

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 716 303**

51 Int. Cl.:

**A61K 45/06** (2006.01)

**A61K 31/397** (2006.01)

**A61K 31/506** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **21.05.2013 PCT/IB2013/054177**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.12.2013 WO13182933**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.05.2013 E 13732257 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **23.01.2019 EP 2854856**

54 Título: **Uso de agonistas inversos o de antagonistas del receptor de la ghrelina para el tratamiento de trastornos del sueño**

30 Prioridad:

**04.06.2012 US 201261655177 P**  
**16.04.2013 US 201361812416 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**11.06.2019**

73 Titular/es:

**PFIZER INC. (100.0%)**  
**235 East 42nd Street**  
**New York, NY 10017, US**

72 Inventor/es:

**DENNEY, WILLIAM S.;**  
**JACKSON, MARGARET y**  
**SONNENBERG, GABRIELE**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 716 303 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**

Uso de agonistas inversos o de antagonistas del receptor de la ghrelina para el tratamiento de trastornos del sueño

**Campo de la invención**

5 La presente invención se refiere a un compuesto que es un agonista inverso/antagonista del receptor de la ghrelina para su uso en el tratamiento de trastornos del sueño. La invención también se refiere a una composición farmacéutica que contiene dicho compuesto para su uso en el tratamiento de trastornos del sueño.

**Antecedentes**

10 El insomnio, el trastorno del sueño más común, afecta aproximadamente a 50-70 millones de americanos adultos. Se caracteriza por dificultades para quedarse dormido, frecuentes despertares durante la noche, un despertar demasiado temprano y no ser capaz de volver a dormirse, o no sentir sensación de descanso al despertar.

15 Los primeros tratamientos para el insomnio empleaban habitualmente depresores del sistema nervioso central (SNC) tales como los barbituratos. Estos compuestos tienen normalmente unas semividas largas y tienen un espectro de efectos secundarios bien conocido, incluyendo letargia, confusión, depresión y efectos de resaca al día siguiente. Además, el uso crónico se ha asociado con un alto potencial de adicción que implica una dependencia tanto física como psicológica. Los tratamientos se apartaron de los barbituratos y de otros depresores del SNC hacia la clase de agentes sedantes-hipnóticos de las benzodiazepinas. Esta clase de compuestos produce un efecto calmante que da como resultado un estado somnoliento en pacientes y en animales, con un margen de seguridad mayor que los hipnóticos anteriores. Sin embargo, muchas benzodiazepinas poseen efectos secundarios que limitan su utilidad en ciertas poblaciones de pacientes. Estos problemas incluyen una sinergia con otros depresores del SNC (especialmente el alcohol), el desarrollo de tolerancia tras una administración repetida, insomnio de rebote después de la interrupción de la dosificación, efectos de resaca al día siguiente y un deterioro del rendimiento psicomotor y de la memoria. Los tratamientos más recientes para el insomnio han usado compuestos no benzodiazepínicos. Ambien (zolpidem), Sonata (zaleplon) son algunos ejemplos de productos farmacológicos aprobados. Existe una necesidad en la materia de agentes no benzodiazepínicos seguros y terapéuticamente eficaces para el tratamiento de los trastornos del sueño.

20

25

30 El síndrome del comedor nocturno (NES) está asociado generalmente con una ingesta insuficiente de alimentos en la primera mitad del día, una hiperfagia por la noche y a continuación un insomnio y también despertares durante el sueño. Véase, por ejemplo, Vander Wal, Jilion S., Clinical Psychology Review (2012) 32 (1), 49-59. A pesar del aumento en la concienciación del NES, todavía no está reconocido, y lo más importante, las estrategias de tratamiento continúan en investigación, sin éxito.

La presente invención se refiere a un agonista inverso/antagonista del receptor de la ghrelina para su uso en el tratamiento de los trastornos del sueño.

La publicación de patente de los Estados Unidos nº 2011/230461 desvela el compuesto (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona.

35 La publicación de patente internacional W0-2008/008286 desvela pirazoles sustituidos que se dice que son antagonistas del receptor de la ghrelina y útiles en la reducción del apetito. Se dice que los compuestos son útiles en el tratamiento del insomnio/trastorno del sueño.

**Sumario de la invención**

40 La presente invención se refiere a la (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona o a una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en un procedimiento para el tratamiento del insomnio primario en un paciente.

45 En otra realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende la (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona o a una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y al menos un portador, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptable, para su uso en un procedimiento para el tratamiento del insomnio primario en un paciente.

**Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1 es una ilustración gráfica de los efectos del Ejemplo 1 en la reducción de la actividad locomotora en ratas Wistar Han macho 35-65 minutos después de la administración a través de una sonda oral.

50 La Figura 2 es una ilustración gráfica de los efectos de somnolencia del Ejemplo 1 en seres humanos.

La Figura 3 es un ejemplo del patrón de actividad individual de un animal después de una administración una vez al día (QD) del Ejemplo 1 o de vehículo.

La Figura 4 es un ejemplo del patrón de ingesta de alimentos individual de un animal después de una administración QD del Ejemplo 1 o de vehículo.

La Figura 5 proporciona el cambio en la duración del sueño en las 3 horas posteriores a la administración nocturna del Ejemplo 1.

5 La Figura 6 proporciona el cambio en la ingesta de alimentos en las 3 horas posteriores a la administración nocturna del Ejemplo 1.

### **Descripción detallada de la invención**

10 La presente invención se refiere a la (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona o a una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en un procedimiento para el tratamiento del insomnio primario en un paciente.

15 En otra realización, la presente invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de la (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona o de una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y al menos un portador, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptable para su uso en un procedimiento para el tratamiento del insomnio primario en un paciente.

La (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma puede simplemente estar referenciada de forma general en el presente documento como el Ejemplo 1.

20 En otra realización, la (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, puede ser administrada junto con otro agente farmacológicamente activo.

En particular, el Ejemplo 1 puede emplearse junto con otros agentes farmacológicamente activos, también denominados compuestos, que son conocidos en la materia, administrados tanto por separado como en la misma composición farmacéutica, incluyendo, pero no se limitan a: sensibilizantes de la insulina que incluyen (i) antagonistas del PPAR.gamma, tales como las glitazonas (por ejemplo, ciglitazona; darglitazona; englitazona; isaglitazona (MCC-555); pioglitazona; rosiglitazona; troglitazona; tularik; BRL49653; CLX-0921; 5-BTZD), GW-0207, LG-100641 y LY-300512, y similares); (ii) biguanidas tales como metformina y fenformina; (b) insulina o insulinoiméticos, tales como biota, LP-100, novarapid, detemir insulina, lispro insulina, glargine insulina, suspensión de cinc e insulina (lente y ultralente); insulina Lys-Pro, GLP-1 (73-7) (insulinotropina); y GLP-1 (7-36)-NH.sub.2); (c) sulfonilureas, tales como acetohehexamida; clorpropamida; diabinese; glibenclamida; glipizida; gliburida; glimepirida; gliclazida; glipentida; gliquidona; glisolamida; tolazamida; y tolbutamida; (d) inhibidores de la .alfa.-glucosidasa, tales como acarbosa, adiposina; camiglibosa; emiglitato; miglitol; voglibosa; pradimicina-Q; salbostatina; CKD-711; MDL-25,637; MDL-73,945; y MOR 14, y similares); (e) agentes hipocolesterolemiantes tales como (i) inhibidores de la HMG-CoA reductasa (atorvastatina, itavastatina, fluvastatina, lovastatina, pravastatina, rivastatina, rosuvastatina, simvastatina y otras estatinas), (ii) absorbentes/secuestrantes de ácidos biliares, tales como colestiramina, colestipol, derivados de dialquilaminoalquilo de un dextrano reticulado; Colestid.RTM.; LoCholest.RTM., y similares, (ii) alcohol nicotínico, ácido nicotínico o una sal del mismo, (iii) agonistas del receptor proliferador-activador.alfa, tales como los derivados del ácido fenofibrato (gemfibrozilo, clofibrato, fenofibrato y benzafibrato), (iv) inhibidores de la absorción del colesterol, tales como ésteres de estanol, beta-sitosterol, glicósidos de esterol tales como tiquesida; y azetidinonas tales como ezetimibe, y similares e inhibidores (acil CoA:colesterol aciltransferasa (ACAT)) tales como avasimibe y melinamida, (v) antioxidantes, tales como probucol, (vi) vitamina E y (vii) tiromiméticos; (f) agonistas del PPAR.alfa, tales como beclofibrato, benzafibrato, ciprofibrato, clofibrato, etofibrato, fenofibrato y gemfibrozilo; y otros derivados del ácido fibrato, tales como Atromid.RTM., Lopid.RTM. y Tricor.RTM., y similares, y los agonistas del PPAR.alfa, según se describe en el documento WO 97/36579 de Glaxo; (g) agonistas del PPAR.delta.; (h) agonistas del PPAR .alfa./delta., tales como muraglitazar y los compuestos divulgados en la Patente de Estados Unidos nº 6.414.002; y (i) agentes antiobesidad, tales como (1) secretagogos de la hormona del crecimiento, agonistas/antagonistas del receptor secretagogo de la hormona del crecimiento, tales como NN703, hexarrelina, MK-0677, SM-130686, CP-424.391, L-692.429 y L-163.255; (2) inhibidores de la fosfatasa de proteína tirosina 1 B (PTP-1B); (3) ligandos del receptor cannabinoide, tales como antagonistas o agonistas inversos del receptor cannabinoide CB.sub.1, tales como rimonabant (Sanofi Synthelabo), AMT-251 y SR-14778 y SR 141716A (Sanofi Synthelabo), SLV-319 (Solvay), BAY 65-2520 (Bayer); (4) agentes serotoninérgicos antiobesidad, tales como fenfluramina, dexfenfluramina, fentermina y sibutramina; (5) agonistas del adrenergico .beta.3-, tales como AD9677/TAK677 (Dainippon/Takeda), CL-316,243, SB 418790, BRL-37344, L-796568, BMS-196085, BRL-35135A, CGP12177A, BTA-243, Trecadrine, Zeneca D7114, SR 59119A; (6) inhibidores de la lipasa pancreática, tales como orlistat (Xenical.RTM.), Triton WR1339, RHC80267, lipostatina, tetrahidrolipostatina, teasaponina, fosfato de dietilumbeliferilo; (7) antagonistas del neuropéptido Y1, tales como BIBP3226, J-115814, BIBO 3304, LY-357897, CP-671906, GI-264879A; (8) antagonistas del neuropéptido Y5, tales como GW-569180A, GW-594884A, GW-587081X, GW-548118X, FR226928, FR240662, FR252384, 1229U91, GI-264879A, CGP71683A, LY-377897, PD-160170, SR-120562A, SR-120819A y JCF-104; (9) antagonistas del receptor de la

