



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 303 130**

(51) Int. Cl.:

C07D 471/16 (2006.01)

A61K 31/4985 (2006.01)

A61P 3/04 (2006.01)

A61P 25/32 (2006.01)

A61P 25/34 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **04806419 .0**

(86) Fecha de presentación : **20.12.2004**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1697362**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **06.09.2006**

(54)

Título: **Antagonistas del receptor de CRF y métodos relacionados con ellos.**

(30)

Prioridad: **22.12.2003 US 532032 P**

(45)

Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.08.2008

(45)

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.08.2008

(73)

Titular/es: **SB Pharmco Puerto Rico Inc.
The Prentice Hall Corp. System of PR Inc.
c/o FGR Corp. Services Inc.
BBV T. 8 Fl, 254 M. River
00918 San Juan, PR
NEUROCRINE BIOSCIENCES, Inc.**

(72)

Inventor/es: **Luo, Zhiyong;
Tellew, John Edward y
Williams, John**

(74)

Agente: **Elzaburu Márquez, Alberto**

ES 2 303 130 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

Antagonistas del receptor de CRF y métodos relacionados con ellos.

5 **Campo técnico**

Esta invención se refiere generalmente a antagonistas de receptor de CRF y a métodos para tratar trastornos mediante la administración de tales antagonistas a un mamífero que los necesite.

10 **Antecedentes de la invención**

El primer factor de liberación de corticotropina (CRF) se aisló a partir de hipotálamos ovinos y se identificó como un péptido de 41 aminoácidos (Vale y otros, Science 213:1394-1397, 1981). Posteriormente, se aislaron secuencias de CRF humano y de rata y se determinó que eran idénticas pero diferentes del CRF ovino en 7 de los 41 residuos de aminoácido (Rivier y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 80:4851, 1983; Shibahara y otros, EMBO J. 2:775, 1983).

Se ha descubierto que el CRF produce profundas alteraciones en la función endocrina, nerviosa y del sistema inmunológico. Se cree que el CRF es el regulador fisiológico principal de la liberación basal y bajo estrés de la hormona adrenocorticotrópica ("ACTH"), β -endorfina y otros péptidos derivados de pro-opiomelanocortina ("POMC") desde la pituitaria anterior (Vale y otros, Science 213:1394-1397, 1981). En resumen, se cree que el CRF inicia sus efectos biológicos por medio de su unión a un receptor de la membrana plasmática que se ha descubierto que está distribuido por todo el cerebro (DeSouza y otros, Science 224:1449-1451, 1984), la pituitaria (DeSouza y otros, Methods Enzymol. 124:560, 1986; Wynn y otros, Biochem. Biophys. Res. Comm. 110:602-608, 1983), las cápsulas suprarrenales (Udelsman y otros, Nature 319:147-150, 1986) y el bazo (Webster, E.L., y E.B. DeSouza, Endocrinology 122:609-617, 1988). El receptor de CRF está acoplado a una proteína de unión a GTP (Perrin y otros, Endocrinology 118:1171-1179, 1986) que media el aumento estimulado por CRF de la producción intracelular de AMPc (Bilezikjian, L.M., y W.W. Vale, Endocrinology 113:657-662, 1983). Ahora se ha clonado el receptor de CRF procedente de cerebro de rata (Perrin y otros, Endo 133(6):3058-3061, 1993) y humano (Chen y otros, PNAS 90(19):8967-8971, 1993; Vita y otros, FEBS 335(1):1-5, 1993). Este receptor es una proteína de 415 aminoácidos que comprende siete dominios transmembrana. Una comparación de identidad entre las secuencias de rata y humana muestra un alto grado de homología (97%) a nivel de los aminoácidos.

Además de su papel en la estimulación de la producción de ACTH y POMC, también se cree que el CRF coordina muchas de las respuestas endocrinas, autónomas y de comportamiento al estrés, y puede estar implicado en la fisiología de trastornos afectivos. Además, se cree que el CRF es un producto intermedio clave en la comunicación entre los sistemas inmune, nervioso central, endocrino y cardiovascular (Crofford y otros, J. Clin. Invest. 90:2555-2564, 1992; Sapolsky y otros, Science 238:522-524, 1987; Tilders y otros, Regul. Peptides 5:77-84, 1982). En general, el CRF parece ser uno de los neurotransmisores principales del sistema nervioso central y representa un papel crucial en la integración de la respuesta global del cuerpo a condiciones de estrés.

