

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 751 627**

51 Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)
A61P 23/00 (2006.01)
A61P 25/20 (2006.01)
A61P 25/08 (2006.01)
A61P 1/06 (2006.01)
A61P 25/22 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **22.07.2015 PCT/CN2015/084770**

87 Fecha y número de publicación internacional: **28.01.2016 WO16011943**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **22.07.2015 E 15824012 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.10.2019 EP 3162804**

54 Título: **Nuevo derivado de benzodiazepina y uso del mismo**

30 Prioridad:

23.07.2014 CN 201410352439

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

01.04.2020

73 Titular/es:

**JIANGSU NHWALUOKANG PHARMACEUTICAL
RESEARCH AND DEVELOPMENT CO., LTD.**

(100.0%)

**1 Yunhe Road, High-tech Industrial Development
Zone**

Xuzhou City, Jiangsu 221000, CN

72 Inventor/es:

LI, QINGENG;

WANG, TAO;

XIE, JIANYONG;

ZHANG, GUI SHENG y

XU, XIANGQING

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

Observaciones:

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

ES 2 751 627 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

Nuevo derivado de benzodiazepina y uso del mismo

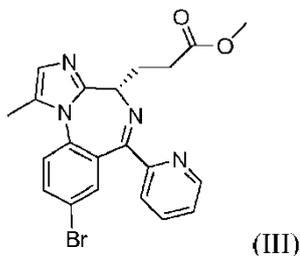
5 **Campo técnico**

Se proporciona un nuevo derivado de benzodiazepina y una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, un procedimiento de preparación del mismo y el uso del mismo.

10 **Antecedentes**

El fármaco benzodiazepina es ampliamente utilizado clínicamente contra la ansiedad, para la sedación y la hipnosis. Como el primer derivado de benzodiazepina soluble en agua, el midazolam se ha utilizado ampliamente en sedación clínica, hipnosis, analgesia, como antiepilépticos, contra la ansiedad y en anestesia general. Cuando se infunde midazolam como anestésico en el cuerpo humano, se puede oxidar a α -hidroxil-midazolam mediante la isoenzima citocromo P450 3A4. El producto oxidativo todavía tiene actividad farmacológica, lo que induce un efecto anestésico prolongado y un despertar lento. De acuerdo con esto, se desea que los químicos farmacéuticos desarrollen un nuevo derivado soluble en agua de benzodiazepina con un tiempo de inducción de anestesia más rápido y un tiempo de mantenimiento más corto.

20 En 1999, GlaxoSmithKline diseñó y sintetizó remimazolam (CNS7056, fórmula (III)):

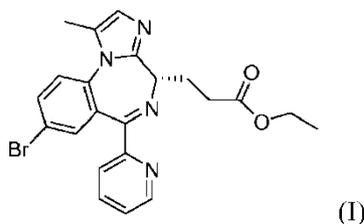


25 Esto atrajo gran atención en la industria farmacéutica por el corto tiempo de inducción, la baja incidencia de depresión respiratoria y el corto tiempo de recuperación de la conciencia. Sin embargo, en el ensayo clínico sedativo II de 49 pacientes de la UCI en 2013, se encontró que cinco pacientes tenían un tiempo de despertar prolongado. Cinco pacientes tienen una concentración en suero más alta de remimazolam, pero se desconoce el motivo (<http://www.paion.de/images/stories/investoren/finanznachrichten/2014/en/japantelco.pdf>). El desarrollo fue terminado por ONO PHARMACEUTICAL CO., LTD debido a la falta de claridad del metabolismo en 2014. Este compuesto también se describe en los documentos WO 00/69836 y WO 2013/174883.

35 Los autores de la presente invención diseñaron y sintetizaron un nuevo derivado de benzodiazepina soluble en agua para resolver el problema en la técnica anterior, que tiene una menor toxicidad después del metabolismo *in vivo* y tiene las ventajas de una acción rápida, un corto tiempo de mantenimiento y una rápida recuperación.

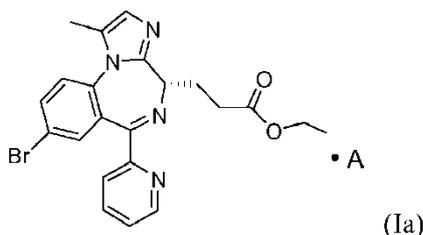
Compendio

40 En el primer aspecto, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



45 En una realización del primer aspecto, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que se caracteriza porque no se genera metanol y/o ácido fórmico después del metabolismo *in vivo*.

En otra realización del primer aspecto, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula (I) tiene la fórmula (Ia):

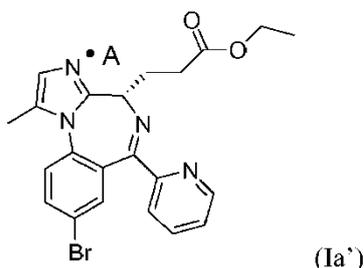


en donde A es un ácido que puede formar una sal con el átomo de nitrógeno que contiene un par solitario de electrones.

5

En una realización específica, A en la fórmula (Ia) es un ácido farmacéuticamente aceptable.

La sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de fórmula (I) se puede presentar como la siguiente fórmula:



10

en donde A se define como antes.

15

La fórmula (Ia) y la fórmula (Ia') tienen los mismos significados y se pueden utilizar indistintamente en la presente memoria.

