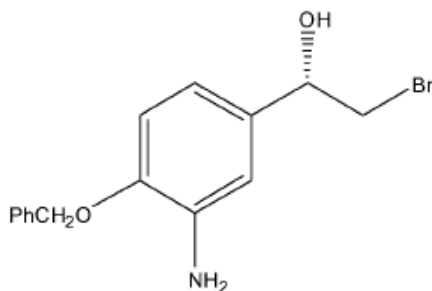
N-[2-hidroxi-5-[(1S)-1-hidroxi-2-[[[(1R)-2-(4-hidroxifenil)-1-metiletil]amino]etil]fenil]acetamida

Etapa A) (1S)-1-(3-nitro-4-benciloxifenil)-2-bromoetan-1-ol



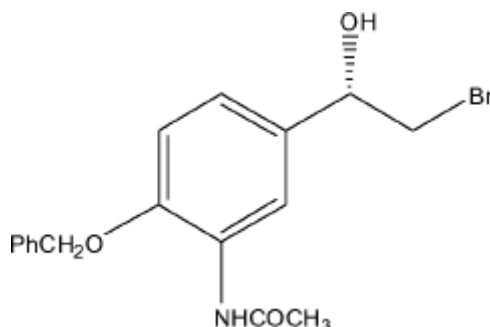
- 5 Se añadió una solución fría (5 °C) de (1S,2R)-1-amino-2-indanol (400 mg, 2.68 mmol) en THF (160 mL) gota a gota a una solución fría (0 °C) de complejo borano-dietilanilina (7.0 g, 43 mmol) en THF (20 mL). Después de completar la adición, la solución resultante se agitó a (0 °C) durante 30 minutos y luego se añadió 2-bromo-4'-benciloxi-3'-nitroacetofenona (20.0 g, 57,1 mmol) en tres porciones durante un período de 30 minutos. La solución resultante se agitó a <5 °C, durante 1 h, se inactivó mediante la adición gota a gota de acetona (17 mL) y luego se dejó calentar a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró a vacío para dar un residuo, que se disolvió en tolueno (100 mL) y se lavó en sucesión con H₂SO₄ al 10% (2 x 45 mL), H₂O (2 x 45 mL) y solución de salmuera sat. (1 x 40 mL). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄, se clarificó y luego se concentró al vacío hasta un volumen de ~40 mL. Se añadió lentamente heptano (45 mL) para dar una lechada espesa. El sólido se recogió en un filtro y se lavó con heptano (2 x 5 mL). Este material se disolvió en tolueno caliente (~50 mL), la solución se clarificó y a continuación se diluyó con heptano (50 mL). La mezcla resultante se agitó durante 30 minutos, los sólidos se recogieron, se lavaron con heptano (2 x 5 mL) y luego se secaron a peso constante a vacío para dar 18.9 g (94.0%) del compuesto base.

Etapa B) (1S)-1-(3-amino-4-benciloxifenil)-2-bromoetan-1-ol



- 20 Se añadió una solución del producto de la etapa A) (18.7 g, 53.1 mmol) en tolueno (40 mL) y THF (40 mL) a una botella agitadora Parr que contenía Pt₂O (370 mg). Esta mezcla se agitó bajo H₂ (50 psi, 344.74 kpa) hasta que la reacción se completó (18 h). El catalizador se eliminó por filtración y el filtrado se concentró hasta un aceite. La cromatografía en columna (1 kg de gel de sílice empaquetado y eluido con CH₂Cl₂/MeOH, 19:1) dio 11.9 g (69.6%) del compuesto base.

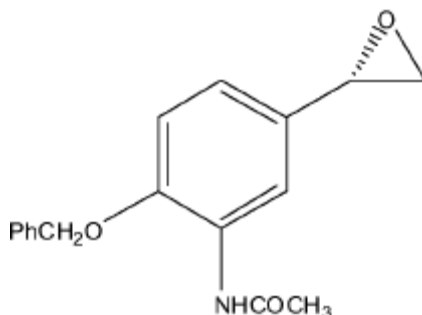
Etapa C) (1S)-1-(3-acetamido-4-benciloxifenil)-2-bromoetan-1-ol



25

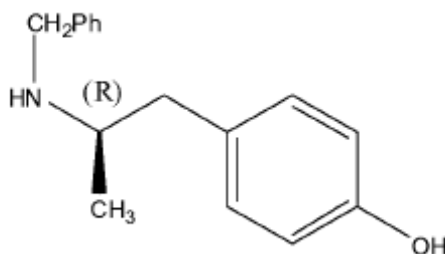
Una solución del producto en la etapa B (10.0 g, 31.0 mmol) en piridina (100 mL) se agitó a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se añadió anhídrido acético (3.16 g, 30.9 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego a 40 °C, durante 4.5 horas. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y luego se concentró a vacío para dar un residuo. Este material se sometió a partición entre CH₂Cl₂ (120 mL) y HCl acuoso al 10% (50 mL). La capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (50 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron en sucesión con H₂O (1 x 100 mL) y salmuera (1 x 100 mL), se secaron sobre MgSO₄, se clarificaron y luego se concentraron a vacío hasta una lechada espesa. Después de la dilución con hexanos (60 mL), el sólido se recogió en un filtro, se lavó con hexanos (2 x 20 mL) y luego se secó hasta peso constante a vacío para dar 9.4 g (83%) de material como un sólido de color blanco.