La administración de CRF directamente al cerebro induce respuestas de comportamiento, fisiológicas y endocrinas idénticas a las observadas para un animal expuesto a un entorno con condiciones de estrés. Por ejemplo, la inyección intracerebroventricular de CRF ocasiona una activación conductual (Sutton y otros, Nature 297:331, 1982), una activación persistente del electroencefalograma (Ehlers y otros, Brain Res. 278:332, 1983), la estimulación de la ruta simpatoadrenomedular (Brown y otros, Endocrinology 110:928, 1982), un aumento del ritmo cardíaco y de la presión sanguínea (Fisher y otros, Endocrinology 110:2222, 1982), un aumento del consumo de oxígeno (Brown y otros, Life Sciences 30:207, 1982), una alteración de la actividad gastrointestinal (Williams y otros, Am. J. Physiol. 253:G582, 1987), supresión del consumo de alimentos (Levine y otros, Neuropharmacology 22:337, 1983), una modificación del comportamiento sexual (Sirinathsinghji y otros, Nature 305:232, 1983) y un compromiso de la función inmune (Irwin y otros, Am. J. Physiol. 255:R744, 1988). Además, ciertos datos clínicos sugieren que puede secretarse un exceso de CRF en el cerebro en estados de depresión, en trastornos relacionados con la ansiedad y en caso de anorexia nerviosa (DeSouza, Ann. Reports in Med. Chem. 25:215-223, 1990). Por consiguiente, los datos clínicos sugieren que los antagonistas del receptor de CRF pueden representar nuevos fármacos antidepresivos y/o ansiolíticos que pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos neuropsiquiátricos que manifiestan hipersecreción de CRF.

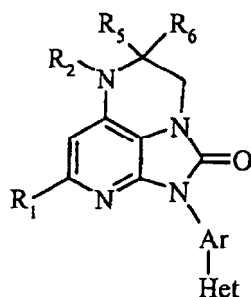
Los primeros antagonistas del receptor de CRF eran péptidos (véase, por ejemplo, Rivier y otros, Patente de Estados Unidos N° 4.605.642; Rivier y otros, Science 224:889, 1984). Aunque estos péptidos establecieron que los antagonistas del receptor de CRF pueden atenuar las respuestas farmacológicas al CRF, los antagonistas del receptor de CRF péptídicos tienen los inconvenientes habituales de los agentes terapéuticos péptídicos, incluyendo la falta de estabilidad y una actividad oral limitada. Algunos documentos de patente publicados incluyen US2002143008, US6348466, W02001083486 y W02000027850, todos los cuales describen compuestos de tetraazaacenaftileno como antagonistas de CFR.

Debido al significado fisiológico del CRF, sigue siendo un objetivo deseable el desarrollo de moléculas pequeñas biológicamente activas que tengan una actividad de unión significativa al receptor de CRF y que sean capaces de antagonizar el receptor de CRF. Estos antagonistas del receptor de CRF podrían ser útiles en el tratamiento de afecciones o enfermedades endocrinas, psiquiátricas y neurológicas, incluyendo trastornos relacionados con estrés en general.

Aunque se ha avanzado significativamente en la obtención de la regulación de CRF a través de la administración de antagonistas del receptor de CRF, sigue existiendo la necesidad en la técnica de antagonistas del receptor de CRF de molécula pequeña eficaces. También existe una necesidad de composiciones farmacéuticas que contengan tales antagonistas del receptor de CRF, para tratar, por ejemplo, trastornos relacionados con el estrés. La presente invención

Compendio de la invención

En resumen, esta invención se dirige, en general, a antagonistas del receptor de CRF, y más específicamente a antagonistas del receptor de CRF que tienen la siguiente estructura general (I):



(I)

incluyendo sus estereoisómeros, profármacos y sales farmacéuticamente aceptables, en donde R_1 , R_2 , R_5 , Ar y Het son como se definen posteriormente.