20

En una realización particular, A se selecciona del grupo que consiste en HCl, HBr, ácido acético (AcOH), ácido propiónico (EtCOOH), ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido carbónico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido benzenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido láctico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido málico y cualquier combinación de los mismos. En una realización preferida adicionalmente, A se selecciona del grupo que consiste en HCl, HBr, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido benzenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico y cualquier combinación de los mismos.

25

En otra realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para proporcionar anestesia.

En una realización adicional, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para proporcionar sedación.

30

En el segundo aspecto, se proporciona un uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para proporcionar anestesia, particularmente en anestesia preoperatoria, inducción de anestesia y mantenimiento de anestesia. En una realización preferible, el medicamento se administra por vía intravenosa.

35

En el tercer aspecto, se proporciona un uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para proporcionar sedación. En una realización preferible, el medicamento se administra por vía intravenosa.

40

En el cuarto aspecto, se proporciona una composición farmacéutica, que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable, y un portador farmacéuticamente aceptable.

Descripción detallada

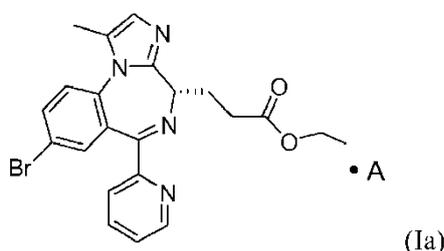
45

Sal farmacéuticamente aceptable

De acuerdo con una realización de la invención, las sales de acuerdo con la invención son las formadas entre un ácido (p. ej., ácido inorgánico o ácido orgánico) y un átomo de nitrógeno que contiene un par solitario de electrones en el compuesto (I).

De acuerdo con otra realización de la invención, "una sal farmacéuticamente aceptable" del compuesto de la invención puede ser una sal formada con un ácido inorgánico, tal como ácido clorhídrico (HCl), ácido bromhídrico (HBr), ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido piro-sulfúrico, ácido fosfórico o ácido nítrico; o una sal con un ácido orgánico, tal como ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido fórmico, ácido acético, ácido acetoacético, ácido pirúvico, ácido trifluoroacético, ácido propiónico, ácido butírico, ácido hexanoico, ácido heptanoico, ácido undecanoico, ácido láurico, ácido benzoico, ácido salicílico, ácido 2-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido canfórico, ácido cinámico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido diglucónico, ácido 3-hidroxi-2-naftoico, ácido nicotínico, ácido pamoico, ácido pectínico, ácido peroxosulfúrico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido pícrico, ácido pivalico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido itacónico, ácido sulfámico, ácido trifluorometanosulfónico, ácido dodecilsulfúrico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido naftaleno disulfónico, ácido canforulfónico, ácido cítrico, ácido tartarico, ácido esteárico, ácido láctico, ácido oxálico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido adípico, ácido algínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido D-glucónico, ácido mandélico, ácido ascórbico, ácido glucoheptónico, ácido glicerofosfórico, ácido aspártico, ácido sulfosalicílico, ácido hemisulfúrico o ácido tiocianico.

De acuerdo con otra realización de la invención, la sal farmacéuticamente aceptable del compuesto de la invención tiene la fórmula:



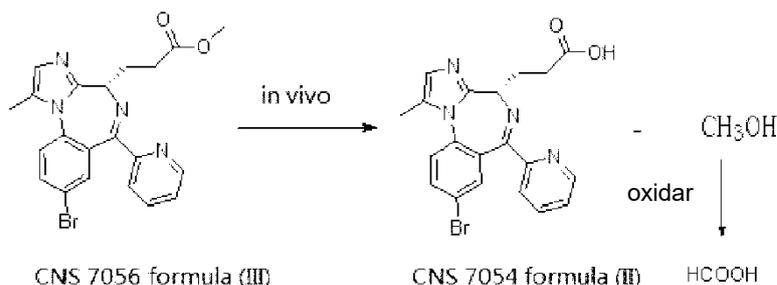
en donde A se selecciona del grupo que consiste en uno o más de HCl, HBr, ácido acético, ácido propiónico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido carbónico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico, ácido láctico, ácido succínico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico o ácido málico; particularmente uno o más de HCl, HBr, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico.

En una realización preferida de la invención, el compuesto de acuerdo con la invención o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo se seleccionan del grupo que consiste en:

- éster etílico de remimazolam ácido (compuesto C1),
- p-toluenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido (compuesto C2),
- bencenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido (compuesto C3),
- metanosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido (compuesto C4), y
- etanosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido (compuesto C5).

Ventajas de la invención.

Sin desear estar limitado por ninguna teoría, se cree que aunque remimazolam (CNS 7056, es decir, éster metílico de remimazolam ácido) tiene muchas ventajas, es metabolizado *in vivo* por la carboxilesterasa 1 (hCES1) a la sustancia no activa de remimazolam ácido (CNS 7054, fórmula (II)) y metanol. El metanol es tóxico (Sneyd JR. New drugs and technologies, intravenous anaesthesia is on the move (again), British Journal of Anaesthesia. 2010,105 (3): 246~54) y se podría metabolizar adicionalmente a ácido fórmico, que tiene una mayor toxicidad (Tephly TR. The toxicity of methanol, [J]. Life Sci, 1991, 48 (11): 1031-1041) y se metaboliza lentamente y también se acumula fácilmente *in vivo* (Roe. Species differences in methanol poisoning, [J]. Crit Rev Toxicol, 1982, 10 (4): 275-286).