hormona concentradora de la melanina (MCH); (10) antagonistas del receptor de la hormona concentradora de la melanina 1 (MCH1R), tales como T-226296 (Takeda); (11) agonista/antagonistas del receptor de la hormona concentradora de la melanina 2 (MCH2R); (12) antagonistas del receptor de la orexina, tales como SB-334867-A y los divulgados en las publicaciones de patente del presente documento; (13) inhibidores de la recaptación de serotonina tales como fluoxetina, paroxetina y sertralina; (14) agonistas de la melanocortina, tales como Melanotan II; (15) otros agonistas del Mc4r (receptor de la melanocortina 4), tales como CHIR86036 (Chiron), ME-10142 y ME-10145 (Melacure), CHIR86036 (Chiron); PT-141 y PT-14 (Palatin); (16) agonistas de la 5HT-2; (17) agonistas del 5HT2C (el receptor de la serotonina 2C), tales como BVT933, DPCA37215, WAY161503, R-1065; (18) antagonistas de la galanina; (19) agonistas de la CCK; (20) agonistas de la CCK-A (colecistocinina-A), tales como AR-R 15849, GI 181771, JMV-180, A-71378, A-71623 y SR14613; (22) agonistas de la hormona liberadora de corticotropina; (23) moduladores del receptor de la histamina 3 (H3); (24) antagonistas/agonistas inversos del receptor de la histamina 3 (H3), tales como hioperamida, N-(4-pentenil)carbamato de 3-(1H-imidazol-4-il)propilo, clobenpropit, yodofenpropit, imoproxifan, GT2394 (Gliatech) y O-[3-(1H-imidazol-4-il)propanol]-carbamatos; (25) inhibidores de la deshidrogenasa de .beta.-hidroxi esteroide 1 (.beta.-HSD-1); (26) inhibidores de la PDE (fosfodiesterasa), tales como teofilina, pentoxifilina, zaprinast, sildenafil, aminona, milrinona, cilostamida, rolipram y cilomilast; (27) inhibidores de la fosfodiesterasa 3B (PDE3B); (28) inhibidores del transporte de la NE (norepinefrina), tales como GW 320659, despiramina, talsupram y nomifensina; (29) un segundo o un tercer agonista inverso o antagonista del receptor de la ghrelina; (30) leptina, incluyendo la leptina recombinante del paciente (PEG-OB, Hoffman La Roche) y la metionil leptina recombinante del paciente (Amgen); (31) derivados de la leptina; (32) agonistas del BRS3 (receptor de la bombesina del subtipo 3) tales como [D-Phe6,beta-Ala11,Phe13,Nle14]Bn(6-14) y [D-Phe6,Phe13]Bn(6-13)propilamida y los compuestos divulgados en Pept. Sci. Agosto de 2002; 8 (8): 461-75; (33) CNTF (factores neurotróficos ciliares), tales como GI-181771 (GlaxoSmithKline), SR146131 (Sanofi Synthelabo), butabindida, PD170.292 y PD149164 (Pfizer); (34) derivados del CNTF, tales como axokine (Regeneran); (35) inhibidores de la recaptación de monoamina, tales como sibutramina; (36) activadores de la UCP-1 (proteína desacoplante -1), 2 o 3, tales como el ácido fitánico, el ácido 4-[(E)-2-(5,6,7,8-tetrahidro-5,5,8,8-tetrametil-2-naftalenil)-1-propenil]benzoico (TTNPB), el ácido retinoico; (37) agonistas .beta. de la hormona tiroidea, tales como KB-2611 (KaroBioBMS); (38) inhibidores de la FAS (sintasa de ácido graso), tales como cerulenina y C75; (39) inhibidores de la DGAT1 (transferasa de diacilglicerol de acilo 1); (40) inhibidores de la DGAT2 (aciltransferasa de diacilglicerol 2); (41) inhibidores de la ACC2 (carboxilasa de acetil-CoA 2); (42) antagonistas de glucocorticoides; (43) acil-estrógenos, tales como oleoil-estrone, divulgados en del Mar-Grasa, M. et al., Obesity Research, 9: 202-9 (2001); (44) inhibidores de la peptidasa de dipeptidilo IV (DP-IV), tales como tiazolidida de isoleucina, pirrolidida de valina, NVP-DPP728, LAF237, MK-431, P93/01, TSL 225, TMC-2A/2B/2C, FE 999011, P9310/K364, VIP 0177, SDZ 274-444; (46) inhibidores del transportador de dicarboxilato; (47) inhibidores del transportador de glucosa; (48) inhibidores del transportador de fosfato; (49) metformina (Glucophage.RTM.); y (50) topiramato (Topimax.RTM.); y (50) el péptido YY, PYY 3-36, análogos, derivados y fragmentos del péptido YY tales como BIM-43073D, BIM-43004C (Olitvak, D. A. et al., Dig. Dis. Sci. 44 (3): 643-48 (1999)); (51) agonistas del receptor del neuropéptido Y2 (NPY2) tales NPY3-36, N acetil [Leu(28,31)] NPY 24-36, TASP-V y ciclo-(28/32)-Ac-[Lys28-Glu32]-(25-36)-pNPY; (52) agonistas del neuropéptido Y4 (NPY4) tales como el péptido pancreático (PP) y otros agonistas del Y4 tales como 1229U91; (54) inhibidores de la ciclooxigenasa 2 tales como etoricoxib, celecoxib, valdecoxib, parecoxib, lumiracoxib, BMS347070, tiracoxib o JTE522, ABT963, CS502 y GW406381, y las sales farmacéuticamente aceptables de los mismos; (55) antagonistas del neuropéptido Y1 (NPY1) tales como BIBP3226, J-115814, BIBO 3304, LY-357897, CP-671906, GI-264879A; (56) antagonistas opioides tales como nalmeveno (Revex.RTM.), 3-metoxinaltrexona, naloxona, naltrexona; (57) inhibidor de la 11.beta. HSD-1 (deshidrogenasa del 11-beta hidroxi esteroide de tipo 1) tales como BVT 3498, BVT 2733; (58) un minorex; (59) anfecloral; (60) anfetamina; (61) benzfetamina; (62) clorfentermina; (63) clobenzorex; (64) cloforex; (65) clominorex; (66) clortermina; (67) ciclexedrina; (68) dextroanfetamina; (69) difemetoxidina, (70) N-etilanfetamina; (71) fenbutrazato; (72) fenisorex; (73) fenproporex; (74) fludorex; (75) fluminorex; (76) furfurilmetilanfetamina; (77) levamfetamina; (78) levofacetoperano; (79) mefenorex; (80) metamfepramona; (81) metanfetamina; (82) norpseudoefedrina; (83) pentorex; (84) fendimetrazina; (85) fenmetrazina; (86) picilorex; (87) fitofarm 57; y (88) zonisamida.

El término "sal farmacéuticamente aceptable" según se usa en el presente documento significa aquellas sales que son, en el ámbito de un juicio médico razonable, adecuadas para su uso en contacto con los tejidos de los pacientes y de los animales inferiores sin una indebida toxicidad, irritación, respuesta alérgica y similares, y son proporcionados con una relación riesgo/beneficio razonable. Las sales farmacéuticamente aceptables son bien conocidas en la materia. Por ejemplo, S. M. Berge et al. describen sales farmacéuticamente aceptables con detalle en Berge et al., J. Pharmaceutical Sciences, 1977, 66: 1-19. Las sales pueden prepararse *in situ* durante el aislamiento y la purificación finales del Ejemplo 1 de la presente invención, o aparte mediante la reacción de la base libre del Ejemplo 1 con un ácido orgánico o inorgánico adecuado. Algunas sales de adición ácida representativas incluyen, pero no se limitan a acetato, adipato, alginato, citrato, aspartato, benzoato, bencensulfonato, bicarbonato, bisulfato, butirato, canforato, canforsulfonato, citrato, digluconato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxietansulfonato (isetionato), lactato, maleato, metansulfonato, nicotinato, 2-naftalensulfonato, oxalato, pamoato, pectinato, persulfato, 3-fenilpropionato, fosfato, picrato, pivalato, propionato, succinato, sulfato, tartrato, tiocianato y p-toluensulfonato.

El término "receptor de la ghrelina" según se usa en el presente documento significa un receptor acoplado a una proteína G, conocido como el receptor secretagogo de la hormona de crecimiento (GHSR1a o GHS-1aR).

El término "trastornos del sueño" según se usa en el presente documento incluye aproximadamente 70 síndromes caracterizados por una alteración en la cantidad, la calidad o la cronología del sueño del paciente o por unos comportamientos o condiciones fisiológicas asociadas con el sueño. Algunos ejemplos representativos de síndromes de trastorno del sueño incluyen, pero no se limitan a, insomnio, insomnio primario, apnea del sueño, narcolepsia, síndrome de las piernas inquietas, trastorno de los ritmos circadianos del sueño, trastorno del comportamiento del sueño REM, sonambulismo, bruxismo durante el sueño (rechinar de los dientes), hipersomnia, síndrome de la cabeza que explota, parálisis del sueño y excesiva somnolencia diurna (EDS).

El término "paciente" según se usa en el presente documento significa un ser humano.

Pueden prepararse las composiciones farmacéuticas que comprenden el Ejemplo 1, formulado junto con uno o más portadores no tóxicos farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas pueden estar formuladas especialmente para su administración oral en forma sólida o líquida, para su inyección parenteral o para su administración rectal.

El término "portador farmacéuticamente aceptable" según se usa en el presente documento significa un agente de relleno no tóxico, inerte, sólido, semisólido o líquido, un diluyente, un material de encapsulación o un auxiliar de formulación de cualquier tipo. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables son azúcares tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados tales como carboximetil celulosa de sodio, etil celulosa y acetato de celulosa; tragacanto en polvo; malta; gelatina; talco; excipientes tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles; tales como un propilenglicol; ésteres tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponantes tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido alginico; agua exenta de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; soluciones de alcohol etílico y tampón de fosfato, así como también pueden estar presentes en la composición otros lubricantes compatibles no tóxicos tales como lauril sulfato de sodio y estearato de magnesio, así como agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, edulcorantes, agentes saborizantes y aromatizantes, conservantes y antioxidantes, según el juicio del formulador. La presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden el Ejemplo 1, formulado junto con uno o más portadores no tóxicos farmacéuticamente aceptables. Las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas para su administración oral en forma sólida o líquida, para su inyección parenteral o para su administración rectal.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden ser administradas a los pacientes por vía oral, parenteral, intraperitoneal, tópica (tal como en forma de polvos, de ungüentos o de gotas), bucal o en forma de un nebulizador oral o nasal. El término "parenteral," según se usa en el presente documento, se refiere a los modos de administración que incluyen una inyección intravenosa, intramuscular, intraperitoneal, intraesternal, subcutánea, intraarticular y una infusión.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención para su inyección parenteral comprenden soluciones acuosas o no acuosas estériles, dispersiones, suspensiones o emulsiones y polvos estériles farmacéuticamente aceptables para su reconstitución en soluciones o dispersiones estériles inyectables. Algunos ejemplos de portadores, diluyentes, disolventes o vehículos acuosos y no acuosos adecuados incluyen agua, etanol, polioles (propilenglicol, polietilenglicol, glicerol, y similares), las mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales (tales como aceite de oliva) y ésteres orgánicos inyectables tales como oleato de etilo. La apropiada fluidez puede ser mantenida, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula necesario en el caso de las dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como agentes conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. La prevención de la acción de los microorganismos puede asegurarse mediante diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, cloruro de sodio y similares. La absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede conseguirse mediante el uso de agentes retardantes de la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

En algunos casos, con objeto de prolongar el efecto de un fármaco, a menudo es deseable ralentizar la absorción del fármaco desde la inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede llevarse a cabo mediante el uso de una suspensión líquida de un material cristalino o amorfo con poca solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución, que a su vez, puede depender del tamaño del cristal y de la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de un fármaco administrado por vía parenteral se lleva a cabo mediante la disolución o la suspensión del fármaco en un vehículo oleoso.