10 Etapa D) (1S)-1-(3-acetamido-4-benciloxifenil)epoxietano



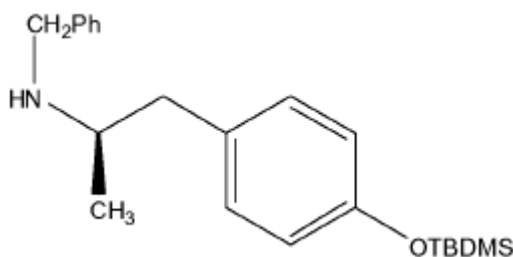
Una solución del producto en la etapa C (2.5 g, 6.9 mmol) en MeOH (15 mL) y THF (15 mL) se trató con K₂CO₃ (1.3 g, 9.4 mmol) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2.5 h. La mezcla se concentró a vacío para dar un residuo, que se sometió a partición entre H₂O (50 mL) y EtOAc (50 mL). La capa acuosa se extrajo con EtOAc (50 mL). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con H₂O (50 mL tratados con una pizca de K₂CO₃ para hacerlo básico), se secaron sobre Na₂SO₄, se clarificaron y luego se concentraron a vacío para dar un residuo que se secó a peso constante a vacío para dar 1.84 g (94%). Este material se usó en la siguiente etapa de reacción sin purificación adicional.

Etapa E) [(1R)-N-Bencil-2-(4-hidroxifenil)-1-metiletil]-amina



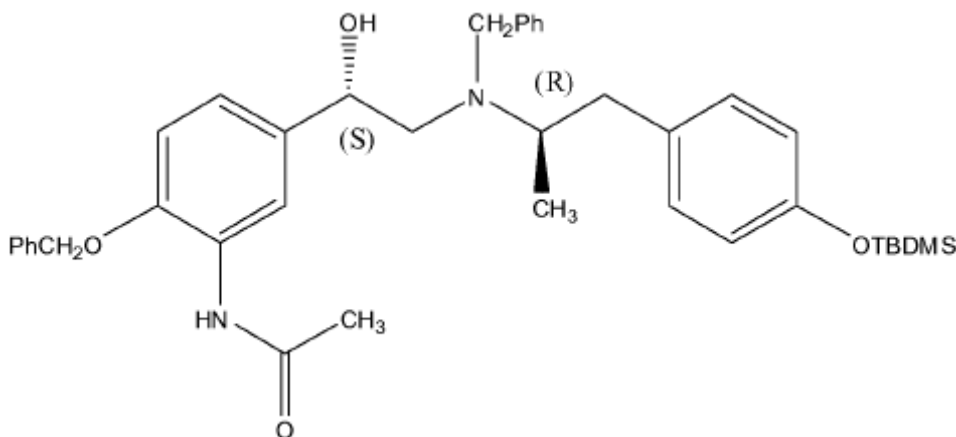
A una solución de [(1R)-N-bencil-2-(4-metoxifenil)-1-metiletil] amina (5.30 g, 20.8 mmol) en CH₂Cl₂ (25 mL) se le añadió una solución de BBr₃ en CH₂Cl₂ (25.0 mL, 1.0 M, 25.0 mmol) lentamente durante 0.5 h. Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 22 h. Se añadió agua (125 mL), seguido de la adición de NaOH acuoso 2.5 M (15 mL) a pH 6. La mezcla se extrajo con EtOAc (4 x 200 mL) y la capa orgánica se secó (Na₂SO₄) y se concentró. El residuo (3.9 g) se trituró con CH₂Cl₂ (120 mL) y luego se concentró a sequedad para dar el compuesto base (3.8 g, 76%).

Etapa F) [(1R)-N-bencil-2-(4-t-butildimetilsililoxifenil)-1-metiletil]amina



Se agitó una solución del producto de la etapa E) (3.20 g, 13.3 mmol), cloruro de tert-butildimetilsililo (3.59 g, 23.8 mmol) e imidazol (2.86 g, 42.0 mmol) en DMF (30.0 mL) a temperatura ambiente durante 18 h. La mezcla se concentró a sequedad, y el residuo se sometió a partición entre EtOAc (200 mL) y solución saturada acuosa de NaHCO₃ (200 mL). La capa acuosa se separó y nuevamente se extrajo con EtOAc (100 mL). La capa orgánica combinada se lavó con salmuera (100 mL), se secó con Na₂SO₄, se filtró y se concentró para dar un aceite. El aceite se sometió a cromatografía sobre gel de sílice (100 g, se eluyó con EtOAc: hexanos 1:1) para dar el compuesto base (4.0 g, 85%) como un aceite de color marrón claro.

Etapa G) N-[2-Benciloxi-5-[(1S)-1-hidroxi-2-[N'-bencil-[(1R)-2-(4-t-butildimetilsililoxifenil)-1-metiletil]amino]etil]fenil]acetamida