Los autores de la presente invención realizaron un experimento de metabolismo de hepatocitos de CNS 7056 *in vitro* y sorprendentemente descubrieron que cuando se añadía ácido fórmico en una solución nutritiva de células hepáticas en una cantidad de 0,1% (v/v), el metabolismo de CNS 7056 estaba totalmente inhibido. Por lo tanto, después de una administración a largo plazo de remimazolam durante el proceso de sedación en la UCI por ONO PHARMACEUTICAL CO., LTD, el metabolito metanol se oxida fácilmente a ácido fórmico. El ácido fórmico se acumula fácilmente *in vivo* e inhibe la hCES1 de manera que el remimazolam se metaboliza lentamente, lo que puede causar una alta concentración en suero en algunos pacientes.

En comparación, el derivado de benzodiacepina y la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la invención tienen una acción rápida, una recuperación rápida, una baja incidencia de depresión respiratoria y un tiempo corto de recuperación de la conciencia. Mientras tanto, después del metabolismo *in vivo*, no se liberaría metanol con una gran toxicidad y, de este modo, no se produciría ácido fórmico, que puede inhibir el metabolismo del organismo, y no se inhibiría la hCES1 *in vivo*. Por lo tanto, no se produciría una mayor concentración en suero ni un tiempo de despertar prolongado después de la infusión a largo plazo de los pacientes y los pacientes podrían reanimar rápidamente después del cese de la administración.

Ejemplos

Para ilustrar claramente los objetos y las soluciones técnicas de la invención, se describen en detalle las realizaciones preferibles. Se debe apreciar que los siguientes ejemplos son meramente ilustrativos de la invención en lugar de limitativos de la misma. Las materias primas y los reactivos son productos disponibles comercialmente.

Ejemplos de preparación

Ejemplo 1: preparación de éster etílico de remimazolam ácido (C1)

Se disolvió compuesto de fórmula (II) (remimazolam ácido) (4,25 g, 10 mmoles) en etanol absoluto (100 ml) sobre un baño de hielo y se añadió ácido sulfúrico concentrado (0,5 g). Se retiró el baño de hielo y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 12 horas y se evaporó el etanol a presión reducida. Se disolvió el residuo en acetato de etilo (100 ml). Se lavó la capa orgánica con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (10 ml x 2) y a continuación con salmuera saturada (30 ml x 1). Se secó la capa orgánica con sulfato de sodio anhidro y se filtró. Se evaporó el disolvente orgánico a presión reducida para obtener un aceite incoloro de 4,1 g y el rendimiento fue de 91%.

MASA $[M + H]^+ = 454,1$

RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$) δ : 8,52 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,92 (dd, 1H), 7,78 (d, 2H), 7,63 (s, 1H), 7,57 (s, 1H), 7,43 (s, 1H), 4,32 (s, 1H), 4,08 (s, 2H), 2,46 (s, 2H), 2,34 (d, 5H), 1,17 (m, 3H).

Ejemplo 2: preparación de éster etílico de remimazolam ácido (C1)

Se disolvió compuesto de fórmula (II) (remimazolam ácido) (4,25 g, 10 mmoles) en diclorometano absoluto (20 ml) sobre un baño de hielo y se añadió gota a gota lentamente cloruro de oxalilo (3 ml) con una gota de DMF (N,N-dimetilformamida). Después de la adición, se retiró el baño de hielo. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 12 horas y se evaporaron el diclorometano y el cloruro de oxalilo a presión reducida. Se disolvió el residuo en diclorometano (20 ml) y se añadió gota a gota a una solución de diclorometano absoluto (15 ml) que comprendía DMAP (1,83 g, 15 mmoles) y etanol (1 ml) sobre el baño de hielo, y a continuación se realizó la reacción durante 4 horas. Se lavó la capa orgánica con solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (10 ml x 2) y a continuación con salmuera saturada (30 ml x 1). Se secó la capa orgánica con sulfato de sodio anhidro y se filtró. Se evaporó el disolvente orgánico a presión reducida para obtener un aceite incoloro de 4,2 g, y el rendimiento fue de 92,7%.

Ejemplo 3: preparación de éster etílico de remimazolam ácido (C1)

Se disolvió compuesto de fórmula (II) (remimazolam ácido) (4,25 g, 10 mmoles) en diclorometano absoluto (50 ml) a temperatura ambiente. Se añadieron DCC (diciclohexilcarbodiimida, 3,1 g, 15 mmoles) y DMAP (4-N,N-dimetilaminopiridina, 244 mg, 2 mmoles) sucesivamente al diclorometano. Después de agitar a temperatura ambiente durante 30 minutos, se añadió una solución de diclorometano (5 ml) que comprendía etanol (0,92 g, 20 mmoles). Se hizo reaccionar la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 16 horas y se filtró. Se lavó el filtrado con una solución saturada de hidrogenocarbonato de sodio (10 ml x 2) y con salmuera saturada (30 ml x 1). A continuación, se secó el filtrado con sulfato de sodio anhidro y se filtró. Se evaporó el disolvente orgánico a presión reducida y se separó el residuo por cromatografía en columna (acetato de etilo: éter de petróleo = 1:1) para obtener un aceite incoloro de 3,8 g, y el rendimiento fue de 83,8%.