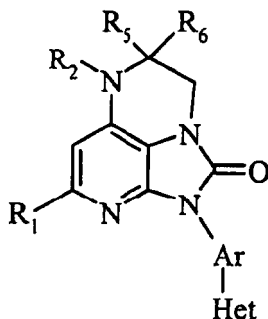
Los antagonistas del receptor de CRF de esta invención pueden tener utilidad sobre una amplia gama de aplicaciones terapéuticas, y pueden usarse para tratar una variedad de trastornos o enfermedades, incluyendo trastornos relacionados con el estrés. Tales métodos incluyen administrar una cantidad eficaz de un antagonista del receptor de CRF de esta invención, preferiblemente en forma de una composición farmacéutica, a un animal que necesite del mismo. Por consiguiente, en otra realización, se describen composiciones farmacéuticas que contienen uno o más antagonistas del receptor de CRF de esta invención junto con un vehículo y/o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Estos y otros aspectos de la invención serán evidentes después de consultar la siguiente descripción detallada. Para este fin, se han expuesto diversas referencias en este documento que describen con más detalle ciertos procedimientos, compuestos y/o composiciones, y se incorporan en la presente como referencia en su totalidad.

Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere, en general, a compuestos usados como antagonistas del receptor del factor de liberación de corticotropina (CRF).

En una primera realización, los antagonistas del receptor de CRF de esta invención tienen la siguiente estructura (I):



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable, un éster, un solvato o un estereoisómero o profármaco del mismo, donde:

ES 2 303 130 T3

R₁ y R₂ son iguales o diferentes e independientemente son alquilo C1-C10 o alquilo C1-C10 sustituido, en donde al menos un hidrógeno se reemplaza por un sustituyente seleccionado entre: halógeno, hidroxilo, alquilo C1-C10 y alcoxi C1-C10;

Ar es fenilo sustituido con un cloro;

Het es pirazol o dimetilisoxazol;

R₅ es hidrógeno y R₆ es igual o diferente y es hidrógeno, alquilo C1-C10 o alquilo C1-C10 sustituido, en donde al menos un hidrógeno se reemplaza por un sustituyente seleccionado entre: halógeno, hidroxilo, alquilo C1-C10 y alcoxi C1-C10.

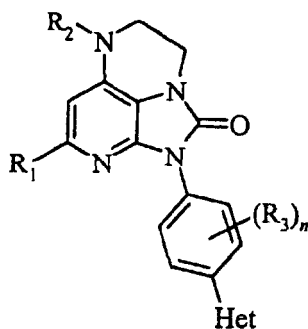
Según se usan en este documento, los términos anteriores tienen los siguientes significados:

“Alquilo” se refiere a hidrocarburos alifáticos de 1 a 10 átomos de carbono de cadena lineal o ramificada, acíclicos o cíclicos, insaturados o saturados, mientras que la expresión “alquilo inferior” tiene el mismo significado que alquilo pero contiene de 1 a 6 átomos de carbono. Alquilos de cadena lineal saturados representativos incluyen metilo, etilo, n-propilo, n-butilo, n-pentilo, n-hexilo y similares; mientras que alquilos ramificados saturados incluyen isopropilo, sec-butilo, isobutilo, terc-butilo, isopentilo y similares. Alquilos cíclicos saturados representativos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, -CH₂-ciclopropilo, -CH₂-ciclobutilo, -CH₂-ciclopentilo, -CH₂-ciclohexilo y similares; mientras que alquilos cíclicos insaturados incluyen ciclopentenilo, ciclohexenilo y similares. Alquilos cíclicos, también denominados “anillos homocíclicos”, incluyen anillos di- y poli-homocíclicos tales como decalina y adamantilo. Alquilos insaturados contienen al menos un doble o triple enlace entre átomos de carbono adyacentes (denominados “alqueno” o “alquino”, respectivamente). Alquenos de cadena lineal y ramificados representativos incluyen etilenilo, propilenilo, 1-butenilo, 2-butenilo, isobutilenilo, 1-pentenilo, 2-pentenilo, 3-metil-1-butenilo, 2-metil-2-butenilo, 2,3-dimetil-2-butenilo y similares; mientras que alquinos de cadena lineal y ramificados representativos incluyen acetilenilo, propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo, 1-pentinilo, 2-pentinilo, 3-metil-1-butinilo y similares.

“Halógeno” significa fluoro, cloro, bromo y yodo.

Un grupo “alcoxi” significa un resto alquilo unido a través de un enlace oxígeno (es decir, -O-alquilo) tal como -O-metilo, -O-etilo y similares.

Las realizaciones de la invención presentadas en la presente memoria tienen propósitos de ejemplo y no propósitos de limitación. En una primera realización de la invención, Ar es fenilo opcionalmente sustituido con R₃ *n* veces, donde *n* es 1, en la siguiente estructura (II), y es cloro.