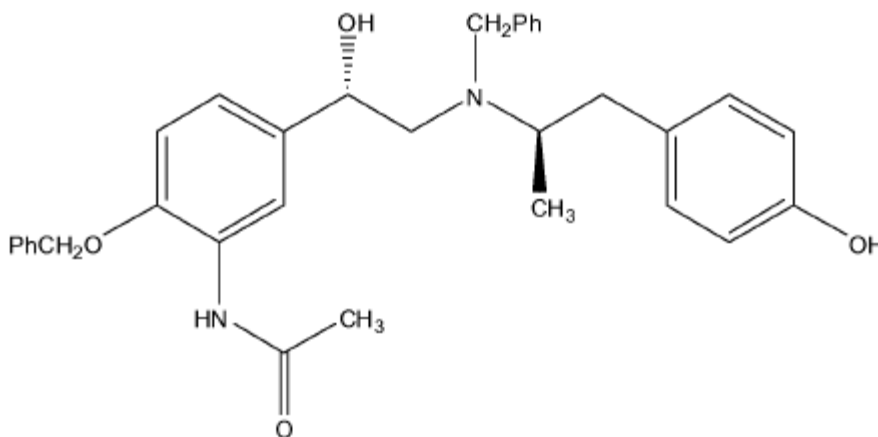


10

15

Una mezcla de los productos de la etapa D) (1.75 g, 6.18 mmol) y F) (2.20 g, 6.19 mmol) se calentó lentamente a 110 °C para dar una solución completa. La solución de reacción se calentó a 120 °C, durante 20 h. La TLC (EtOAc/hexanos, 1:1) mostró un 5% estimado de material de partida restante. Se continuó el calentamiento a 120 °C, durante 5 h, luego la solución se enfrió a temperatura ambiente y se sometió a cromatografía sobre una columna de gel de sílice (200 g) empaquetada y eluida con hexanos/EtOAc (2:1). Las fracciones que contenían material purificado se combinaron, se clarificaron y luego se concentraron a vacío para proporcionar el compuesto base como un aceite de color amarillo, 3.4 g (86%).

Etapa H) N-[2-benciloxi-5-[(1S)-1-hidroxi-2-[N'-bencil-[(1R)-2-(4-t-hidroxifenil)-1-metiletil]amino]etil]fenil]acetamida

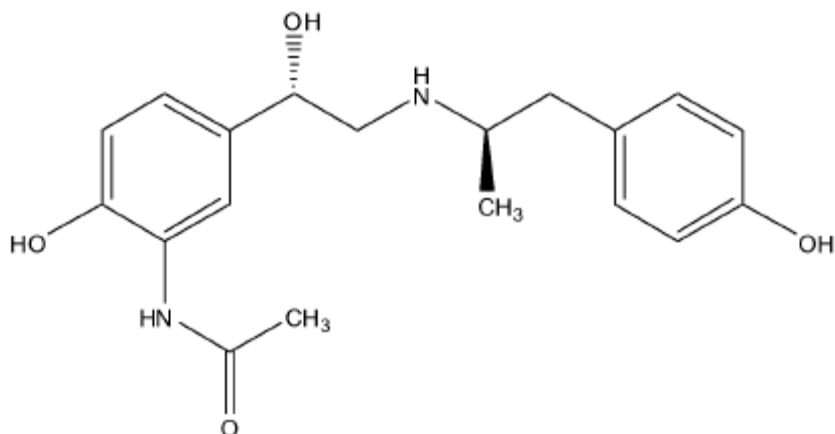


20

25

A una solución agitada del producto de la etapa G) (2.20 g, 3.44 mmol) en THF (22 mL) a 5-10°C, una solución de fluoruro de tetra-n-butilamonio en THF (1.0 M, 4.50 mL, 4.50 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h (Nota 2), y la TLC (EtOAc/hexanos 1:1) mostró un consumo completo de 8. La mezcla de reacción se diluyó con EtOAc (300 mL) y se lavó con H₂O desionizada (4 x 200 mL), luego se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró para dar 9 (2.3 g) en bruto. El material en bruto se purificó en una columna de gel de sílice instantánea (82 g, 2.7 x 35 cm), se empaquetó y se eluyó con EtOAc/hexanos 1:1. Las fracciones que contienen el producto purificado se combinaron y se concentraron para dar un aceite incoloro y viscoso. El aceite se coevaporó con Et₂O (3 x 25 mL) para dar el compuesto base (919 mg, 51%) como un sólido de color blanco.

Etapa I) N-[2-hidroxi-5-[(1S)-1-hidroxi-2-[(1R)-2-(4-hidroxifenil)-1-metiletil]amino]etil]fenil]acetamida



Una mezcla del producto de la etapa H) (900 mg, 1.72 mmol), paladio sobre carbono (500 mg de 10% en peso de Pd) y EtOH (45 mL) se agitó bajo H₂ (50 psi, 344.74 kpa), durante 22 h. La mezcla se clarificó y luego se concentró a vacío para dar un residuo oleoso. El residuo se coevaporó con EtOAc (100 mL) y EtOAc/CH₂Cl₂ (1:1, 100 mL) para dar un sólido de color blanco (536 mg). La TLC (CH₂Cl₂/MeOH 4:1) del sólido mostró algunas impurezas R_f superiores. El sólido se disolvió en CH₂Cl₂ (20 mL)/MeOH (1 mL), luego se concentró en frío a ~10 mL. Se añadieron hexanos (~20 mL), y la mezcla se concentró de nuevo en frío para dar una suspensión. Se añadió una mezcla de Et₂O (5 mL), EtOAc (5 mL) y hexanos (5 mL), y la mezcla se concentró para dar una lechada. Esta lechada se diluyó con hexanos (25 mL) y la suspensión se agitó vigorosamente durante 0.5 h a temperatura ambiente. El sólido se recogió y se lavó con hexanos (25 mL) para dar el compuesto base (318 mg, 54%); m.p. 97-100 °C, con ablandamiento previo (sin corregir). MS m/z: [M+H⁺] 345.1. Espectro de ¹H RMN coherente con la estructura asignada.

Ensayos de unión de radioligandos β₁ y β₂

La afinidad de un compuesto de prueba por los receptores adrenérgicos β₁ y β₂ se investiga evaluando la capacidad del compuesto para desplazar la unión específica de [¹²⁵I]-cianidolol o [³H]-CGP-12177 a receptores β₁ y β₂ recombinantes humanos, respectivamente (expresados en células CHO). La IC₅₀ se define como la concentración que inhibe el 50% de la unión específica del radioligando. La K_i se calcula a partir de la IC₅₀ y la K_D conocida del radioligando (ecuación de Cheng y Prusoff).