Ejemplo 4: preparación de p-toluenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido (compuesto C2)

Se disolvió éster etílico de remimazolam ácido (1 g, 2,2 mmoles) en acetato de etilo (15 ml) a temperatura ambiente. Se añadió a la mezcla acetato de etilo (1 ml) que comprendía ácido p-toluenosulfónico (379 mg, 2,2 moles) y se produjo un sólido de color blanco. Se agitó la mezcla durante 3 horas sobre un baño de hielo para precipitación de cristal y a continuación se filtró. Se lavó la torta de filtro con acetato de etilo enfriado con hielo para obtener 0,9 g de p-toluenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido.

MASA $[M + H]^+ = 454,05$.

RMN- 1H (500 MHz, $CDCl_3$): δ 8,54 (d, 1H), 8,09 (d, 1H), 7,96 (dd, 1H), 7,82 (d, 2H), 7,72 (d, 2H), 7,48-7,56 (m, 1H), 7,44 (d, 2H), 7,07 (d, 2H), 4,33 (s, 1H), 4,06 (s, 2H), 2,67 (m, 2H), 2,47 (s, 3H), 2,35 (s, 2H), 2,25 (s, 3H), 1,16 (m, 3H).

Ejemplo 5: preparación de benzenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido (compuesto C3)

Se preparó el compuesto del título de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 4 utilizando como ácido, ácido benzenosulfónico.

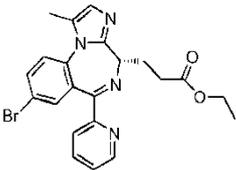
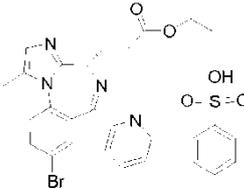
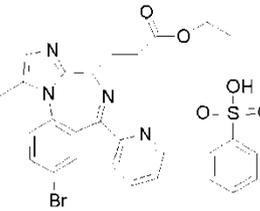
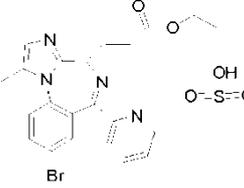
Ejemplo 6: preparación de metanosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido (compuesto C4)

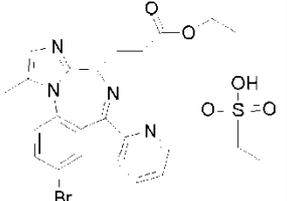
Se preparó el compuesto del título de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 4 utilizando como ácido, ácido metanosulfónico.

Ejemplo 7: preparación de etanosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido (compuesto C5)

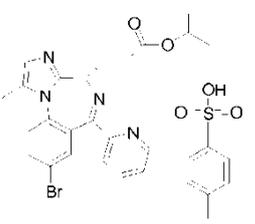
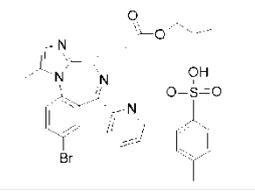
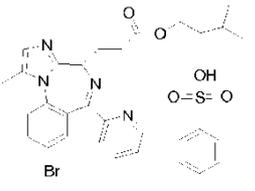
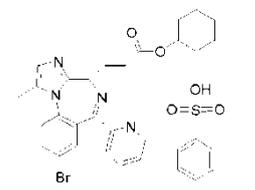
Se preparó el compuesto del título de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 4 utilizando como ácido, ácido etanosulfónico.

Las estructuras de los compuestos C1-C5 y sus solubilidades en solución salina normal son las siguientes:

| Núm. | Nombre | Estructura | Ácido A | Solubilidad en solución salina normal (mg/ml) |
|------|--|---|--------------------------|---|
| C1 | éster etílico de remimazolam ácido |  | | |
| C2 | p-toluenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido |  | ácido p-toluenosulfónico | 15 |
| C3 | benzenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido |  | ácido benzenosulfónico | 15 |
| C4 | metanosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido |  | ácido metanosulfónico | 16 |

| Núm. | Nombre | Estructura | Ácido A | Solubilidad en solución salina normal (mg/ml) |
|------|--|---|----------------------|---|
| C5 | etanosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido |  | ácido etanosulfónico | 16 |

Además, también se prepararon otros derivados. Las estructuras y solubilidades en solución salina normal son las siguientes:

| Núm. | Nombre | Estructura | Ácido A | Solubilidad en solución salina normal (mg/ml) |
|------|--|---|--------------------------|---|
| C6 | p-toluenosulfonato de éster isopropílico de remimazolam ácido |  | ácido p-toluenosulfónico | 8 |
| C7 | p-toluenosulfonato de éster n-propílico remimazolam ácido |  | ácido p-toluenosulfónico | 8 |
| C8 | p-toluenosulfonato de éster isopentílico de remimazolam ácido |  | ácido p-toluenosulfónico | 6 |
| C9 | p-toluenosulfonato de éster ciclohexílico de remimazolam ácido |  | ácido p-toluenosulfónico | 5 |

5

Ejemplos Biológicos

Ejemplo 8: Eficacia anestésica de remimazolam y compuesto C2, C6, C7, C8, C9 en ratones