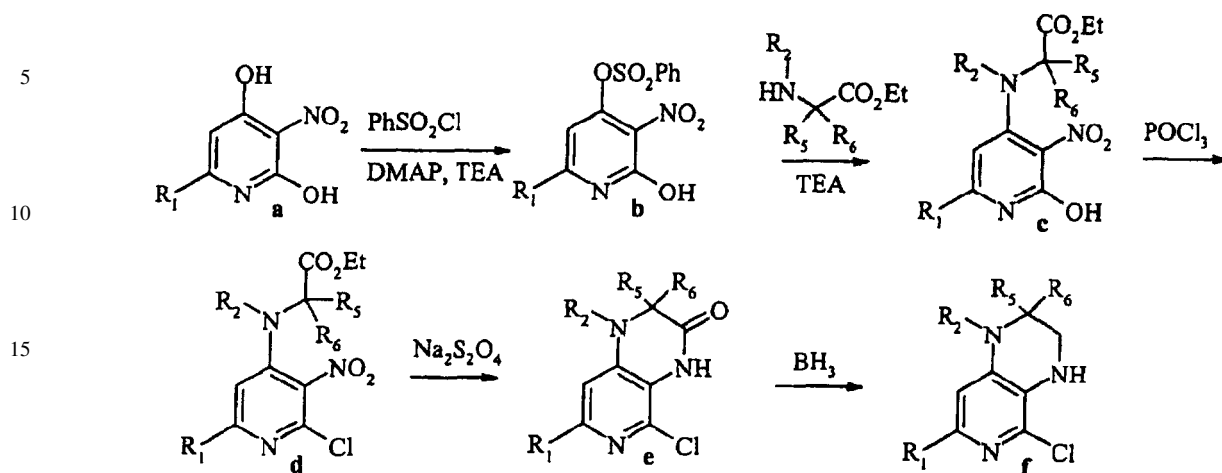
(II)

Los compuestos de la presente invención pueden utilizarse generalmente en la forma de la base libre. Como alternativa, los compuestos de esta invención pueden usarse en forma de sales de adición de ácidos. Las sales de adición de ácidos de los aminocompuestos en forma de base libre de la presente invención pueden prepararse por métodos bien conocidos en la técnica, y pueden formarse a partir de ácidos orgánicos e inorgánicos. Ácidos orgánicos adecuados incluyen ácidos maleico, fumárico, benzoico, ascórbico, succínico, metanosulfónico, acético, oxálico, propiónico, tartárico, salicílico, cítrico, glucónico, láctico, mandélico, cinámico, aspártico, esteárico, palmítico, glicólico, glutámico y bencenosulfónico. Ácidos inorgánicos adecuados incluyen ácidos clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, fosfórico y nítrico. De esta manera, la expresión “sal farmacéuticamente aceptable” de estructura (I) pretende incluir cualquiera y todas las formas salinas aceptables.

En general, los compuestos de estructura (I) pueden fabricarse de acuerdo con las técnicas de síntesis orgánica conocidas por los especialistas en este campo, así como mediante los métodos representativos indicados en los Ejemplos. Por ejemplo, la síntesis de la estructura (I) puede avanzar generalmente de acuerdo con los siguientes Esquemas de Reacción 1 y 2.