En esta prueba, se encontró que el compuesto del ejemplo 1 proporcionaba una K_i de > 20 μM con solo un 30% de inhibición de unión específica a una concentración de 20 μM para el receptor β₁ y de 2.21 μM para el receptor β₂. Se encontró que la proporción de unión β₁/β₂ era > 9.

A modo de comparación, los valores encontrados para el arformoterol y el isómero (S, R) de formoterol fueron 0.155 μM (β₁), 0.004 μM (β₂) y 41 (β₁/β₂), y 2.50 μM (β₁), 0.075 μM (β₂) y 33 (β₁/β₂), respectivamente.

Evaluación de la actividad intrínseca (β₂)

La actividad intrínseca de un compuesto de prueba se evalúa evaluando su capacidad para aumentar la producción de cAMP a partir de los receptores β₂ recombinantes humanos expresados en células CHO. Los datos se expresan como % de respuesta en relación con un aumento de cAMP inducido por procaterol.

Se encontró que el compuesto del ejemplo 1 tiene una actividad intrínseca del 71%.

A modo de comparación, se descubrió que arformoterol y (S, R)-formoterol tenían actividades intrínsecas de 98% y 91%, respectivamente.

Actividad adrenérgica de β₁ y β₂ (funcional)

El agonismo funcional en los receptores β₁ adrenérgicos se demuestra mediante un efecto cronotrópico positivo en aurículas derechas aisladas de cobayas Dunkin Hartley. La concentración que da un 50% de efecto máximo es la EC₅₀.

El agonismo funcional en los receptores β₂ adrenérgicos se demuestra por relajación del tono espontáneo de la tráquea aislada de cobayas Dunkin Hartley. La concentración que da un 50% de efecto máximo es la EC₅₀.

En estos ensayos, no se pudo determinar una EC₅₀ para el compuesto del ejemplo 1 para el ensayo funcional β₁ ya que solo se observó un aumento del 32% en la frecuencia cardíaca a una concentración de 30 μM. Sin embargo, se encontró que el compuesto del ejemplo 1 tenía una EC₅₀ de 120 nM para el receptor β₂. Se encontró que la proporción funcional β₁/β₂ era > 250.

ES 2 684 125 T3

A modo de comparación, los valores encontrados para arformoterol fueron 3 nM (β_1), 0.041 nM (β_2) y 75.

Estabilidad en soluciones acuosas reguladas

Preparaciones de la solución: para cada compuesto de prueba, se preparan las siguientes soluciones.

- 5
- La solución A se prepara a partir de ~ 30 mg del compuesto de prueba en 150 mL de solución reguladora de citrato 0.005 M, pH 5.0 (~ 0.2 mg/mL).
 - La solución B se prepara de la siguiente manera: aproximadamente 30 mL de alícuota de la solución A se transfieren a un recipiente separado y el pH de la solución se ajusta a pH 3.0 con HCl 1 N (~ 0.2 mL).
 - La solución C se prepara de la siguiente manera: aproximadamente 30 mL de alícuota de solución A se transfieren a un recipiente separado y el pH de la solución se ajusta a pH ~ 8,0 con NaOH 1 N (~ 0.2 mL).
- 10 Nota: Debido a que el volumen de HCl 1 N o NaOH 1 N usado para ajustar el pH era insignificante, la concentración del compuesto de prueba en las soluciones A, B y C era la misma.

Esquema de almacenamiento

- Tan pronto como se prepararon las soluciones anteriores, se transfirieron alícuotas de cada solución a 11 viales, de los cuales 9 viales se almacenaron a -20 °C, y cada uno se almacenó a 30 °C y 40 °C, respectivamente.
- 15
- En cada intervalo enumerado a continuación, se retiran dos viales del almacenamiento a -20 °C y se almacenan a 30 °C y 40 °C, respectivamente.
 - Las semanas correspondientes en las condiciones de almacenamiento (30 °C o 40 °C) se muestran en la tabla a continuación.

Semana de retiro del vial	0	4	8	10	11	12
Semanas en condiciones de almacenamiento (30 °C o 40 °C)	12	8	4	2	1	0

- 20 En la semana 12, el último vial almacenado a -20 °C se retira y se calienta hasta la temperatura ambiente, que es la solución del día 0.

Análisis de muestra: en la semana 12, todas las soluciones se ensayaron mediante un método de HPLC usando la solución del día 0 a pH 5 como una solución estándar. Los compuestos de prueba se analizaron mediante HPLC con detección UV (consultar la tabla 1 para conocer las condiciones del método).

Tabla 1 Condiciones del método de HPLC	
Parámetro	Detalle del método
Columna	Zorbax SB C8 150 x 4.6 mm
Fase móvil A	Solución reguladora de fosfato 0.027M (pH 3.2)/ACN, 95/5, v/v
Fase móvil B	Solución reguladora fosfato 0.027M (pH 3.2)/ACN, 30/70, v/v
Temp. de columna	Ambiente
Temp. del muestreador	5 °C
Volumen de inyección	5 µl
Velocidad de flujo	1.0 mL/min
Longitud de onda	PDA 200-350 nm
Tiempo de análisis	55 min

ES 2 684 125 T3

Tabla de gradiente	Tiempo (min)	% A	% B
	0	100	0
	10	90	10
	25	80	20
	35	65	35
	47	0	100
	50	100	0
	55	100	0