Las suspensiones, además del Ejemplo 1, pueden contener agentes suspensores, como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, polioxietilén sorbitol y ésteres de sorbitano, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar, tragacanto y mezclas de los mismos.

Si se desea y para una distribución más eficaz, el Ejemplo 1 puede ser incorporado en sistemas de liberación lenta o

de administración dirigida tales como matrices poliméricas, liposomas y microesferas. Pueden ser esterilizados, por ejemplo, mediante una filtración a través de un filtro de retención de bacterias o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles, que pueden disolverse en agua estéril o en cualquier otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso.

- 5 El Ejemplo 1 también puede estar en una forma microencapsulada, si fuera apropiado, con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables según se ha indicado anteriormente. Las formas de dosificación sólida de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden ser preparadas con recubrimientos y cubiertas tales como recubrimientos entéricos, recubrimientos de liberación controlada y otros recubrimientos bien conocidos en el arte de la formulación farmacéutica. En dichas formas de dosificación sólidas, el Ejemplo 1 puede mezclarse con al menos otro diluyente inerte tal como sacarosa, lactosa o almidón. Dichas formas de dosificación también pueden comprender, al igual que en la práctica normal, sustancias adicionales distintas a los diluyentes inertes, por ejemplo, lubricantes de compresión y otros coadyuvantes de compresión tales como estearato de magnesio y celulosa microcristalina. En el caso de las cápsulas, los comprimidos y las píldoras, las formas de dosificación también pueden comprender agentes tamponantes. Opcionalmente pueden contener agentes opacificantes y también pueden tener una composición tal que liberen el (los) principio(s) activo(s) única o preferentemente en una cierta parte del tracto intestinal de una forma retardada. Algunos ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras.

20 Las formas inyectables *depot* se elaboran mediante la formación de matrices microencapsuladas del fármaco en polímeros biodegradables tales como polilactida-policápolido. Dependiendo de la proporción entre el fármaco y el polímero, y de la naturaleza del polímero en particular empleado, puede controlarse la velocidad de liberación del fármaco. Algunos ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables *depot* también se preparan mediante el atrapamiento del fármaco en liposomas o en microemulsiones que son compatibles con los tejidos corporales.

25 Las formulaciones inyectables pueden ser esterilizadas, por ejemplo, mediante una filtración a través de un filtro de retención de bacterias o mediante la incorporación de agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse o dispersarse en agua estéril o en otro medio inyectable estéril justo antes de su uso.

30 Las preparaciones inyectables, por ejemplo, las suspensiones inyectables estériles acuosas u oleaginosas, pueden formularse según la técnica conocida mediante el uso de los adecuados agentes dispersantes o humectantes y de agentes suspensores. La preparación inyectable estéril también puede ser una solución, una suspensión o una emulsión inyectable estéril en un diluyente o un disolvente no tóxico parenteralmente aceptable tal como una solución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y los disolventes aceptables que pueden emplearse están agua, solución de Ringer, solución de cloruro de sodio U.S.P. e isotónica. Además, convencionalmente se emplean aceites no volátiles estériles como un disolvente o un medio de suspensión. Para este fin puede emplearse cualquier aceite fijo blando, incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, en la preparación de inyectables se usan ácidos grasos tales como el ácido oleico.

40 Las formas de dosificación sólida para su administración oral incluyen cápsulas, comprimidos, píldoras, polvos y gránulos. En dichas formas de dosificación sólida, el Ejemplo 1 se mezcla con al menos un portador inerte farmacéuticamente aceptable tal como citrato de sodio o fosfato de calcio y/o a) agentes de relleno o expansores tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y ácido salicílico; b) aglutinantes tales como carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y acacia; c) humectantes tales como glicerol; d) agentes disgregantes tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o de tapioca, ácido algínico, ciertos silicatos y carbonato de sodio; e) agentes retardantes de la disolución tales como parafina; f) acelerantes de la absorción tales como compuestos de amonio cuaternario; g) agentes humectantes tales como alcohol cetílico y monoestearato de glicerol; h) absorbentes tales como caolín y arcilla de bentonita; y i) lubricantes tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, lauril sulfato de sodio y mezclas de los mismos. En el caso de las cápsulas, los comprimidos y las píldoras, la forma de dosificación también puede comprender agentes tamponantes.

50 También pueden emplearse composiciones sólidas de un tipo similar como agentes de relleno en cápsulas de gelatina blanda y dura usando lactosa, así como polietilenglicoles de alto peso molecular, y similares.

55 Las formas de dosificación sólida de comprimidos, grageas, cápsulas, píldoras y gránulos pueden ser preparadas con unos recubrimientos y unas cubiertas tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos bien conocidos en el arte de la formulación farmacéutica. Opcionalmente pueden contener agentes opacificantes y también pueden tener una composición tal que liberen el (los) principio(s) activo(s) única o preferentemente en una cierta parte del tracto intestinal de una forma retardada. Algunos ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras

Las formas de dosificación líquida para su administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, soluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del Ejemplo 1, las formas de dosificación líquida pueden contener los diluyentes inertes usados habitualmente en la materia tales como, por ejemplo, agua u

5 otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, dimetilformamida, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, de cacahuete, de maíz, de germen, de oliva, de ricino y de sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurfurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitano, y mezclas de los mismos.

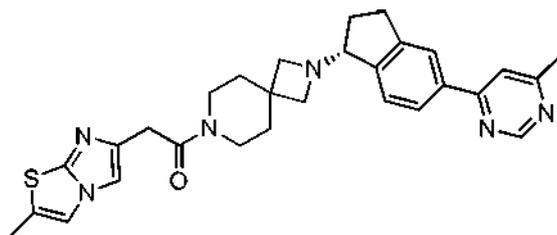
Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y suspensores, edulcorantes, agentes saborizantes y aromatizantes.

10 Los niveles de dosificación reales del Ejemplo 1 en las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden variarse de forma que se obtenga una cantidad del Ejemplo 1 que sea eficaz para conseguir la respuesta terapéutica deseada para un paciente, unas composiciones y un modo de administración en particular. El nivel de dosis seleccionado dependerá de la vía de administración, de la gravedad de la afección que se va a tratar y del estado y los antecedentes médicos previos del paciente que se va a tratar.

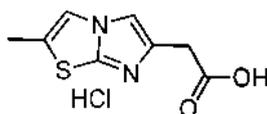
15 La dosis diaria total del Ejemplo 1 administrada a un paciente es de entre aproximadamente 0,003 y aproximadamente 10 mg/kg/día. Para fines de administración oral, las dosis más preferibles pueden estar en el intervalo de entre aproximadamente 0,01 y aproximadamente 5 mg/kg/día. Las dosis preferidas varían entre 25 y 300 mgs por día. Lo más preferido es entre 75 y 200 mgs por día. Si se desea, la dosis diaria eficaz puede ser dividida en múltiples dosis con fines de administración, por ejemplo, dos o tres dosis individuales por día.

20 La (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona puede prepararse usando la metodología sintética divulgada en el presente documento o en el documento US 2011/0230461.

### Ejemplo 1



(R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona



25 Clorhidrato del ácido 2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)acético

30 Se añadió una solución de bromo (436 g, 2,73 mol) en ácido acético (750 ml) a una solución de 3-oxobutanoato de etilo (355 g, 2,73 mol) en ácido acético (1.000 ml). La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante 72 horas y se concentró a presión reducida a 45 °C para retirar el ácido acético. El residuo se particionó entre cloruro de metileno (400 ml) y agua (250 ml). La capa orgánica se lavó con bicarbonato de sodio saturado (2 x 300 ml), agua (300 ml) y salmuera (125 ml) y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La solución se filtró y se concentró para dar el 4-bromo-3-oxobutanoato de etilo en forma de un aceite de color amarillo (421 g).

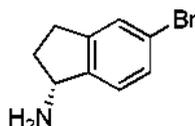
35 A una solución de 2-amino-5-metil-tiazol (150 g, 1,31 mol) en acetona (1.500 ml) se añadió lentamente 4-bromo-3-oxobutanoato de etilo (345 g, 1,65 mol). La temperatura de la mezcla de reacción se mantuvo entre 22-40 °C. La mezcla se transformó en una pasta espesa y se añadió acetona (300 ml) para facilitar la agitación. Después de agitar a la temperatura ambiente durante una noche, la mezcla se filtró y la torta del filtro se lavó con acetona para proporcionar un sólido de color blanco. El sólido se lavó con hexanos y se secó en un horno de vacío a 40 °C durante 4 horas para dar el bromhidrato del etil éster del ácido 4-(2-amino-5-metil-tiazol)-3-oxobutírico (272 g).

40 Al bromhidrato del etil éster del ácido 4-(2-amino-5-metil-tiazol)-3-oxobutírico (272 g, 0,84 mol) se añadió etanol anhidro (675 ml) y la mezcla espesa se calentó a 90 °C durante 2 horas. Durante este tiempo, los sólidos se disolvieron. La mezcla de reacción se concentró para dar un semisólido de color pardo que se trituroó con etanol para proporcionar un sólido esponjoso de color blanco que se recogió mediante una filtración. Los sólidos se lavaron con Et<sub>2</sub>O y se secaron a vacío a 40 °C durante 4 horas para dar el bromhidrato del (2-metilimidazo[2,1-b][1,3]tiazol-6-il)acetato de etilo (226 g).

45 El bromhidrato del (2-metilimidazo[2,1-b][1,3]tiazol-6-il)acetato de etilo (226 g, 0,74 mol) se disolvió en agua (350 ml)

y la solución se ajustó a un pH de 7 mediante la adición de carbonato de potasio (51,0 g, 0,37 mol). La solución acuosa se extrajo con cloruro de metileno (300 ml) y la fase orgánica se lavó con salmuera (150 ml), se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se filtró y se concentró para dar el (2-metilimidazo[2,1-b][1,3]tiazol-6-il)acetato de etilo en forma de un aceite de color pardo (151,3 g).