- 10 Se agruparon los ratones Kunming (SPF, Chongqing Medical University Animal Center) aleatoriamente con 6 animales en cada grupo. Se administraron como dosificación 9 mg/kg mediante inyección en la vena caudal durante 3-5 segundos. Las actuaciones durante los experimentos con animales se registraron con la norma de desaparición del reflejo de corrección. Los resultados experimentales se muestran a continuación:

| Núm. | Nombre del compuesto | Concentración de administración | Número de animales anestesiados | Comportamiento de los animales |
|------------------|--|---------------------------------|---------------------------------|---|
| Control positivo | remimazolam (CNS 7056) | 0,9 mg/ml | 6/6 | El reflejo de corrección desapareció rápidamente; los ratones tenían una respiración constante después de la anestesia y podían caminar rápidamente con normalidad después de despertarse. |
| C2 | p-toluenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido | 0,9 mg/ml | 6/6 | El reflejo de corrección desapareció rápidamente; los ratones tenían una respiración constante después de la anestesia y podían caminar rápidamente con normalidad después de despertarse. |
| C6 | p-toluenosulfonato de éster isopropílico de remimazolam ácido | 0,9 mg/ml | 6/6 | El reflejo de corrección desapareció rápidamente; los ratones tuvieron una leve inhibición de la respiración después de la anestesia. Después de despertarse, los ratones mostraron debilidad en las extremidades, incluso parálisis, y no pudieron levantar la cabeza con los ojos cerrados. Después los ratones pudieron gatear lentamente sin sentido del equilibrio, mostraban hemiplejía y el cuerpo parecía balancearse al caminar. |
| C7 | p-toluenosulfonato de éster n-propílico de remimazolam ácido | 0,9 mg/ml | 0/6 | No hubo efecto anestésico pero sí un efecto sedante. Los ratones mostraban debilidad en las extremidades y se movían lentamente. |
| C8 | p-toluenosulfonato de éster isopentílico de remimazolam ácido | 0,9 mg/ml | 0/6 | Sin efecto |
| C9 | p-toluenosulfonato de éster ciclohexílico de remimazolam ácido | 0,9 mg/ml | 0/6 | Sin efecto |

De acuerdo con los resultados anteriores, el compuesto C2 tiene efecto anestésico en los ratones. Aunque el compuesto C6 tiene efecto anestésico sobre los ratones, muestra cierta toxicidad. Los compuestos C7-C9 no tienen efecto anestésico sobre los ratones.

5 Ejemplo 9: Experimentos de afinidad in vitro de remimazolam, compuesto C2 con sitio para benzodiazepinas del receptor GABA_A

10 Se dispersó la membrana con el sitio para benzodiazepinas del receptor GABA_A (ácido γ -aminobutírico) preparado (se cortó la cabeza de una rata SD viva sobre hielo y se obtuvo rápidamente el tejido cerebral y se añadió el tejido cerebral a una solución, Tris-HCl 0,05 M + 1 EDTA mM (A) y la solución se homogeneizó. Después se añadió A y se realizó una centrifugación a 1.000 r/min durante 10 min para obtener el sobrenadante. Se centrifugó el sobrenadante a 11.000 r/min durante 30 min a 4°C. Se descartó el sobrenadante, se añadió una solución A y se homogeneizó la mezcla con un mezclador Vortex. La centrifugación se realizó 3 veces. Después de la centrifugación, se descartó el sobrenadante para obtener el sedimento) para una cantidad apropiada de producto homogeneizado (solución tampón Tris 50 mM, pH 7,4) a través de un homogeneizador. Se añadieron 100 μ L de la preparación de membrana y 100 μ L del producto homogeneizado a cada tubo de reacción. Se añadieron 100 μ L de producto homogeneizado al tubo de unión total (TB) y se añadieron 100 μ M de clonazepam (disponible de Jiangsu Nhwa Pharma) (concentración final 10 μ M de $1,0 \times 10^{-5}$ M) al tubo de unión no específica (NB), se añadieron 100 μ L de compuesto de prueba al tubo de unión específica (SB) (concentración final de 10^{-5} M); se añadieron 10 μ L de radioligando ³H-flunitrazepam (disponible de PerkinElmer) a cada tubo de reacción (la concentración final es 1 nM). Se colocaron tres tubos paralelos para cada tubo de reacción, y se colocaron los tubos sobre hielo durante la adición de la muestra. Todos los tubos de reacción se incubaron a 4°C durante 60 min. Después de la reacción, se filtraron los ligandos combinados rápidamente a presión reducida (papel de filtro de fibra de vidrio GF/C, disponible de Whatman). Se sumergió el papel de prueba de Whatman en PEI al 0,5% y se lavó suficientemente con solución tampón experimental fría. Se extrajo la placa de filtro y se colocó en un vial de centelleo de 2 ml. Se añadió 1 ml de

solución de centelleo de tolueno (disponible de Shanghai Núm. 1 Reagent Factory) y se mezcló uniformemente. El vial de centelleo se colocó en un contador de centelleo líquido (Wallace 1450 MicroBeta Trilux) realizando el recuento después de la noche.

- 5 Tasa Inhibidora (I%)= (cpm del tubo de unión total – cpm del compuesto)/(cpm del tubo de unión total – cpm del tubo de unión no específica)x 100.

Una tasa inhibidora (I%) ≥95% significa una fuerte afinidad con el receptor correspondiente. La CI₅₀ de cada compuesto se calculó por el método logit y los resultados se muestran a continuación:

10

| Nombre del compuesto remimazolam C2 | Tasa inhibidora % | | | | | | CI ₅₀ (nM) |
|--|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | 1,0×10 ⁻⁵ M | 1,0×10 ⁻⁶ M | 1,0×10 ⁻⁷ M | 1,0×10 ⁻⁸ M | 1,0×10 ⁻⁹ M | 1,0×10 ⁻¹⁰ M | |
| | 99,7* | 85,5 | 47,0 | 15,4 | 6,8 | 23,0 | 15,8 |
| | 98,0* | 81,9 | 37,7 | 7,9 | 9,5 | 0 | 118 |

* Tasa inhibidora ≥95%

De acuerdo con los resultados anteriores, el compuesto C2 tiene una afinidad relativamente alta con el sitio para las benzodiazepinas del receptor GABA_A y, por lo tanto, es un compuesto anestésico eficaz como remimazolam.