Tabla 2 Estabilidad del compuesto del ejemplo 1 en solución acuosa (% de concentración inicial (0,20113 mg/mL) en pH 5.0 solución reguladora de citrato)						
Condición	pH 3.0		pH 5.0		~ pH 8	
Tiempo (sem)	30 °C	40 °C	30 °C	40 °C	30 °C	40 °C
0	99.46	99.46	100.25	100.25	100.38	100.38
1	100.03	99.89	101.22	102.00	99.64	97.44
2	99.84	100.11	101.07	102.73	99.60	93.75
4	101.41	99.54	112.52*	102.94	96.62	86.72
8	100.33	99.18	107.12	122.32*	26.79*	72.25
12	100.29	97.17	107.75	112.61*	89.93	61.36

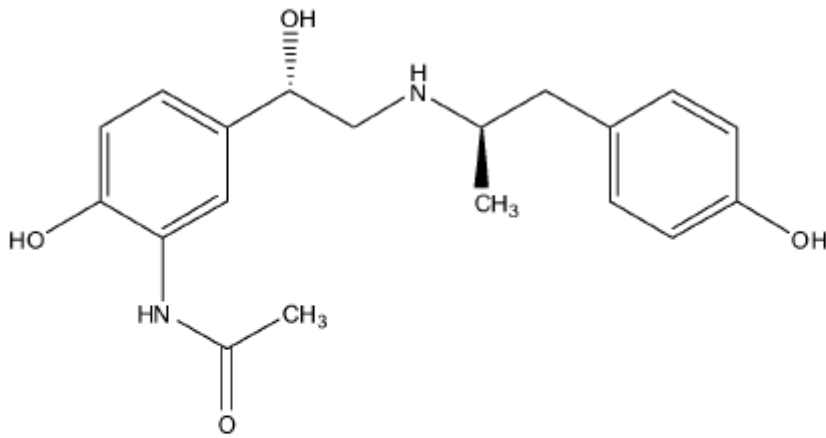
* Estos resultados estaban fuera de la tendencia, pero la causa era desconocida. Los altos resultados a pH 5 pueden deberse a la evaporación a temperatura elevada durante el almacenamiento.

Conclusión: A pH 3 o 5, se encontró que el compuesto del ejemplo 1 era muy estable durante al menos 12 semanas cuando se almacena a 30 °C.

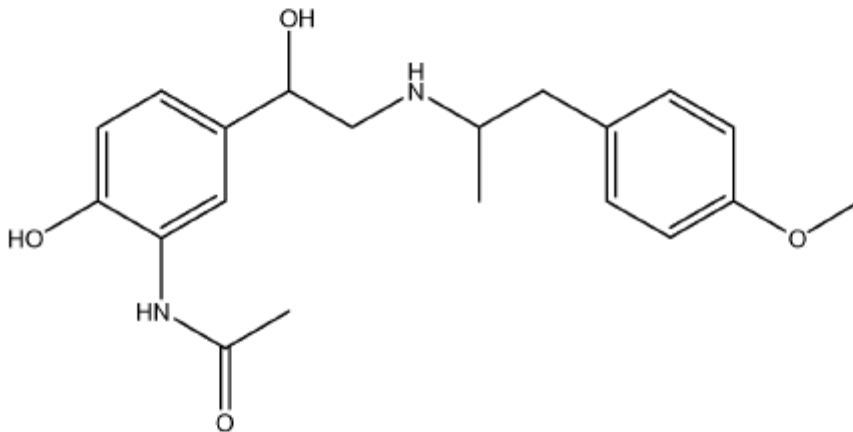
Tabla 3

Compuesto	K _i (μM)		Proporción de enlace β ₁ /β ₂	Actividad funcional EC ₅₀ (nM)		Proporción Funcional β ₁ /β ₂	Actividad intrínseca cAMP (%)	Resultados de cribado secundario % de inhibición de actividad o unión específica a 3 μM				
	β ₁	β ₂		β ₁	β ₂			CYP2D6	α1A	α1B	α1D	SERT
A	12.7	5.13	2.5	(0)	2600	>12	53	64	85	59	75	59
Fórmula I	>20 (30%)	2.21	>9	(32)	120	>250	71	<50	53	<50	<50	<50
B	18.7	6.66	2.8	(0)	2800	>11	52	58	78	<50	60	<50
Arformoterol	0.155	0.004	41	3	0.041	75	98	NT	NT	NT	NT	NT
Levalbuterol	1.54	0.24	6.4	177	747	0.24	17	NT	NT	NT	NT	NT
(S, R) Formoterol	2.50	0.075	33	NT	NT	NT	91	NT	NT	NT	NT	NT