- 5 El (2-metilimidazo[2,1-b][1,3]tiazol-6-il)acetato de etilo (151,3 g, 0,67 mol) se disolvió en HCl acuoso al 10 % (435 ml) y la mezcla se calentó a reflujo durante 2 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y se concentró a vacío para dar un aceite de color amarillo. Se añadieron etanol (100 ml) y éter dietílico (200 ml) y el precipitado de color blanco resultante se recogió mediante una filtración y se secó en un horno de vacío durante una noche para dar 144,3 g (93 %) del compuesto del título. EM (ES<sup>+</sup>) 197,1 (M + H)<sup>+</sup>. RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ 2,48 (s, 3H), 3,88 (s, 2H), 7,81 (s, 1H), 7,85 (s, 1H).

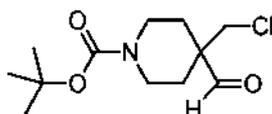


(R)-5-bromo-2,3-dihidro-1H-inden-1-amina

- 15 Se cargó un matraz de fondo redondo de 22 l de 5 cuellos con 5-bromo-1-indanona (1,0 kg, 4,72 mol), THF anhidro (8 l) y (R)-metil-CBS-oxazaborolidina (730 ml, 0,73 mol) y se enfrió hasta -10 °C bajo N<sub>2</sub>. Se añadió gota a gota borano-sulfuro de metilo (10,0 M, 650 ml, 6,5 mol) durante 1 hora mientras se mantenía la temperatura por debajo de -5 °C. La mezcla se agitó a entre -10 °C y 0 °C durante 3 horas y se inactivó con agua (4 l) a una velocidad tal que se mantuviera la temperatura de la reacción por debajo de 5 °C. La mezcla se extrajo con EtOAc (3x3 l). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera (2 l), se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron para dar un sólido de color amarillo. El producto en bruto se pasó a través de una columna corta de gel de sílice (3 l de gel de sílice empaquetado con Et<sub>3</sub>N al 1 % en hexanos) y se eluyó con EtOAc/hexanos (1/3). El filtrado se concentró y el residuo se suspendió con EtOAc al 10 % en hexanos, se filtró y se secó para dar 585 g de un sólido de color blanquecino en forma del (S)-5-bromo-indan-1-ol. Las aguas madres se reconcentraron, se suspendieron con EtOAc al 10 % en hexanos y se filtraron para dar otros 200 g del sólido de color amarillo en forma del (S)-5-bromo-indan-1-ol. Los lotes combinados (785 g, 78 %) se llevaron hasta la siguiente etapa sin ninguna purificación adicional.

- 20 Se enfrió una solución del (S)-5-bromo-indan-1-ol (288 g, 1,35 mol) en tolueno (2 l) en un baño de hielo bajo N<sub>2</sub> y se trató con azida difenilfosfórica (DPPA, 400 ml, 1,85 mol) en una porción, seguido de una solución de 1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno (300 ml, 2,01 mol) en tolueno (600 ml). La temperatura de la reacción se mantuvo a entre 3 y 10 °C durante las 3 horas de adición, y la mezcla se calentó a 15 °C durante 3 horas (la TLC indicó que no había material de partida). La mezcla se diluyó con EtOAc (1 l) y se lavó con agua (3x2 l). La capa orgánica se secó sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró para dar 516 g de un aceite de color oscuro. El producto en bruto se purificó mediante una columna de gel de sílice (empaquetada con Et<sub>3</sub>N al 1 % en hexanos, eluyente de hexano) para dar el (R)-1-azido-5-bromoindano (291 g, 90 %) en forma de un aceite que se usó directamente en la siguiente etapa.

- 35 Se disolvió una solución del (R)-1-azido-5-bromo-indano (154 g, 0,645 mol) en metanol (2,4 l) y se añadió SnCl<sub>2</sub> · 2 H<sub>2</sub>O (265 g, 1,18 mol). La mezcla se agitó a la temperatura ambiente durante una noche (la TLC indicó que no había material de partida) y se concentró a sequedad. El residuo resultante se trató con NaOH acuoso 2 N (2,5 l) y EtOAc (1,5 l). La mezcla se agitó durante 1 hora y se filtró a través de Celite® con la ayuda de EtOAc (3 x 250 ml). La solución orgánica se separó y la capa acuosa se extrajo con EtOAc (3 x 2 l). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con HCl 1 N (2 x 2 l) seguido de agua (2 l). El pH de las capas acuosas combinadas se ajustó a 11 con una solución fría saturada de NaOH y la mezcla se extrajo con EtOAc (3x2 l). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre MgSO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron para dar (87,5 g, 64,0 %) de la (R)-5-bromo-2,3-dihidro-1H-inden-1-amina en forma de un aceite de color amarillo oscuro que solidificó después de un enfriamiento. EM (ES<sup>+</sup>) 213,9 (M + H)<sup>+</sup>. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,70 - 1,75 (m, 1 H), 2,40 - 2,45 (m, 1 H), 2,77 - 2,82 (m, 1 H), 2,93 - 2,97 (m, 1 H), 4,28 - 4,33 (m, 1 H), 7,18 - 7,23 (m, 1 H), 7,36 - 7,41 (m, 2 H).



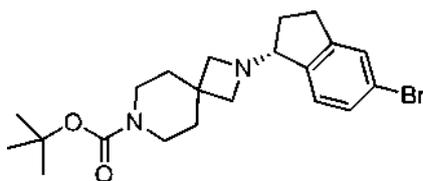
- 45 4-(Clorometil)-4-formilpiperidin-1-carboxilato de terc-butilo

- 50 A una solución de diisopropilamina (22,6 ml, 159 mmol) en THF anhidro (140 ml) en un matraz de fondo redondo secado en el horno se añadió n-BuLi (65,4 ml, 163 mmol, 2,50 M en hexanos) gota a gota a 0 °C. La solución se agitó durante 45 minutos y se añadió gota a gota 4-metil piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-terc-butilo (20 g, 80 mmol) en THF (60 ml) a 0 °C y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 hora. Se añadió gota a gota cloroyodometano (17,9 ml, 239 mmol) y la mezcla se agitó durante 1 h. La mezcla se inactivó con 250 ml de NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado, seguido de la extracción con acetato de etilo (3 x 250 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron (salmuera, 250 ml),

se secaron ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentraron a presión reducida para dar un aceite de color amarillo que se purificó mediante una cromatografía de sílice usando un sistema de purificación Combiflash ISCO (Teledyne Isco Inc., Lincoln, NE) para dar el 4-metil 4-(clorometil)piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-*terc*-butilo (12 g, 52 %). RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,43 (s, 9H), 2,10 - 2,17 (m, 4H), 2,97 (s a, 2H), 3,56 (s, 2H), 3,74 (s, 3H), 3,83(s a,2H).

5 Una solución del 4-metil 4-(clorometil)piperidin-1,4-dicarboxilato de 1-*terc*-butilo (11,7 g, 40,2 mmol) en THF anhidro (100 ml) se enfrió hasta 0 °C, se añadió lentamente hidruro de litio y aluminio (1 N en THF, 44,3 ml, 44,3 mmol) (15 - 20 min) y la solución se agitó a 0 °C durante 25 minutos. La mezcla se inactivó mediante la adición de agua (1,8 ml) gota a gota con muchas precauciones. Se añadió gota a gota NaOH 1 N acuoso (1,8 ml), y la mezcla se agitó durante 5 minutos. El baño de refrigeración se retiró, los sólidos se eliminaron mediante una filtración, y la torta se lavó con  $\text{Et}_2\text{O}$  (2 x 100 ml). El filtrado se lavó con agua (2 x 100 ml) y salmuera (100 ml), se secó ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentró a presión reducida para dar el 4-(clorometil)-4-(hidroximetil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo en forma de un sólido (9,96 g, 93,8 %). RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,43 (s, 9H), 1,48 - 1,55 (m, 4H), 3,36 - 3,41 (m, 4H), 3,57 (s, 2H), 3,59 (s a, 2H).

15 A una solución a -78 °C de cloruro de oxalilo (5,1 ml, 57 mmol) en diclorometano (100 ml) se añadió, en un matraz de fondo redondo secado en el horno, dimetilsulfóxido (8,2 ml, 114 mmol) en diclorometano (17 ml). La mezcla se agitó durante 2 minutos y se añadió 4-(clorometil)-4-(hidroximetil)piperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (13,7 g, 52 mmol) en diclorometano (50 ml) a lo largo de 10 minutos. La solución se agitó durante 15 minutos a -78 °C y se añadió trietilamina (36 ml, 260 mmol). La mezcla se agitó a -78 °C durante 15 minutos y se calentó hasta la temperatura ambiente. La mezcla se agitó durante 15 minutos a la temperatura ambiente y después se inactivó con  $\text{NaHCO}_3$  acuoso saturado (200 ml). La solución acuosa se lavó con  $\text{Et}_2\text{O}$  (2 x 300 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y se concentraron a presión reducida para dar el compuesto del título en forma de un aceite de color amarillo, que solidificó después de un periodo de reposo en una atmósfera de nitrógeno a la temperatura ambiente (13,7 g, 99 %). RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,43 (s, 9H), 1,48 - 1,60 (m, 2H), 2,00 - 2,07 (m, 2H), 3,07 (t, 2H), 3,57 (s, 2H), 3,69 - 3,79 (m, 2H), 9,55 (s, 1H).



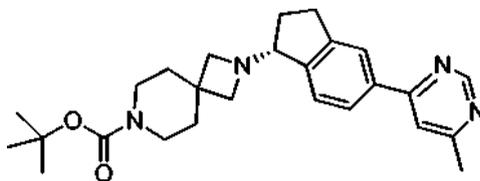
25

2-(5-Bromo-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-carboxilato de (R)-*terc*-butilo

A una solución de (R)-5-bromo-2,3-dihidro-1H-inden-1-amina (1.835 g, 8,66 mol) en metanol anhidro (24 l) se añadió 4-(clorometil)-4-formilpiperidin-1-carboxilato de *terc*-butilo (2.310 g, 8,83 mol). La mezcla se agitó a 50 °C durante 16 h y se enfrió hasta la ta. Se añadió cianoborhidruro de sodio (1.000 g, 15,9 mol) en THF (15 l) mediante una bomba de jeringa a lo largo de 2 horas. La mezcla se agitó a 60 °C durante 24 horas bajo nitrógeno con una purga en un baño de lejía. La reacción se enfrió hasta 20 °C y se transfirió a través de una cánula a un recipiente que contiene 24 l de hidróxido de sodio 2,5 M y 30 l de DCM. Las capas se separaron y la capa acuosa se extrajo con DCM (2x5 l). La capa acuosa se trató para destruir el cianoborhidruro de sodio residual. Las capas orgánicas combinadas se secaron ( $\text{MgSO}_4$ ) y se concentraron a presión reducida. El material en bruto se suspendió en MTBE (7 l) mediante una agitación a 40 °C durante 1 h, y a la ta durante 1 h. El sólido se filtró, y se lavó con MTBE (2 x 500 ml) y se secó en un horno de vacío a 50 °C para dar el producto del título en forma de unos cristales de color blanco (3.657 g, 90 %). EM (ES+) 422,3 (M + H)<sup>+</sup>. RMN  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  1,44 (s, 9H), 1,67 (dd, 4H), 1,84 - 1,93 (m, 1H), 2,07 - 2,16 (m, 1H), 2,72 - 2,81 (m, 1H), 2,95 - 3,15 (m, 5H), 3,31 (dd, 4H), 3,85 (s a, 1H), 7,12 (d, 1H), 7,28 (s a, 1H), 7,35 (s a, 1H).  $[\alpha]_D^{20} = +39,6$  grados (c = 1,06 mg/ml, MeOH).