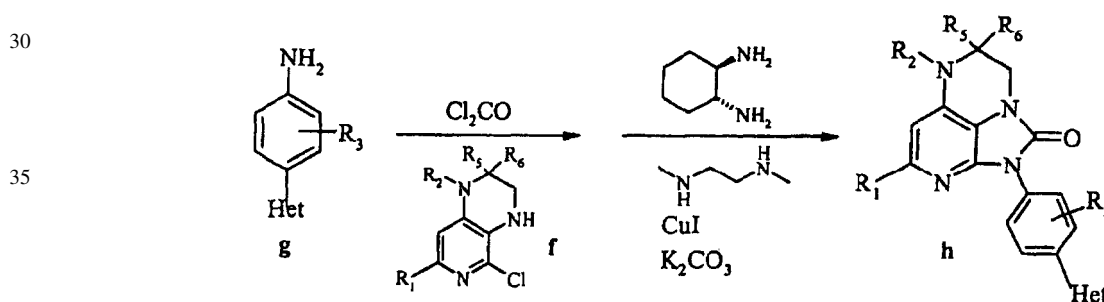
ES 2 303 130 T3

Esquema de Reacción 1



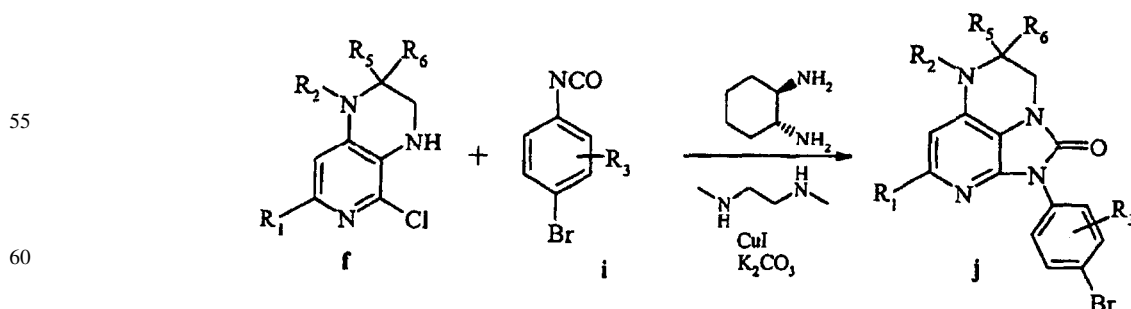
La piridina a en presencia de DMAP y TEA reacciona con cloruro de bencenosulfonilo para formar el fenilsulfonato de piridilo b. La condensación con éster alquílico de aminoácido en presencia de base da la aminopiridina c. El derivado clorado en 2 d se obtiene después de la reacción de c con oxicloruro de fósforo y sufre cierre de anillo para formar la tetrahidropiridopirazina e después de la reacción con hidrosulfito sódico. El compuesto f se obtiene después de la reducción con, por ejemplo, borano.

Esquema de Reacción 2



A una solución de la anilina g y DIEA en DCM seco se añade fosgeno. La reacción avanza durante la noche y, después de la evaporación del disolvente, se añaden la tetrahidropiridopirazina f (Esquema de Reacción 1) y DIEA en DCM seco. La mezcla resultante se agita y se extingue en la terminación con agua. El residuo de la capa orgánica seca se disuelve en 1,4-dioxano, se mezcla con CuI, K₂CO₃, *trans*-1,2-diaminociclohexano y N,N'-dimetiletilendiamina y se deja reaccionar durante la noche en un tubo cerrado a temperatura elevada para obtener el compuesto h después de la purificación. En ciertas realizaciones de la invención, el anillo bencénico del Compuesto g puede reemplazarse por piridina para proporcionar el análogo de piridilo conectado en N del Compuesto h.

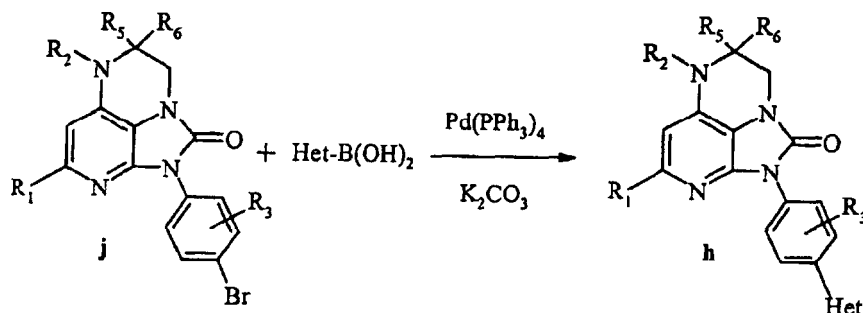
Esquema de Reacción 3



La adición del anillo fenílico a la pirazolopiridina puede alcanzarse partiendo del isocianato. En el Esquema de Reacción 3, el isocianato de 4-bromofenilo (opcionalmente) sustituido i reacciona con el Compuesto f (Esquema de Reacción 1) antes de la adición de los reactivos de N-arilación CuI, K₂CO₃ y las diaminas. Después de la purificación, se obtiene el Compuesto j.