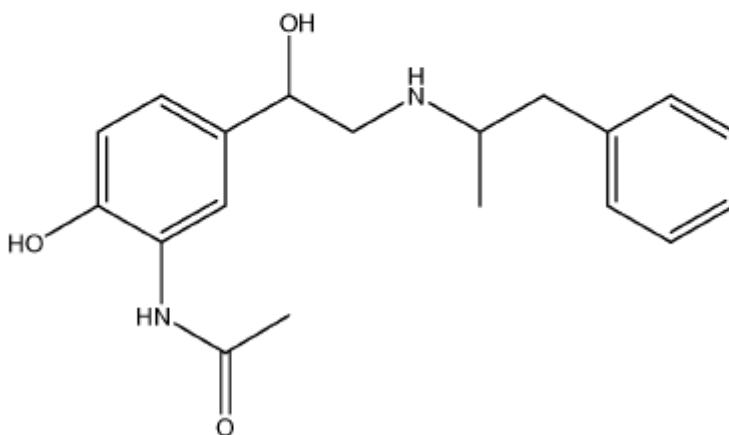
Compuestos en la Tabla 3



Fórmula I



Compuesto A



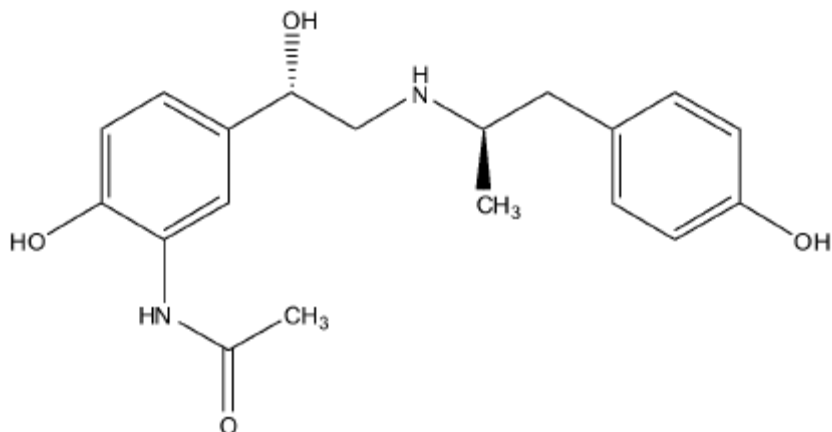
Compuesto B

5

En la tabla 3, los valores de K_i se establecieron usando transportadores recombinantes humanos expresados en células Rex16 (β_1) o células CHO (β_2). El K_i para arformoterol en β_2 fue de 3.76 nM. Para los compuestos en los que no se proporcionan los valores de K_i , el porcentaje de inhibición de la unión específica en la concentración más alta evaluada se encuentra entre paréntesis. La actividad funcional de β_1 EC_{50} es la concentración que dio como resultado un aumento del 50% en la frecuencia auricular en relación con la respuesta de isoproterenol 50 nM en las aurículas aisladas de las cobayas Dunkin Hartley. Los valores entre paréntesis son el % de incremento en la frecuencia auricular a una concentración de 30 μ M. El compuesto A (35%) y el compuesto B (31%) mostraron signos de antagonismo de β_1

5 a una concentración de 30 μM . La actividad funcional de β_2 EC_{50} es la concentración que dio como resultado una relajación del 50% del tono espontáneo con respecto a una respuesta inducida por isoproterenol 15 nM en la tráquea aislada de cobayas Dunkin Hartley. La actividad intrínseca describe el aumento de cAMP en relación con la respuesta de procaterol en células CHO que expresan el adrenoceptor β_2 humano. En la tabla 3, adrenoceptores $\alpha_1 = \alpha_1$, transportador SERT = 5-HT y NT = no evaluado. En los resultados de la selección secundaria, los compuestos se evaluaron por su capacidad para inhibir la unión o actividad específica (CYP450) en un panel de 72 ensayos. Los objetivos indicados son solo aquellos en los que se determinó un enlace o actividad específica > 50%.

La figura 1 muestra los efectos de N-[2-hidroxi-5-[(1S)-1-hidroxi-2-[[1R)-2-(4-hidroxifenil)-1-metiletil]amino]etil]fenil]acetamida, compuesto de fórmula I,

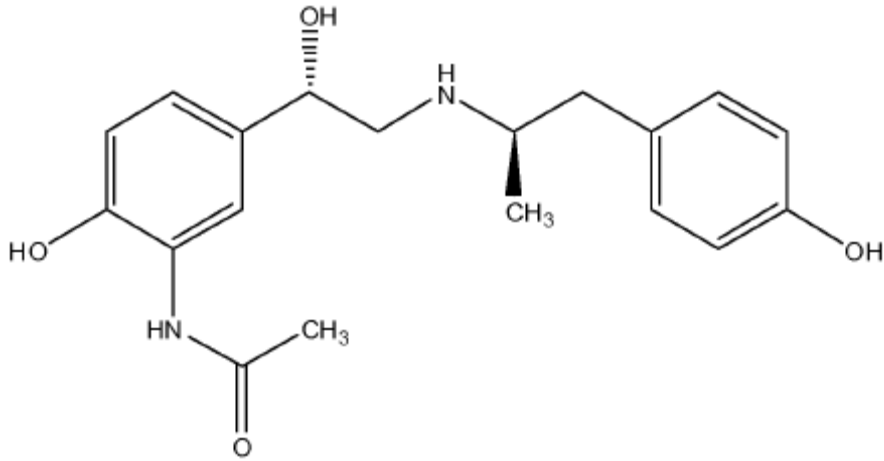


10

sobre los efectos inducidos de la acetilcolina (Ach) en la resistencia de las vías respiratorias. En la figura 1, se puede ver que N-[2-hidroxi-5-[(1S)-1-hidroxi-2-[[1R)-2-(4-hidroxifenil)-1-metiletil]amino]etil]fenil]acetamida es eficaz contra la broncoconstricción.