30

35



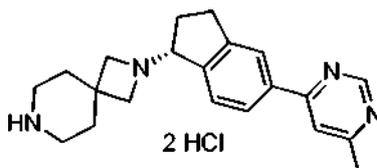
40

2-(5-(6-Metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-carboxilato de (R)-*terc*-butilo

A un matraz de 50 ml cargado con 2-(5-bromo-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-carboxilato de (R)-*terc*-butilo (4,0 g, 9,49 mmol) se añadió cloruro de bis(trifenilfosfina) paladio (II) (0,17 g, 0,24 mmol), acetato de potasio (3,73 g, 37,97 mmol), bis(pinacolato) de diboro (2,65 g, 10,44 mmol) seguido de una desgasificación a vacío, después se rellenó de nuevo con nitrógeno 5 veces. Se añadió tolueno desoxigenado (una corriente de nitrógeno durante 30 minutos antes de la adición) (40 ml) a la mezcla y la reacción se calentó a 100 °C durante 1,5 horas. La finalización de la reacción se monitorizó mediante una HPLC. Tras la formación del intermedio del éster borónico, la reacción se enfrió hasta 40 °C y se cargó con una solución desgasificada de hidróxido de sodio 4 M (11,87 ml, 47,46 mmol) seguido de la adición de 4-cloro-6-metilpirimidina (1,53 g, 11,87 mmol). La mezcla resultante se calentó

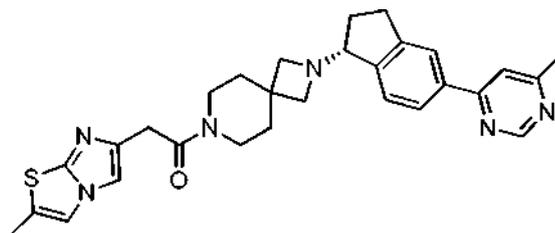
45

después a 90 °C durante 5 horas en una atmósfera de nitrógeno. La reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y se cargó con agua (25 ml). Después de agitar durante 20 minutos, la mezcla se filtró para retirar los sólidos de color negro. La capa orgánica se extrajo con una solución acuosa que contiene 1,5 eq de HCl (40 ml). La capa orgánica se eliminó y la solución resultante se trató con gel de sílice (4 g) de ISOLUTE® Ultra Pure Si-Tiol durante 1,5 horas y se filtró. La solución acuosa se ajustó a un pH de 7,8 con NaOH 4 N y se extrajo con tolueno (40 ml). La capa de tolueno se concentró hasta aproximadamente 15 ml a vacío a 45 °C y se añadió lentamente heptano (75 ml), y la mezcla se agitó a 20 °C durante 1 hora. El producto se filtró y se secó a vacío a 45 °C durante 8 horas para proporcionar el compuesto del título en forma de un sólido de color blanco (3,56 g, 86 %). EM (ES+) 435,5 (M + H)<sup>+</sup>. RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 1,46 (s, 9 H), 1,70 -1,74 (m, 4 H), 1,90 - 2,01 (m, 1 H), 2,13 - 2,26 (m, 1 H), 2,59 (s, 3 H), 2,84 - 2,93 (m, 1 H), 3,04 - 3,21 (m, 5 H), 3,30 - 3,38 (m, 4 H), 3,95 - 4,02 (m, 1 H), 7,40 (d, 1 H), 7,56 (s, 1 H), 7,87 (d, 1 H), 7,95 (s, 1 H), 9,12 (s, 1 H).



#### Diclorhidrato de 2-[(R)-5-(6-metil-pirimidin-4-il)-indan-1-il]-2,7-diaza-espiro[3.5]nonano

Se suspendió 2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-carboxilato de (R)-terc-butilo (72,6 g, 167 mmol) en metanol (363 ml) y se añadió HCl 4 M en 1,4-dioxano (251 ml). Después de agitar durante 2 horas, la suspensión se concentró a sequedad. El material en bruto se resuspendió en MeOH (500 ml) y se concentró (3 x). Los sólidos resultantes se secaron adicionalmente a vacío a 45 °C para proporcionar el compuesto del título (74,1 g, 99,9 %). EM (ES+) 335,2 (M + H)<sup>+</sup>. RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ 2,16 - 2,23 (m, 5H), 2,59 (s a, 1 H), 2,78 - 2,80 (m, 3H), 3,12 (s a, 1H), 3,19 - 3,24 (m, 4H), 3,37 - 3,49 (m, 1H), 4,14 - 4,23 (m, 3H), 4,49 (s a, 1H), 5,11 (s a, 1 H), 7,84 (d, 1H), 8,30 - 8,34 (m, 2H), 8,46 (s, 1H), 9,36 (s, 1H).



#### (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diaza-espiro[3.5]nonan-7-il)etanona

A una suspensión de diclorhidrato de 2-[(R)-5-(6-metil-pirimidin-4-il)-indan-1-il]-2,7-diazaespiro[3.5]nonano (540 mg, 1,22 mmol) en 10 ml de diclorometano se añadió trietilamina (492 mg, 4,90 mmol). Una vez que la mezcla se convirtió en una solución homogénea, se añadió a una solución de clorhidrato del ácido 2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il) acético (251 mg, 1,28 mmol) en 3 ml de diclorometano. La mezcla se agitó durante 5 minutos y se añadió HBTU (462 mg, 1,22 mmol) en 2 ml de DMF. La reacción se agitó a la temperatura ambiente durante 1,5 horas. La reacción se inactivó mediante la adición de 10 ml de NaHCO<sub>3</sub> y se diluyó con 50 ml de diclorometano. La capa orgánica se lavó con salmuera saturada, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se disolvió en 5 ml de CH<sub>3</sub>CN y la solución se calentó a 100 °C durante 1 hora con agitación. La mezcla se enfrió hasta la temperatura ambiente y los sólidos resultantes se filtraron a vacío para proporcionar el producto deseado en forma de un polvo blanquecino (428 mg, 69 %). EM (ES+) 513,5 (M + H)<sup>+</sup>. RMN <sup>1</sup>H (CD<sub>3</sub>OD) δ 1,70 - 1,74 (m, 4 H), 1,88 - 1,96 (m, 1 H), 2,27 - 2,34 (m, 2 H), 2,40 (s, 3H), 2,58 (s, 3 H), 2,86 - 2,97 (m, 1 H), 3,11 - 3,15 (m, 1 H), 3,31 - 3,34 (m, 3 H), 3,52 - 3,55 (m, 4 H), 3,78 (s, 2 H), 4,05 - 4,09 (m, 1 H), 7,33 (s, 2 H), 7,55 (d, 1 H), 7,78 - 7,79 (m, 1 H), 7,94 - 8,03 (m, 2 H), 8,93 (s, 1 H). [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> = +45,3 grados (c = 2,5 mg/ml, MeOH).

#### ENSAYOS IN VITRO

##### ENSAYOS DE UNIÓN DE UN RADIOLIGANDO

Para medir la capacidad de un compuesto de prueba de unirse al receptor de la ghrelina y tener por lo tanto el potencial de modular la actividad de la ghrelina, se llevaron a cabo ensayos de desplazamiento de un radioligando. Se utilizó el formato SPA para un cribado de alto rendimiento de los compuestos de prueba, y la unión al filtro sirvió para una caracterización más completa de la unión. En ambos formatos, la afinidad del compuesto de prueba está expresada en forma del valor de la K<sub>i</sub>, definida como la concentración de compuesto necesaria para disminuir la unión de la [<sup>125</sup>I] ghrelina en un 50 % para un lote de membrana específico a una concentración dada de radioligando.

Ensayo de unión SPA de la ghrelina del paciente

5 Los ensayos de unión SPA de la ghrelina se llevaron a cabo en un volumen final de 90  $\mu$ l que contiene 250 ng del GHSR1a del paciente (línea celular HEK293 inducible con tetraciclina que expresa el receptor secretagogo de crecimiento 1a del paciente; preparada en forma de membranas) acoplado a 0,5 mg de microesferas SPA (recubiertas con aglutinina de germen de trigo, GE Healthcare, RPNQ0060) y [<sup>125</sup>I] ghrelina 50 pM (Perkin Elmer Life Sciences, NEX-388), más unas concentraciones variables del compuesto de prueba o del vehículo.

10 En resumen, los ensayos se prepararon a la temperatura ambiente en placas de 384 pocillos (Matrix, 4322) que contienen 2  $\mu$ l del compuesto de prueba en DMSO (o DMSO como vehículo). Los ensayos se iniciaron mediante la adición de 28  $\mu$ l de tampón de ensayo (HEPES 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 10 mM, BSA al 0,2 %, inhibidores de la proteasa exentos de EDTA - 1 comprimido/50 ml de tampón, pH 7,4), 30  $\mu$ l de membrana de hGHSR1a a 8,3  $\mu$ g/ml y 30  $\mu$ l de [<sup>125</sup>I] ghrelina 150 pM, ambos en tampón de ensayo.

La mezcla se incubó durante 8 horas para permitir que la unión alcanzara el equilibrio, y la cantidad de complejo receptor-ligando se determinó mediante un recuento con el líquido de centelleo usando un 1450 Microbeta Trilux (Wallac).

15 Ensayo de unión al filtro de la ghrelina del paciente

Los ensayos de unión de la ghrelina se llevaron a cabo en un volumen final de 100  $\mu$ l que contiene 100 ng del GHSR1a del paciente (línea celular HEK293 inducible con tetraciclina que expresa el receptor secretagogo de crecimiento 1a del paciente; preparada en forma de membranas) y [<sup>125</sup>I] ghrelina 50 pM (Perkin Elmer Life Sciences, NEX-388), más unas concentraciones variables del compuesto de prueba o del vehículo.

20 En resumen, los ensayos se prepararon a la temperatura ambiente en placas de 96 pocillos (Costar, 3357) que contienen 2  $\mu$ l del compuesto de prueba en DMSO (o DMSO como vehículo). Los ensayos se iniciaron mediante la adición de 23  $\mu$ l de tampón de ensayo (HEPES 50 mM, MgCl<sub>2</sub> 10 mM, BSA al 0,2 %, inhibidores de la proteasa exentos de EDTA - 1 comprimido/50 ml de tampón, pH 7,4), 25  $\mu$ l de membrana de hGHSR1a a 4  $\mu$ g/ml y 50  $\mu$ l de [<sup>125</sup>I] ghrelina 100 pM, ambos en tampón de ensayo.