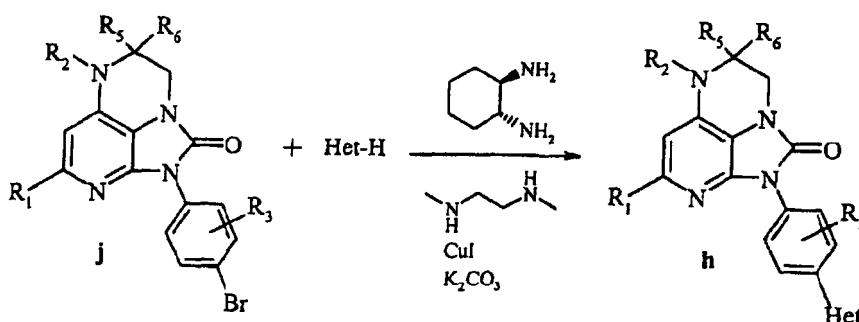
ES 2 303 130 T3

Esquema de Reacción 4



Una mezcla de Compuesto j con ácido heteroarilborónico, paladio-tetraquis(trisfenilfosfina) y K_2CO_3 reaccionará con el tiempo a temperatura elevada para dar el Compuesto h.

Esquema de Reacción 5



El procedimiento general de acoplamiento mediado por CuI puede emplearse en la reacción directa del Compuesto j con un heteroareno, CuI, diaminas y K_2CO_3 para obtener el Compuesto h. En este procedimiento, el heteroareno debe tener un grupo NH, cuyo átomo de nitrógeno se acopla al grupo arilo del producto final h.

La eficacia de un compuesto como antagonista del receptor de CRF puede determinarse mediante diversos métodos de ensayo. Los antagonistas de CRF adecuados de esta invención son capaces de inhibir la unión específica del CRF a su receptor y antagonizar las actividades asociadas con el CRF. Un compuesto de estructura (I) puede evaluarse con respecto a la actividad como un antagonista de CRF mediante uno o más ensayos aceptados generalmente para este propósito, incluyendo (pero no limitados a) los ensayos descritos por DeSouza y otros (J. Neuroscience 7:88, 1987) y Battaglia y otros (Synapse 1:572, 1987). Según se menciona anteriormente, antagonistas de CRF adecuados incluyen compuestos que demuestran afinidad por el receptor de CFR. La afinidad por el receptor de CRF puede determinarse mediante estudios de unión que miden la capacidad de un compuesto para inhibir la unión de un CRF radiomarcado (por ejemplo, $[^{125}I]$ tirosina-CFR) a su receptor (por ejemplo, receptores preparados a partir de membranas de córtex cerebral de rata). El ensayo de unión a radioligando descrito por DeSouza y otros (*supra*, 1987) proporciona un ensayo para determinar la afinidad de un compuesto por el receptor de CRF. Esta actividad se calcula típicamente a partir de la CI_{50} como la concentración de un compuesto necesaria para desplazar 50% del ligando radiomarcado del receptor, y se presenta como un valor de " K_i " calculado por la siguiente ecuación:

$$K_i = \frac{IC_{50}}{1 + L / K_D}$$

donde L = radioligando y K_D = afinidad del radioligando por el receptor (Cheng y Prusoff, Biochem. Pharmacol. 22:3099, 1973).

Además de inhibir la unión al receptor de CRF, la actividad antagonista del receptor de CRF de un compuesto puede establecerse por la capacidad del compuesto de antagonizar una actividad asociada con CRF. Por ejemplo, se sabe que el CRF estimula diversos procesos bioquímicos, incluyendo la actividad de adenilato ciclasa. Por lo tanto, los compuestos pueden evaluarse como antagonistas de CRF por su capacidad de antagonizar la actividad de adenilato ciclasa estimulada por CRF, por ejemplo, midiendo los niveles de AMPc. El ensayo de actividad de adenilato ciclasa estimulada por CRF descrito por Battaglia y otros (*supra*, 1987) proporciona un ensayo para determinar la capacidad de un compuesto de antagonizar la actividad de CRF. Por consiguiente, la actividad antagonista del receptor de CRF puede determinarse por técnicas de ensayo que generalmente incluyen un ensayo de unión inicial (tal como el descrito por DeSouza (*supra*, 1987)) seguido de un protocolo de investigación de AMPc (tal como el descrito por Battaglia (*supra*, 1987)).

Haciendo referencia a las afinidades de unión al receptor de CRF, los antagonistas del receptor de CRF de esta invención tienen una K_i de menos de $10\ \mu\text{M}$. En una realización preferida de esta invención, un antagonista del receptor de CRF tiene una K_i de menos de $1\ \mu\text{M}$ y más preferiblemente menos de $0,25\ \mu\text{M}$ (es decir, $250\ \text{nM}$). Como se explica con más detalle más adelante, los valores de K_i pueden ensayarse mediante los métodos indicados en el Ejemplo 7.