REIVINDICACIONES

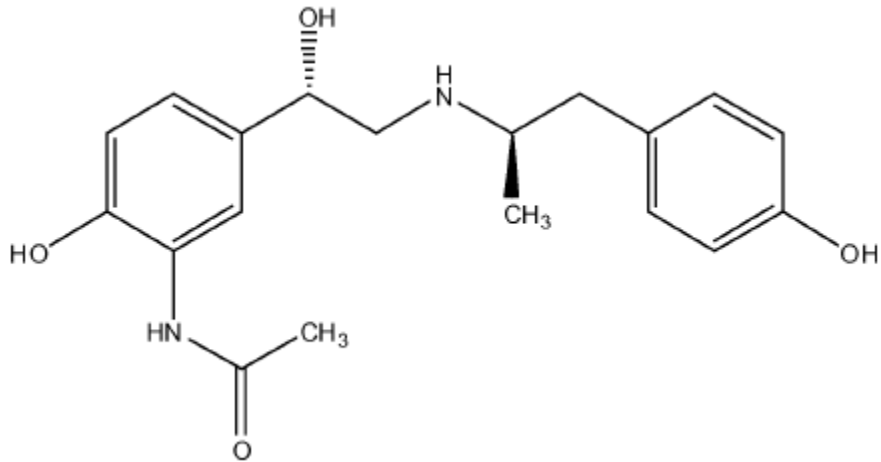
1. Un compuesto de fórmula (I)



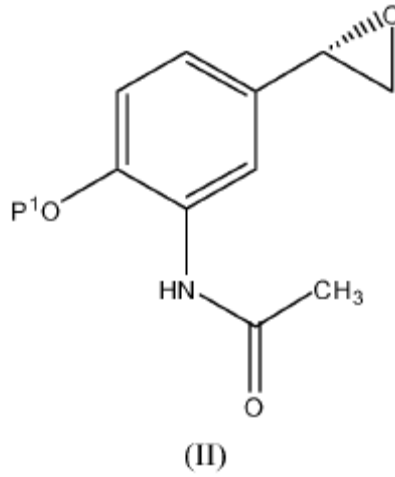
(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

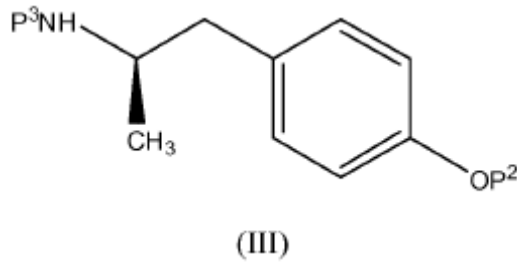
5 2. Un procedimiento de la preparación de



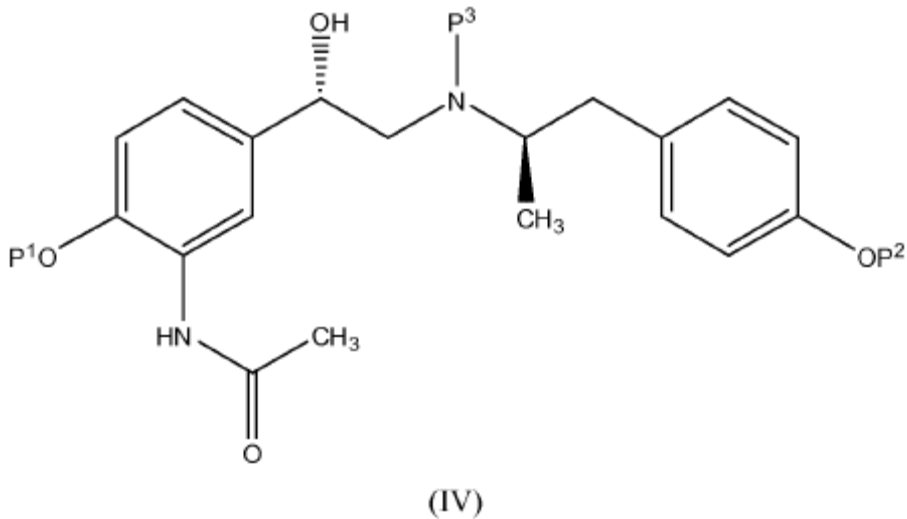
que comprende hacer reaccionar un compuesto de fórmula general (II)



en la que P¹ representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de hidroxilo, con un compuesto de fórmula general (III)

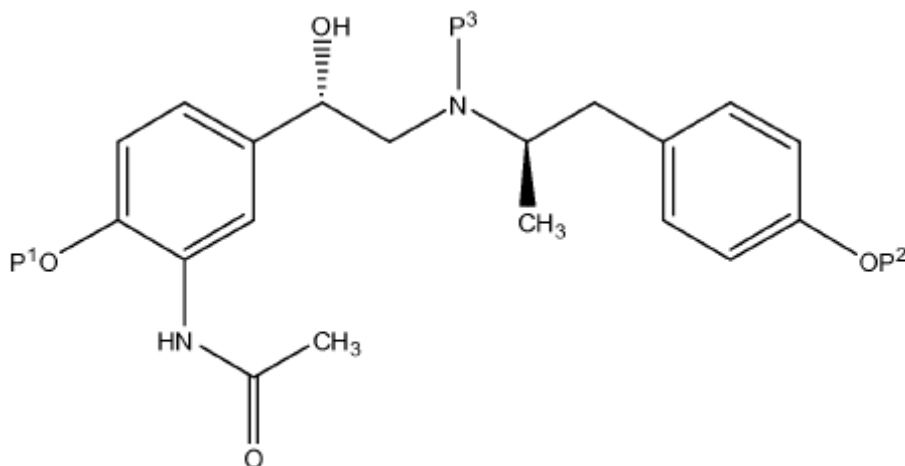


5 en la que P² representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de hidroxilo y P³ representa un grupo protector de amina bencílica, para proporcionar un compuesto de fórmula general (IV)



o una sal del mismo, seguido de la eliminación de cualquier grupo protector P¹, P² y P³ y, si se desea, formar una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable.

10 3. Un compuesto de fórmula general (IV)



(IV)

o una sal del mismo, en la que P¹ y P² representan cada uno un átomo de hidrógeno o un grupo protector de hidroxilo, y P³ representa un átomo de hidrógeno o un grupo protector de amina bencílica, con la condición de que al menos uno de P¹, P² y P³ represente un grupo protector.