- 15 Ejemplo 10: coeficiente de reparto aceite/agua de remimazolam y compuesto C2

Se formularon remimazolam y compuesto C2 en una solución acuosa de 1 mg/ml, respectivamente. Se midieron 10 ml de solución preparada y se añadió n-octanol con igual volumen. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 24 horas y se midieron las concentraciones de cada sustancia en agua y aceite respectivamente: logP = -log(C n-octanol /C agua). El logP de remimazolam es 2,62 y el logP de compuesto C2 es 3,28.

20

De acuerdo con los coeficientes de reparto aceite/agua, en comparación con el remimazolam, el compuesto C2 es más lipófilo y es más fácil que pase a través de la barrera hematoencefálica.

- 25 Ejemplo 11: descomposición en plasma de rata de remimazolam y compuesto C2

Se formularon remimazolam y compuesto C2 en solución salina normal de 1 mg/ml, respectivamente. Se midieron 0,1 ml de la solución y se añadieron al plasma de rata (especies vivas de Kunming, SPF, Animal Center of Chongqing Medical University). La mezcla se realizó suficientemente, y se colocó la mezcla sobre un baño de agua a temperatura constante de 37°C. Se añadieron 2 ml de acetonitrilo inmediatamente después de tomar muestras en diferentes puntos de tiempo. Se llevaron a cabo agitación y centrifugación a 10.000 rpm/min para obtener el sobrenadante y se realizó la medición mediante HPLC. Los resultados se muestran a continuación:

30

| Núm. | Nombre del compuesto | Descomposición de plasma de rata in vitro (%) | | |
|------------------|--|---|------|------|
| | | 10s | 30s | 1min |
| C2 | p-toluenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido | 61,4 | 99,0 | 100 |
| Control positivo | remimazolam (CNS 7056) | 53,7 | 96,7 | 100 |

- 35 De acuerdo con los resultados anteriores, el compuesto C2 tiene una tasa metabólica similar a la de remimazolam.

Ejemplo 12: DE₅₀ anestésica y DL₅₀ e índice IT de ratas

Se determinaron el valor de la DE₅₀ (dosis eficaz media) anestésica y el valor DL₅₀ (dosis letal media) de las ratas por un método secuencial. Se administraron a ratas SD macho sanas (SPF, Qinglongshan Animal Breeding Center of Nanjing), n = 10~20, mediante inyección en la vena caudal y la inyección se completó en 10 segundos a una velocidad constante. Se encontró la dosificación aproximada que causaba la anestesia (o muerte) del animal mediante una prueba preliminar antes del experimento y se utilizó como dosificación media para el experimento formal. La distancia entre cada grupo se estableció en 0,8, y se establecieron grupos de 2-3 dosis arriba y abajo, respectivamente. Durante el experimento formal, la administración comenzó a partir del grupo de dosificación media.

45

Cuando el animal se hubo anestesiado (o había muerto), se redujo la administración en una unidad de dosis; si el animal no era anestesiado (o moría), se incrementaba la administración en una unidad de dosis hasta que se encontraron 3-4 reversiones. Se utilizó la desaparición del reflejo de corrección o la muerte como índice de juicio, respectivamente. Se utilizó el soporte lógico ot425 para calcular DL₅₀ y DE₅₀. Se calculó el índice de tratamiento (índice IT) mediante el valor de DL₅₀ y DE₅₀ = DL₅₀/DE₅₀. Los resultados experimentales se muestran a continuación.

5

| Núm. | Nombre del compuesto. | DE ₅₀ (mg/kg) | DL ₅₀ (mg/kg) | Índice IT |
|------------------|--|--------------------------|--------------------------|-----------|
| C2 | p-toluenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido | 3,2 (2,64-3,79) | 30,7 (28,3-36,2) | 9,6 |
| Control positivo | remimazolam (CNS 7056) | 5 (3,79-6,59) | 61,4 (54,68-71,7) | 12,3 |

De acuerdo con los resultados anteriores, el compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la invención pueden causar un efecto anestésico en ratas como el remimazolam.

10

Ejemplo 13: tiempo de inducción anestésica y tiempo de despertar de ratas mediante bolo intravenoso

Las ratas Kunming (SPF, Qinglongshan Animal Breeding Center of Nanjing), mitad macho y mitad hembra, se dividieron en grupos con 10 animales en cada grupo. La dosificación de administración fue 2*DE₅₀ (el valor DE₅₀ se detectó en el Ejemplo 12) y la inyección en la vena caudal se realizó a una velocidad constante en 10 segundos. Se registró el tiempo para la desaparición del reflejo de corrección (período de latencia) y el tiempo de recuperación (período de duración) de las ratas. Los resultados experimentales se muestran a continuación:

15

| Núm. | Nombre del compuesto. | Dosis (mg/kg) | Número de animales anestesiados. | Tiempo de inducción (s) | Duración (s) |
|------------------|--|---------------------------|----------------------------------|-------------------------|--------------|
| C2 | p-toluenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido | 6,4 (2*DE ₅₀) | 10/10 | 18,8±3,0 | 267,4±105 |
| Control positivo | remimazolam (CNS 7056) | 10 (2*DE ₅₀) | 10/10 | 52,1±4,7 | 242,2±68 |

20

De acuerdo con los resultados anteriores, el compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la invención pueden proporcionar un efecto anestésico eficaz en ratas y el tiempo de inducción es 2,8 veces más corto que el de remimazolam, mientras que el tiempo de despertar no tiene una diferencia significativa con respecto al de remimazolam

25

Se puede encontrar a partir de los Ejemplos anteriores, aunque el compuesto C2 tiene una menor afinidad por el sitio para benzodiazepinas del receptor GABA_A, que remimazolam, el logP del compuesto C2 es más alto que el de remimazolam. En comparación con remimazolam, el compuesto C2 puede atravesar la barrera hematoencefálica más rápido (tiempo de inducción más corto) y más (DE₅₀ más baja) para ejercer un mejor efecto anestésico o sedante.