25 La mezcla se incubó durante 90 minutos a la temperatura ambiente, seguido de una transferencia a una placa de filtración de fibra de vidrio de 96 pocillos tratada con PEI al 0,3 %, (Perkin Elmer, 6005174). La mezcla se secó mediante una succión a vacío y se lavó inmediatamente 3 veces con 200  $\mu$ l de Tris 50 mM enfriado en hielo a un pH de 7,5. Las placas se dejaron secar durante una noche a la temperatura ambiente y se añadieron 30  $\mu$ l de líquido de centelleo Supermix (Perkin Elmer, 1200-439) a cada pocillo. La cantidad de complejo receptor-ligando se determinó mediante un recuento con el líquido de centelleo usando un 1450 Microbeta Trilux (Wallac).

30 Se llevaron a cabo ensayos en formato de filtración de la unión del radioligando para el GHSR1a de perro (NM\_001099945.1), de mono (XM\_001084886.1), de ratón (NM\_177330) y de rata (NM\_032075) (todos expresados en líneas celulares HEK293 únicas inducibles con tetraciclina) de una forma idéntica a la descrita para el GHSR1a del paciente excepto porque la cantidad final de membrana que se va a usar es como sigue: 2  $\mu$ g de GHSR de perro, 250 ng de GHSR de mono, 200 ng de GHSR de ratón o 125 ng de GHSR de rata.

Ensayo funcional de la ghrelina del paciente

35 Para medir la capacidad de un compuesto de prueba para modular la actividad del GHSR1a de un paciente (agonizar, antagonizar, agonizar parcialmente, agonizar inversamente), se llevó a cabo un ensayo de unión de GTP DELFIA (Perkin Elmer, AD0260 y AD0261). El ensayo monitoriza el intercambio dependiente de ligando del GDP por GTP. La activación del GPCR da como resultado un aumento en la fluorescencia, ya que el GDP unido al receptor es sustituido por el GTP marcado con europio. La unión del antagonista impide el intercambio GDP-GTP, mientras que la unión de un agonista inverso empuja al receptor al estado con el GDP unido (inactivo), dando ambos como resultado una disminución en la fluorescencia.

40 Los ensayos funcionales de la ghrelina se llevaron a cabo en un volumen final de 39,5  $\mu$ l que contiene 720 ng del GHSR1a del paciente (línea celular HEK293 inducible con tetraciclina que expresa el receptor secretagogo de crecimiento 1a del paciente; preparada en forma de membranas), GTP-europio 9 nM y concentraciones variables del compuesto de prueba o del vehículo. Para probar el antagonismo del receptor, las membranas se incubaron en presencia de la ghrelina agonista (Anaspec, 24158) a la concentración CE<sub>80</sub>, más el compuesto de prueba o el vehículo.

45 En resumen, el compuesto de prueba se preparó a la temperatura ambiente en placas de 384 pocillos (Matrix, 4340). En primer lugar, el compuesto de prueba se diluyó en DMSO, después se añadió a entre 15  $\mu$ l y 10  $\mu$ l de tampón basal (HEPES 50 mM a un pH de 7,4, MgCl<sub>2</sub> 3,7 mM, EGTA 250  $\mu$ M, GDP 125 nM) con y sin el péptido de ghrelina 9 nM. Después, las muestras se transfirieron en forma de 6  $\mu$ l a placas de filtro de 384 pocillos (Pall, 5071) que contienen 30  $\mu$ l de membrana de hGHSR1a a 24  $\mu$ g/ml y 0,35 mg/ml de saponina (Perkin Elmer, AD0261) en  
50  
55 tampón basal.

La mezcla se incubó 24 minutos a la temperatura ambiente con una agitación suave, seguido de la adición de 3,5 µl de GTP-europio 100 nM en HEPES 50 mM, a un pH de 7,4. Las muestras se protegieron de la luz y se incubaron durante 90 minutos adicionales a la temperatura ambiente con una agitación suave. Las reacciones se secaron mediante una succión a vacío, se lavaron tres veces con 75 µl de una solución de lavado de 1x GTP enfriada en hielo (Perkin Elmer, AD0261) y se leyeron inmediatamente con el Envision 2101 Multilabel Reader (Perkin Elmer) usando un filtro de excitación a 320 nm y un filtro de emisión a 615 nm.

Ensayo de las células de los islotes dispersos del paciente

Día 1: se obtienen las células de los islotes del paciente en una bolsa intravenosa (iv). Las células de los islotes se decantan mediante la fijación de un acoplador a la bolsa iv, y el líquido se decanta en tubos cónicos de 50 ml. La bolsa se aclara con 20 ml de medio y se agrupan. Las células se rotan 1 minuto a 1.000 revoluciones por minuto (rpm). Después, las células se incuban durante una noche a 37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub> (placas de suspensión de 10 cm<sup>2</sup>, 10 ml de medio/placa).

Día 2: las células de los islotes se transfieren a un tubo cónico de 50 ml, se añade tampón de trabajo de Hank sin calcio y se mezcla, después la mezcla se rota durante 1 minuto a 1.000 rpm. Después los islotes se lavan con tampón de trabajo de Hank sin calcio, se mezclan y después se rotan a 1.000 rpm durante 1 minuto. Después se extrae la totalidad excepto 15 ml de tampón mediante una pipeta. Después se añaden 30 µl de EDTA 500 mM [1 mM] y después se incuban 8 minutos a la temperatura ambiente. A esto se añaden después 75 µl de tripsina-EDTA al 0,25 % y 15 µl de DNasa I a 2 mg/ml [2 µg/ml]. La mezcla se incuba durante 10 minutos a 30 °C con agitación a 60 rpm. El coágulo se dispersa mediante la trituración con una pipeta de 1 ml (50 veces). Se añaden 50 ml de medio de cultivo y se pasa cada uno por una membrana de nailon 63 µM. La mezcla se rota a 1.000 rpm durante 1 minuto, después el medio se retira mediante una pipeta. El sedimento se resuspende y las células se lavan de nuevo con aproximadamente 25 ml de medio de cultivo y se rotan a 1.000 rpm durante 1 minuto. Se retira el sobrenadante, después el sedimento se resuspende con aproximadamente 5 ml de medio de cultivo y se cuentan las células. Se siembran placas con fondo en "V" con 5.000 células/pocillo (200 µl/pocillo). Las placas se rotan a 1.000 rpm durante 5 minutos y se colocan en incubación de cultivo celular. Se retiran 600.000 células para la obtención de imágenes de calcio.

DÍA 3: ensayo de islote disperso

El medio de cultivo se sustituye por 100 µl de tampón de incubación que contiene glucosa 3 mM. Las placas se rotan durante 5 minutos a 1.000 rpm para resedimentar los islotes. Las placas se incuban en un baño de agua a 37 °C gasificado de forma continua con un 95 % de O<sub>2</sub> / 5 % de CO<sub>2</sub> durante 45 minutos. El tampón de preincubación se sustituye por 50 µl de tampón de incubación que contiene los diversos compuestos de prueba en la concentración de glucosa apropiada (n = 4 para cada muestra). Las placas se rotan durante 5 minutos a 1.000 rpm para resedimentar las células. Las placas se devuelven al baño de agua gasificado de forma continua con un 95 % de O<sub>2</sub> / 5 % de CO<sub>2</sub> durante 60 minutos. Se transfieren 40 µl a otra placa y se ensaya la insulina usando un ensayo de la insulina del paciente ELISA (ALPCO Patient Insulin ELISA; Cat. nº 80-INSHU-E10 disponible en ALPCO, Salem, New Hampshire, Estados Unidos).

Se obtuvieron los datos farmacológicos proporcionados en la Tabla 1 para el Ejemplo 1. Los datos de la CI50 (5,02 nM) y de la Ki (4,37 nM) se obtuvieron a partir del ensayo de unión SPA de la ghrelina del paciente. La columna indicada con "n" es el número de veces que se ensayó el compuesto de prueba. Se determinó que la funcionalidad del compuesto de prueba era de agonista inverso usando el ensayo funcional de la ghrelina del paciente.

Tabla 1

Ensayos <i>in vitro</i>	Preincubación del Ejemplo 1	K <sub>d</sub> /K <sub>i</sub> /CE50/I50 (nM)	K <sub>i</sub> /CE50/CI50 ng/ml	n
<b>Unión del humano</b>				
SPA del GHS-1aR humano	8 horas	4,37	2,24	10
Filtro del GHS-1aR humano	90 minutos	2,49	1,28	52
Filtro del GHS-1aR humano	24 horas	1,42	0,728	44
Filtro del GHS-1aR humano Motulsky	Equilibrio 4,07 horas	3,04	1,56	8
<b>Unión de especies preclínicas</b>				
Filtro del GHS-1aR de rata	90 minutos	3,19	1,64	49
Filtro del GHS-1aR de ratón	90 minutos	7,70	3,95	15
Filtro del GHS-1aR de perro	90 minutos	3,56	1,83	9
Filtro del GHS-1aR de primate	90 minutos	1,83	0,938	8

(continuación)

Ensayos in vitro	Preincubación del Ejemplo 1	Kd/Ki/CE50/150 (nM)	Ki/CE50/CI50 ng/ml	n
<b>Unión del humano</b>				
<b>Funcional del humano</b>				
Agonista inverso de Eu-GTP	114 minutos	4,85	2,49	16
Antagonista de Eu-GTP	114 minutos	6,57	3,37	16
Antagonista competitivo de Eu-GTP	120 minutos	1,75	0,90	10

GHS-1aR = Receptor secretagogo de la hormona de crecimiento; Eu-GTP = europio-guanosina-5'-trifosfato; GH = hormona de crecimiento.

5 El Ejemplo 1 es un potente ( $K_d$  humana = 3 nM a través del ensayo de unión al filtro de la ghrelina del paciente; similar en todas las especies), selectivo ( $CI_{50} > 1 \mu M$  frente a un amplio conjunto de receptores, transportadores, canales iónicos y enzimas) y moderado agonista inverso *on/off*, antagonista competitivo del receptor secretagogo de la hormona de crecimiento (GHS-1aR).

#### ENSAYOS IN VIVO

10 A ratas Wistar Han macho se les administró una dosis individual (1, 10, 50 o 150 mg/kg) de la (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona (Ejemplo 1) a través de una sonda oral para evaluar los efectos del Ejemplo 1 sobre la actividad locomotora a lo largo de un periodo de 21 horas (Figura 1). Los animales fueron acostumbrados al aparato de locomoción durante una hora antes de la administración. Las luces se apagaron a las 4 pm y se encendieron a las 4 am. Los animales fueron medicados a las 4 pm. Se monitorizó la actividad posterior a la dosis durante 20 horas. Se extrajeron plasma, cerebros y LCR a partir del grupo satélite de animales en el  $T_{máx}$  (30 minutos después de la administración).