Los antagonistas del receptor de CRF de la presente invención pueden demostrar actividad en el sitio receptor de CRF, y pueden usarse como agentes terapéuticos para el tratamiento de una amplia serie de trastornos o enfermedades incluyendo trastornos o enfermedades endocrinos, psiquiátricos y neurológicos. Más específicamente, los antagonistas del receptor de CRF de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de afecciones o trastornos fisiológicos debidos a la hipersecreción de CRF. Como se cree que el CRF es un neurotransmisor importante que activa y coordina las respuestas endocrinas, conductuales y automáticas al estrés, los antagonistas del receptor de CRF de la presente invención pueden ser útiles en el tratamiento de trastornos neuropsiquiátricos. Los trastornos neuropsiquiátricos que pueden tratarse mediante los antagonistas del receptor de CRF de esta invención incluyen trastornos afectivos tales como depresión; trastornos relacionados con ansiedad tales como trastorno de ansiedad generalizada, trastorno de pánico, trastorno obsesivo-compulsivo, agresión anormal, anormalidades cardiovasculares tales como angina inestable e hipertensión reactiva; y trastornos de la alimentación tales como anorexia nerviosa, bulimia y síndrome del intestino irritable. Los antagonistas de CRF también pueden ser útiles en el tratamiento de la supresión inmune inducida por estrés asociada con diversos estados de enfermedad, así como de la apoplejía. Otros usos de los antagonistas de CRF de esta invención pueden incluir el tratamiento de estados inflamatorios (tales como artritis reumatoide, uveítis, asma, enfermedad inflamatoria del intestino y motilidad G.I.), dolor, enfermedad de Cushing, espasmos infantiles, epilepsia y otros ataques tanto en niños como en adultos, y diversos abusos y síndromes de abstinencia de sustancias (incluyendo alcoholismo).

En otra realización de la invención, se describen composiciones farmacéuticas que contienen uno o más antagonistas del receptor de CRF. Para los propósitos de administración, los compuestos de la presente invención pueden formularse en forma de composiciones farmacéuticas. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden un antagonista del receptor de CRF de la presente invención (es decir, un compuesto de estructura (I)) y un excipiente y/o diluyente farmacéuticamente aceptable. El antagonista del receptor de CRF está presente en la composición en una cantidad que es eficaz para tratar un trastorno particular, esto es, en una cantidad suficiente para alcanzar actividad como antagonista del receptor de CRF, y preferiblemente con toxicidad aceptable para el paciente. Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden incluir un antagonista del receptor de CRF en una cantidad de $0,1\ \text{mg}$ a $250\ \text{mg}$ por dosificación dependiendo de la ruta de administración, y, más típicamente, de $1\ \text{mg}$ a $60\ \text{mg}$. Las concentraciones y dosificaciones apropiadas pueden determinarse fácilmente por un especialista en la técnica.

Los especialistas en la técnica estarán familiarizados con los vehículos y/o diluyentes farmacéuticamente aceptables. En el caso de las composiciones formuladas como soluciones líquidas, los vehículos y/o diluyentes aceptables incluyen solución salina y agua estéril y opcionalmente pueden incluir antioxidantes, tampones, bacteriostatos y otros aditivos comunes. Las composiciones también pueden formularse como píldoras, cápsulas, gránulos o comprimidos que contienen, además de un antagonista del receptor de CRF, diluyentes, agentes dispersantes y tensioactivos, aglutinantes y lubricantes. Un especialista en la técnica además puede formular el antagonista del receptor de CRF de una manera apropiada y de acuerdo con prácticas aceptadas, tales como las descritas en Remington's Pharmaceutical Sciences, Gennaro, Ed., Mack Publishing Co., Easton, PA 1990.

Con respecto a los estereoisómeros, los compuestos de estructura (I) pueden tener centros quirales y pueden existir como racematos, mezclas racémicas y como enantiómeros o diastereómeros individuales. Todas estas formas isómeras se incluyen dentro de la presente invención, incluyendo sus mezclas. Además, algunas de las formas cristalinas de los compuestos de estructura (I) pueden existir como polimorfos, que se incluyen en la presente invención. Además, algunos de los compuestos de estructura (I) también pueden formar solvatos con agua u otros disolventes orgánicos. De forma similar, estos solvatos se incluyen dentro del alcance de esta invención.