30

Ejemplo 14: DE₅₀ anestésica en conejos

Se determinaron los valores de la DE₅₀ anestésica en conejos mediante método secuencial. Se administraron a conejos blancos New Zealand sanos (SPF, Peizhou Rabbit Breeding Center) mediante inyección en la vena de la oreja a una velocidad constante en 30 segundos. Se encontró la dosificación aproximada que causa la anestesia (o muerte) del animal mediante una prueba preliminar antes del experimento y se utilizó como dosificación media para el experimento formal. Se estableció la distancia de cada grupo como 0,8 y se establecieron grupos de 2-3 dosis arriba y abajo, respectivamente. Se utilizaron la desaparición del reflejo de corrección o la muerte como índice de juicio de eficacia o toxicidad, respectivamente. Durante el experimento formal, la administración comenzó desde el grupo de dosificación media. Cuando el animal se hubo anestesiado (o había muerto), se redujo la administración en una unidad de dosis; si el animal no se anestesiaba (o moría), se aumentaba la administración en una unidad de dosis, hasta que se encontraron 3-4 reversiones. Se utilizaron la desaparición del reflejo de corrección o la muerte como índice de juicio, respectivamente. Se utilizó el soporte lógico ot425 para calcular la DE₅₀. Los resultados experimentales se muestran a continuación:

45

| Núm. | Nombre del compuesto | DE ₅₀ (mg/kg) |
|------|--|--------------------------|
| C2 | p-toluenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido | 0,512 (0,42-0,55) |

| Núm. | Nombre del compuesto | DE ₅₀ (mg/kg) |
|------------------|------------------------|--------------------------|
| Control positivo | remimazolam (CNS 7056) | 0,512 (0,44-0,57) |

De acuerdo con los resultados anteriores, el compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la invención pueden proporcionar un efecto anestésico en conejos, de los cuales la dosificación eficaz media es comparable con la de remimazolam.

5

Ejemplo 15: tiempo de inducción anestésica y tiempo de despertar de conejos mediante bolo intravenoso

Se dividieron los conejos blancos New Zealand (SPF, Peizhou Rabbit Breeding Center), mitad macho y mitad hembra, en grupos con 8 animales en cada grupo. La dosificación de administración fue 2*DE₅₀ (el valor DE₅₀ se detectó en el Ejemplo 14), y se administró mediante inyección en la vena de la oreja a una velocidad constante en 30 segundos. Se registró el tiempo (período de latencia) para la desaparición del reflejo de corrección y el tiempo de recuperación (período de duración) de los conejos. Los resultados experimentales se muestran a continuación.

10

| Núm. | Nombre del compuesto | Dosis (mg/kg) | Número de animales anestesiados. | Tiempo de inducción (min) | Duración (min) |
|------------------|--|---------------------------|----------------------------------|---------------------------|----------------|
| C2 | p-toluenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido | 1,0 (2*DE ₅₀) | 8/8 | 1,80±0,78 | 13,19±3,52 |
| Control positivo | remimazolam (CNS 7056) | 1,0 (2*DE ₅₀) | 8/8 | 4,30±2,38 | 10,25±2,72 |

De acuerdo con los resultados anteriores, el compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la invención pueden proporcionar un efecto anestésico eficaz en conejos y el tiempo de inducción es 2,3 veces más corto que el de remimazolam, mientras que el tiempo de despertar no tiene una diferencia significativa con respecto al de remimazolam.

Ejemplo 16: experimento de infusión venosa a largo plazo del compuesto en conejos

Se dividieron conejos blancos New Zealand (SPF, Peizhou Rabbit Breeding Center), mitad macho y mitad hembra, en grupos con 10 animales en cada grupo. La dosificación de cada administración fue de 3*DE₅₀ (el valor DE₅₀ se detectó en el Ejemplo 14) como dosificación inductora cuando se realizó la inyección intravenosa en conejos. Se infundió una dosificación apropiada como dosificación de mantenimiento durante 30 minutos. Se ajustó la tasa de infusión adecuadamente de acuerdo con el comportamiento de los conejos durante la administración para mantener una intensidad anestésica comparable para cada conejo. Se observaron los efectos de la infusión a largo plazo del medicamento de los dos grupos en conejos (respiración, salivación, excremento) y se registró el tiempo desde el cese de la administración hasta la recuperación del reflejo de corrección de los conejos. Los resultados experimentales se muestran a continuación.