15 Después de 35-65 minutos de la administración, no se observó un efecto biológica o estadísticamente significativo a 1 mg/kg cuando se comparaban con los animales tratados con vehículo. A 10 mg/kg, el Ejemplo 1 disminuyó la parada a dos patas un 56 % y la actividad locomotora total un 60 % después de 35-65 minutos de la administración. A 50 mg/kg, el Ejemplo 1 disminuyó la parada a dos patas un 43 % y la actividad locomotora total un 48 %. El Ejemplo 1 a 150 mg/kg produjo una reducción en la actividad total que era estadísticamente significativa cuando se comparaba con las ratas de control con vehículo ( $P < 0,5$ ) después de 35-65 minutos de la administración. El Ejemplo 1 no produjo unas reducciones estadística o biológicamente significativas en la actividad total 20 horas después de la administración. El Ejemplo 1 no induce hiperactividad a ninguna dosis.

25 Se determinaron los niveles plasmáticos y cerebrales del Ejemplo 1 30 minutos después de la administración, mostrados en la Tabla 2.

Tabla 2

Dosis	Plasma (nM exentos)	Cerebro (nM exentos)
Vehículo	0	0
1 mg/kg del Ej. 1	18	1,6
10 mg/kg del Ej. 1	184	16
50 mg/kg del Ej. 1	856	80
150 mg/kg del Ej. 1	1.704	148

30 En tres estudios clínicos (Figura 2) se observó una relación dependiente de la dosis con somnolencia en seres humanos en los que, a las dosis más altas de 100 mg BID durante 14 días y a unas dosis individuales de 300 mg, entre el 75 y el 100 % de los sujetos notificaba somnolencia o un efecto relacionado con el sueño. A los pacientes se les administró el Ejemplo 1 en forma de una suspensión preparada extemporáneamente en B3301001, B3301002 y el IR en B3301007 y en forma de una cápsula osmótica preparada extemporáneamente (EPOC) en B3301007. El Ejemplo 1 era seguro y generalmente bien tolerado en los seres humanos hasta 100 mg BID durante 14 días, lo que equivale a una ocupación estimada del receptor sistémico del 80 % durante 20 h y central del 70 % durante 35 aproximadamente 3 horas. Se observó un aumento relacionado con la dosis en la frecuencia cardíaca (de hasta -10 latidos por minuto), así como la atenuación tanto de la secreción de la hormona del crecimiento inducida por la ghrelina como de la glucosa postprandial, después de una administración aguda. La totalidad de estos tres efectos parecía tener una taquifilaxia total el día 14 de la administración BID.

En un estudio con primates se estudió el efecto del Ejemplo 1 sobre la duración del sueño y la ingesta de alimentos

tres horas después de la administración nocturna del Ejemplo 1 administrado bien una vez al día (QD) o bien dos veces al día (BID). Se usaron ocho monos adultos sanos (de entre 5,8 y 9,7 años de edad) rhesus macho, (*Macaca mulatta*, de origen indio).

5 Los animales se estudiaron en paralelo. Según un diseño cruzado, cuatro de los animales recibieron el Ejemplo 1 (o vehículo como control) QD durante la primera fase del estudio, y BID durante la segunda fase del estudio. Se usó un programa de tratamiento inverso para los cuatro animales restantes. Cuando el Ejemplo 1 se administró QD, la única dosis se administró por la noche. Cada período de tratamiento duró 28-30 días consecutivos. El tratamiento con vehículo duró 10-14 días, inmediatamente antes de la fase en la que se administró el Ejemplo 1. Los animales también se mantuvieron en sus cámaras de sueño/circadianas para que se familiarizaran con ellas. El tratamiento fue administrado en forma de una solución líquida dispensada automáticamente usando una bomba controlada por un programador.

A lo largo de los periodos de tratamiento, los animales se mantuvieron en cámaras de sueño/circadianas con la luz controlada y los sonidos atenuados, bajo unas condiciones constantes de luz tenue, con objeto de determinar los ritmos intrínsecos de sueño/actividad y la ingesta de alimentos autoadministrada.

15 Recolección de datos:

El ciclo de sueño/actividad y la duración del sueño fueron documentados usando una técnica de análisis continuo de imágenes actigráficas en línea, según se describe en Masuda et al., J Biol Rhythms. Octubre de 2010; 25 (5): 361-71, Intrinsic activity rhythms in *Macaca mulatta*: their entrainment to light and melatonin. Un algoritmo informático para el análisis de los datos actigráficos del sueño frente a la vigilia en monos rhesus se explica en Zhdanova et al., J Biol Rhythms. Abril de 2011; 26 (2): 149-59. Aging of intrinsic circadian rhythms and sleep in a diurnal nonhuman primate, *Macaca mulatta*. Las estimaciones del inicio y la duración del sueño se basaron en las comparaciones entre el sueño polisomnográfico y actigráfico en esta especie.

25 Cada cámara circadiana estaba equipada con un monitor de pantalla táctil individual, conectado a un dispensador automático de pellas (ENV-203-1000, Med Associates Inc., St. Albans, VT). Esto permitía una autoadministración *ad libitum* durante todo el día de 1 g de pellas de alimento (pellas de precisión sin polvo nutricionalmente completas, Bio-Serv, Frenchtown, NJ) pulsando un objetivo móvil sobre la pantalla. Se documentó el momento en que se dispensaba cada pella.

30 El análisis de los datos se llevó a cabo usando un modelo mixto lineal (SPSS), con el nivel de significación a  $p < 0,05$ . Los datos se presentaron como las medias por grupo (errores típicos de las medias (ETM)) para cada condición de tratamiento: administración QD o BID del vehículo o del Ejemplo 1.

35 Las Figuras 3 y 4 proporcionan los datos del patrón de actividad (Fig. 3) o del patrón de ingesta de alimento (Fig. 4) individual de un animal mientras está recibiendo QD el vehículo o el Ejemplo 1. Se tomaron registros actigráficos de los animales durante un ciclo de luz-oscuridad (LD) de 12:12 horas, seguido de unas condiciones constantes de luz tenue a continuación (la flecha a lo largo del lado derecho de la gráfica). Este individuo tenía un periodo circadiano intrínseco mayor de 24 horas, ilustrado porque la totalidad del patrón de actividad está retrasado con el tiempo (cambio gradual hacia la derecha). Se administró el vehículo o el Ejemplo 1 a la misma hora (17:00 horas). Al comienzo del periodo de tratamiento con el vehículo (la línea de puntos a lo largo del lado derecho de la gráfica), esto se correspondía con una aparición del sueño 2 horas antes de lo esperado (comienzo de la noche subjetiva). En el momento en el que se iniciaba el tratamiento con el Ejemplo 1 (línea continua a lo largo del lado derecho de la gráfica), este momento temporal se correspondía con un inicio del sueño aproximadamente 3,5 horas antes de lo esperado.

40 El tratamiento con el Ejemplo 1 redujo significativamente la latencia del sueño, facilitando el inicio del sueño, y este efecto continuó a lo largo del periodo de tratamiento. Este efecto también dio lugar al desplazamiento global en el patrón de actividad hacia la izquierda (avance de la fase en el momento de despertar), en el que un momento de inicio del sueño más temprano da como resultado un momento similarmente temprano de despertar en la mañana subjetiva.

45 El tratamiento con el Ejemplo 1 redujo significativamente la ingesta de alimento poco después de su administración, y este efecto continuó a lo largo del periodo de tratamiento. Este efecto también dio lugar al desplazamiento global en el patrón de ingesta de alimento hacia la izquierda (avance de la fase en el momento de la alimentación matutina). El patrón de ingesta de alimento en este animal seguía el patrón de actividad. Compárense la Figura 3 y la Figura 4.

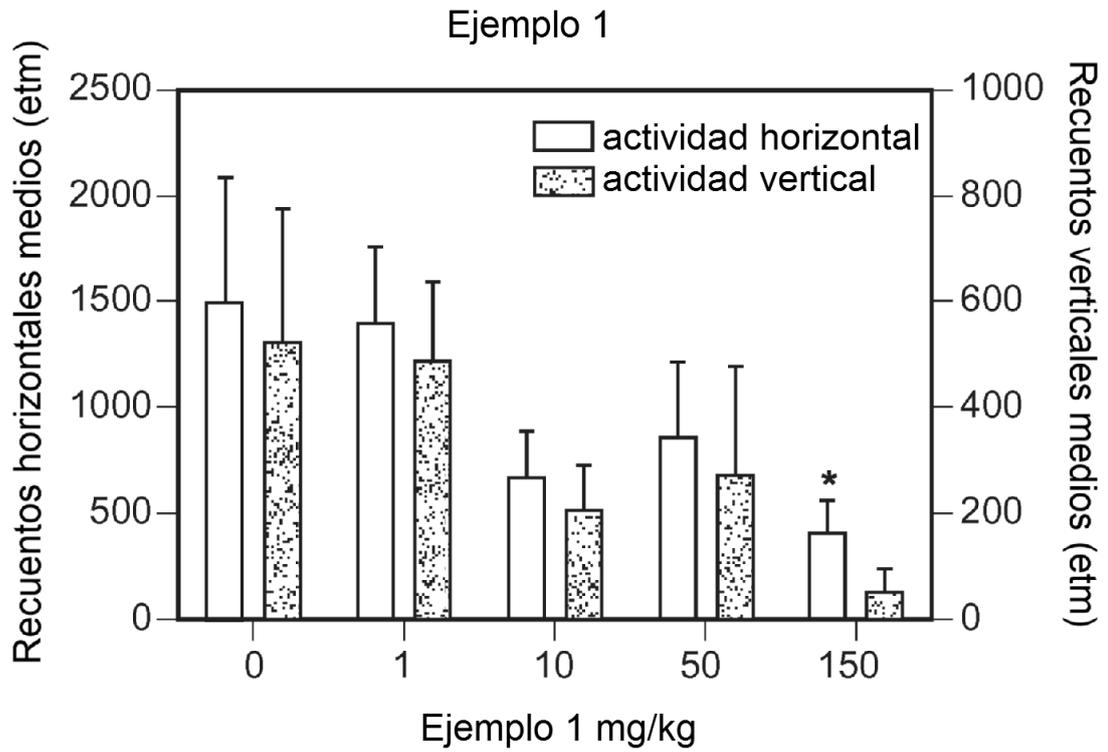
50 La Figura 5 proporciona el cambio en la duración del sueño en las 3 horas posteriores al tratamiento nocturno con el Ejemplo 1 en comparación con el vehículo (N = 8 por grupo (QD con respecto a BID)). Para ambos grupos se documentó un aumento significativo en la duración del sueño en las 3 horas de tratamiento con el Ejemplo 1 en comparación con la administración de solo el vehículo. Los datos están expresados en forma del porcentaje de cambio en la duración del sueño para cuando los animales reciben el vehículo en comparación con los otros animales del grupo que reciben el Ejemplo 1 (las barras de error proporcionan el ETM;  $p < 0,01$  con respecto al control).