- 5 4. Una composición farmacéutica, que comprende un compuesto según la reivindicación 1 y un portador farmacéuticamente aceptable.
5. Una composición farmacéutica según la reivindicación 4, que comprende además un esteroide.
6. Una composición farmacéutica según la reivindicación 5, en la que el esteroide es beclometasona, triamcinolona, flunisolida, mometasona, budesonida o fluticasona.
- 10 7. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 6, que comprende además un antagonista del receptor muscarínico.
8. Una composición farmacéutica según la reivindicación 7, en la que el antagonista del receptor muscarínico es ipratropio o tiotropio.
- 15 9. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 8, que comprende además un anticolinérgico.
10. Una composición farmacéutica según la reivindicación 9, en la que el anticolinérgico es glicopirrolato.
11. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 10 que comprende además un mucolítico.
- 20 12. Una composición farmacéutica según la reivindicación 11, en la que el mucolítico es cromoglicato, acetilcisteína, arginina o 2-mercaptoetanosulfonato.
13. Una composición farmacéutica según una cualquiera de las reivindicaciones 4 a 12, que comprende además un agente antiinflamatorio.
- 25 14. Una composición farmacéutica según la reivindicación 13, en la que el agente antiinflamatorio es un inhibidor del factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) o dipeptidil peptidasa IV, y/o anticuerpos para interleucinas proinflamatorias tales como IL4 e IL13.
15. El compuesto según la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para uso en terapia.
16. El compuesto según la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para usar en el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica o broncoconstricción asociada con una enfermedad obstructiva reversible de las vías respiratorias.
- 30 17. Uso de un compuesto según la reivindicación 1 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para el tratamiento de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica o broncoconstricción asociada con una enfermedad obstructiva reversible de las vías respiratorias.

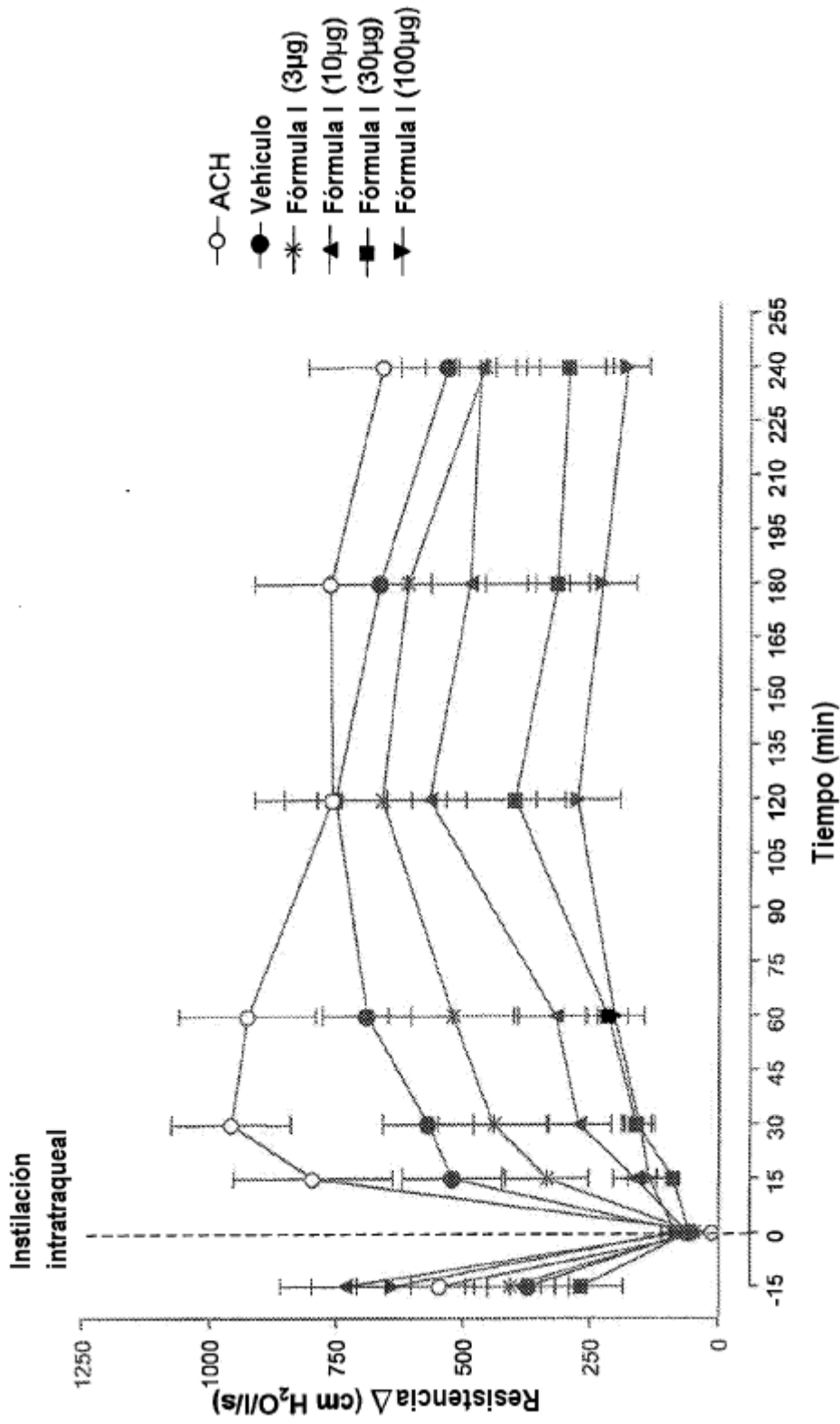


Figura 1