30

| Núm. | Nombre del compuesto | Dosis inductora (mg/kg) | Dosis de mantenimiento (mg/kg/h) | Tiempo de despertar después del goteo intravenoso durante 30 min (min) |
|------------------|--|---------------------------|----------------------------------|--|
| C2 | p-toluenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido | 1,5 (3*DE ₅₀) | 22,5 | 45,20±12,59 |
| Control positivo | Remimazolam (CNS 7056) | 1,5 (3*DE ₅₀) | 22,5 | 33,91±10,28 |

De acuerdo con los resultados anteriores, el compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la invención pueden proporcionar un efecto anestésico en conejos durante el goteo intravenoso continuo.

35

Ejemplo 17: experimento farmacodinámico anestésico en Macaca fascicularis

Se administró el compuesto C2 que muestra una eficacia significativa en otro animal, a Macaca fascicularis para un experimento farmacodinámico anestésico. Se investigó la dosificación anestésica aproximada del compuesto C2 para Macaca fascicularis mediante una prueba preliminar antes del experimento y se establecieron diferentes dosificaciones para el experimento formal. Se realizó la administración intravenosa en 60 ± 10 s. Se utilizó la desaparición de la respuesta del párpado del animal para juzgar si se produjo anestesia en el animal. Se observó el comportamiento de los animales durante el período de duración y se evaluaron los efectos anestésicos del compuesto C2 sobre Macaca fascicularis. Los resultados experimentales se muestran a continuación.

40

| Núm. del compuesto | Dosis | Número de animales anestesiados/número de animales | Tiempo de inducción (s) | Duración (min) | Comportamiento animal del período de duración |
|------------------------|---------|--|-------------------------|----------------|---|
| C2 | 3 mg/kg | 3/3 | 2,00±0,63 | 28,67±5,92 | Debilidad de las extremidades, pérdida del conocimiento, pestañas cerradas, respiración abdominal, respiración estable |
| C2 | 4 mg/kg | 3/3 | 1,74±0,43 | 31,67±6,86 | Debilidad de las extremidades, pérdida del conocimiento, pestañas cerradas, respiración abdominal, respiración estable |
| C2 | 5 mg/kg | 3/3 | 1,48±0,54 | 36,21±4,78 | Debilidad de las extremidades, pérdida del conocimiento, pestañas cerradas, respiración abdominal, respiración estable |
| Remimazolam (CNS 7056) | 3 mg/kg | 3/3 | 2,17±0,41 | 23,33±6,71 | Pérdida completa de soporte corporal, conciencia ambigua, pero la conciencia no desapareció por completo durante todo el procedimiento. La cabeza pudo estar levantada. |

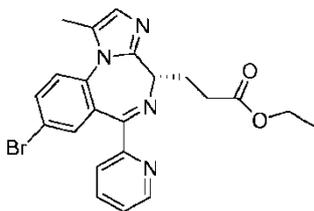
De acuerdo con los resultados anteriores, el compuesto o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la invención pueden proporcionar un efecto anestésico significativo sobre *Macaca fascicularis*, y el efecto anestésico es más fuerte que el de remimazolam a 3 mg/kg.

5 En resumen, el compuesto y la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la invención tienen acción rápida, recuperación rápida, baja incidencia de depresión respiratoria y tiempo de recuperación de la conciencia corto y el sujeto a tratar podría despertarse rápidamente después de cesar la administración, mostrando un efecto anestésico significativo. El derivado de benzodiacepina y la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la invención también tienen una acción rápida y un rápido despertar tras la administración al sujeto como anestésico intravenoso. El derivado de benzodiacepina y la sal farmacéuticamente aceptable del mismo de acuerdo con la invención también se podrían utilizar para proporcionar sedación en combinación con opiáceos.

15 A menos que se indique lo contrario, todos los números que expresan la cantidad de composición, proporción, condición y similares utilizados en la memoria descriptiva (incluidas las reivindicaciones) deben entenderse como definidos por el término "aproximadamente" en todas las condiciones. Por lo tanto, a menos que se indique lo contrario, un parámetro numérico es una aproximación y puede variar dependiendo de las características deseadas por la presente invención. Un experto en la técnica reconocerá muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descritas en la presente memoria siempre que estén dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Las realizaciones específicas descritas en la presente memoria se proporcionan solo a modo de ejemplo y no se pretende que sean limitantes de ninguna manera. El verdadero alcance y espíritu de la invención está indicado por las reivindicaciones adjuntas, a la luz de la descripción y ejemplos de la cual son meramente ilustrativos.

REIVINDICACIONES

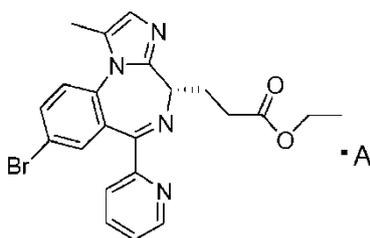
1. Un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



5

(I).

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en donde la sal farmacéuticamente aceptable se presenta mediante la fórmula (Ia):



10

(Ia)

en donde A es un ácido que puede formar una sal con un átomo de nitrógeno que contiene un par solitario de electrones y se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en HCl HBr, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido p-toluenosulfónico y cualquier combinación de los mismos.

15

3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o 2 o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo, que se selecciona del grupo que consiste en éster etílico de remimazolam ácido, p-toluenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido, bencenosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido, metanosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido y etanosulfonato de éster etílico de remimazolam ácido.

20

4. Una composición farmacéutica, que comprende el compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un portador farmacéuticamente aceptable.

25

5. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo para proporcionar anestesia.

6. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo para proporcionar sedación.

30

7. El compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3 o la sal farmacéuticamente aceptable del mismo combinados con opiáceos para proporcionar sedación.