5 La Figura 6 proporciona el cambio en la ingesta nocturna de alimentos en las 3 horas posteriores a la administración nocturna del Ejemplo 1 o del vehículo. La Figura 6 proporciona el cambio para los animales que reciben el Ejemplo 1 QD o BID (N = 8 por grupo (QD con respecto a BID)), para los que se documentó una reducción significativa en la ingesta de alimentos en ambos grupos, cuando se comparaban con la administración de solo el vehículo, en las 3 horas posteriores a la administración del Ejemplo 1. Los datos están expresados en forma del porcentaje de ingesta de alimentos en las 3 horas posteriores a la administración del vehículo o del Ejemplo 1 (las barras de error proporcionan el ETM;  $p < 0,01$  con respecto al vehículo).

**REIVINDICACIONES**

1. (R)-2-(2-Metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en un procedimiento de tratamiento del insomnio primario en un paciente.
- 5 2. (R)-2-(2-Metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, para su uso en el procedimiento de la reivindicación 1, en el que la (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, se administra junto con otro agente farmacológicamente activo.
- 10 3. Una composición farmacéutica que comprende la (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y al menos un portador, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptable, para su uso en un procedimiento para el tratamiento del insomnio primario en un paciente.
- 15 4. Una composición farmacéutica que comprende la (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma y al menos un portador, un diluyente o un excipiente farmacéuticamente aceptable, para su uso en el procedimiento de la reivindicación 1, en el que la (R)-2-(2-metilimidazo[2,1-b]tiazol-6-il)-1-(2-(5-(6-metilpirimidin-4-il)-2,3-dihidro-1H-inden-1-il)-2,7-diazaespiro[3.5]nonan-7-il)etanona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma, se administra junto con otro agente farmacológicamente activo.
- 20

**FIG. 1**



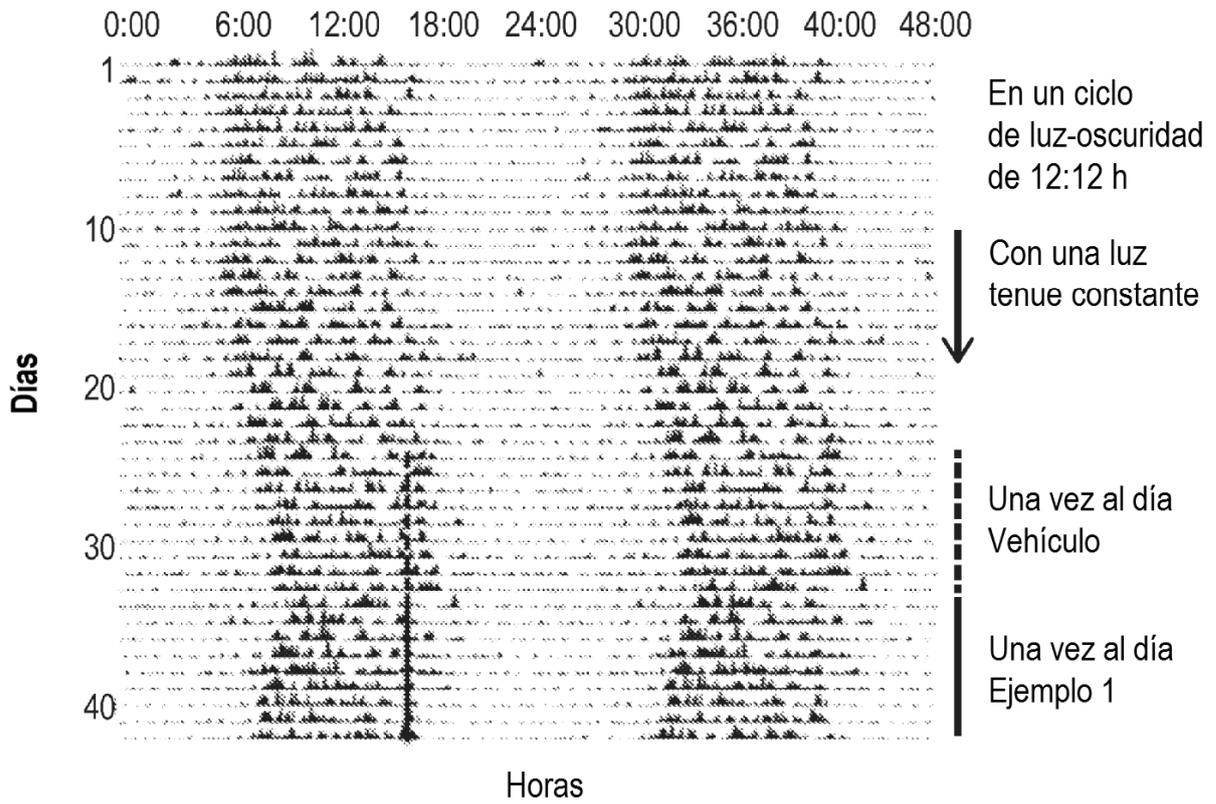
**FIG. 2**

<b>Estudio</b>	<b>Dosis (mg)</b>	<b>Sujetos (n/N)</b>
B3301001	0	0/35
	2	0/6
	10	0/6
	50	3/6
	100	0/6
	100 con nutrición	7/9
	150	5/8
	300	9/12
	40 dividida, con nutrición	0/6
	300 dividida, con nutrición	1/6

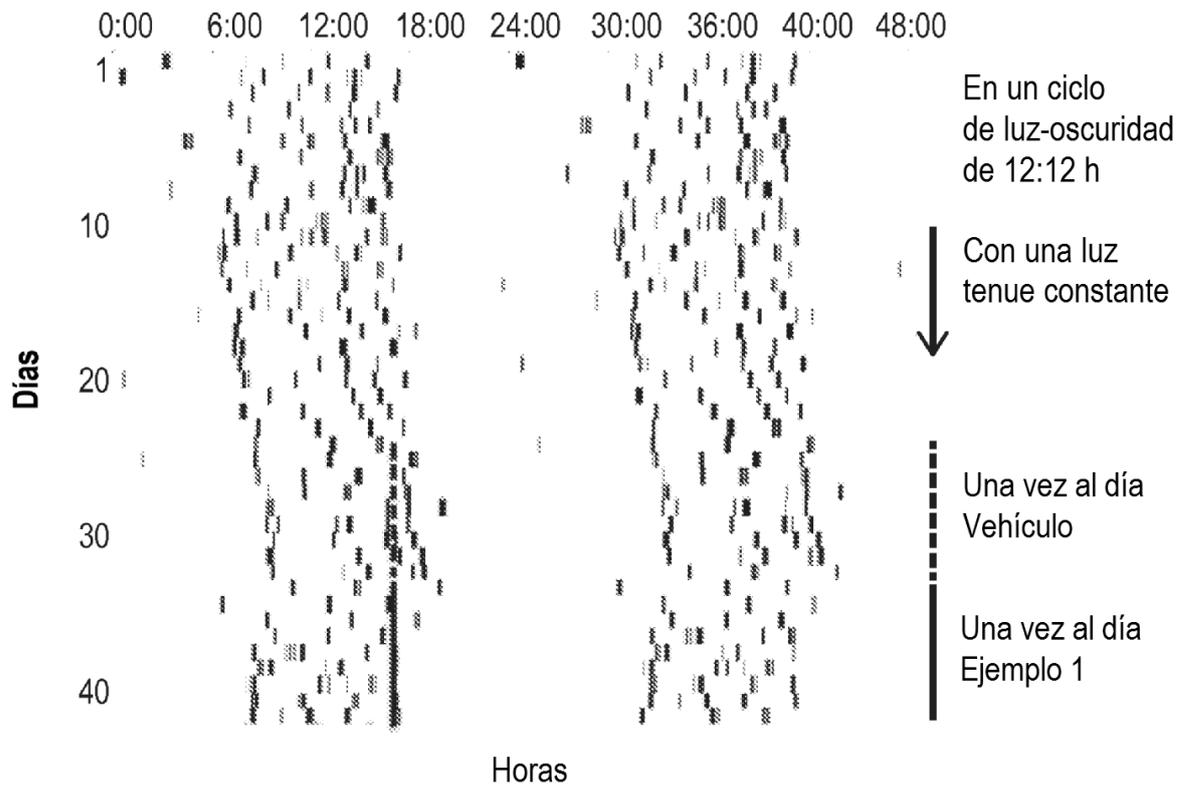
<b>Estudio</b>	<b>Dosis (mg)</b>	<b>Sujetos (n/N)</b>
B3301002	0	3/12
	2 BID	0/6
	10 BID	0/6
	40 BID	1/5
	100 BID	5/5

<b>Estudio</b>	<b>Dosis (mg)</b>	<b>Sujetos (n/N)</b>
B3301007	100 (IR)	4/16
	100 (EPOC 6 h)	3/15
	100 (EPOC 6 h), con nutrición	0/8
	100 (EPOC 14 h)	2/15
	100 (EPOC 14 h), con nutrición	0/7

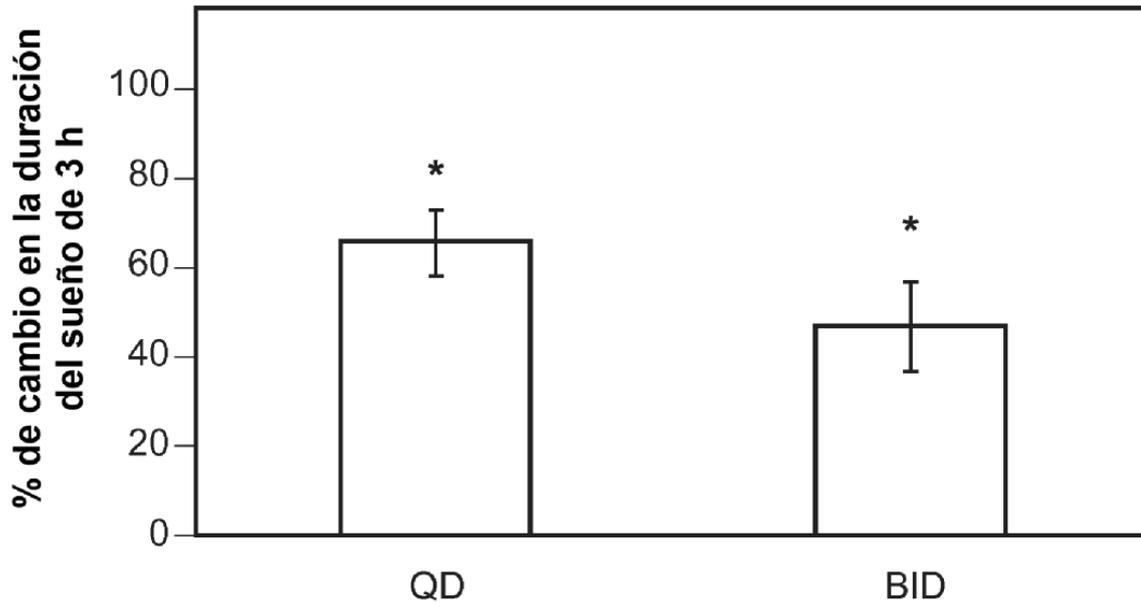
**FIG. 3**



**FIG. 4**



**FIG. 5**



**FIG. 6**