En otra realización, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas útiles para tratar una diversidad de trastornos o enfermedades, incluyendo trastornos o enfermedades endocrinos, psiquiátricos y neurológicos. Tales composiciones farmacéuticas incluyen la administración de un compuesto de la presente invención a un mamífero (por ejemplo, una persona) en una cantidad suficiente para tratar el trastorno o la enfermedad. Según se usa en este documento, la administración sistémica incluye métodos de administración oral y parenteral. Para la admi-

nistración oral, las composiciones farmacéuticas adecuadas de antagonistas del receptor de CRF incluyen polvos, gránulos, píldoras, comprimidos y cápsulas, así como líquidos, jarabes, suspensiones y emulsiones. Estas composiciones también pueden incluir aromatizantes, conservantes, agentes de suspensión, espesantes y emulsionantes, y otros aditivos farmacéuticamente aceptables. Para administración parenteral, los compuestos de la presente invención pueden prepararse en soluciones de inyección acuosas que pueden contener, además del antagonista del receptor de CRF, tampones, antioxidantes, bacteriostatos y otros aditivos empleados comúnmente en tales soluciones.

En otra realización, la presente invención permite la visualización de diagnóstico de sitios específicos dentro del cuerpo por medio del uso de agentes farmacéuticos radiactivos o no radiactivos. El uso de un compuesto de la presente invención puede proporcionar una evaluación fisiológica, funcional o biológica de un paciente o proporcionar detección y evaluación de una patología o enfermedad. Productos farmacéuticos radiactivos se emplean en escintigrafía, tomografía de emisión de positrones (PET), tomografía computarizada (CT) y tomografía computarizada de emisión de un solo fotón (SPECT). Para tales aplicaciones, se incorporan radioisótopos de elementos tales como yodo (I), incluyendo ^{123}I (PET), ^{125}I (SPECT) y ^{131}I , tecnecio (Tc), incluyendo ^{99}Tc (PET), fósforo (P), incluyendo ^{31}P y ^{32}P , cromo (Cr), incluyendo ^{51}Cr , carbono (C), incluyendo ^{14}C , flúor (F), incluyendo ^{18}F , talio (Tl), incluyendo ^{201}Tl , y emisores de radiación positrónica e ionizante similares. Los agentes farmacéuticos no radiactivos se emplean en formación de imágenes por resonancia magnética (MRI), fluoroscopia y ultrasonidos. Para estas aplicaciones, se incorporan isótopos de elementos tales como gadolinio (Gd), incluyendo ^{153}Gd , hierro (Fe), bario (Ba), manganeso (Mn) y talio (Tl). Estas entidades también son útiles para identificar la presencia de sitios diana particulares en una mezcla y para marcar moléculas en una mezcla.

Como se ha mencionado anteriormente, la administración de un compuesto de la presente invención puede usarse para tratar una amplia diversidad de trastornos o enfermedades. En particular, los compuestos de la presente invención pueden administrarse a un mamífero para el tratamiento de depresión, trastorno de ansiedad, trastorno de pánico, trastorno obsesivo-compulsivo, agresión anormal, angina inestable, hipertensión reactiva, anorexia nerviosa, bulimia, síndrome del intestino irritable, supresión inmune inducida por estrés, apoplejía, inflamación, dolor, enfermedad de Cushing, espasmos infantiles, epilepsia y abuso o síndrome de abstinencia de sustancias.

Los siguientes Ejemplos se proporcionan con propósitos de ilustración, no de limitación.

Ejemplos

35 HPLC-MS Preparativa

Plataforma: Shimadzu HPLC equipada con un automuestreador/recogedor de fracciones Gilson 215, detector UV y un detector de masas PE Sciex API150EX;

40 Columna de HPLC: BHK ODS-O/B, 5 μ , 30 x 75 mm;

Gradiente de HPLC: 35 ml/minuto, acetonitrilo al 10% en agua hasta acetonitrilo al 100% en 7 minutos, manteniendo acetonitrilo al 100% durante 3 minutos, con TFA al 0,025%.

45 HPLC-MS Analítica - Método 1

Plataforma: Serie Agilent 1100: equipada con automuestreador, detector UV (220 nM y 254 nM) y detector de MS (APCI);

50 Columna de HPLC: Columna Phenomenex Synergi-Max RP, 2,0 x 50 mm;

Gradiente de HPLC: 1,0 ml/minuto, desde acetonitrilo al 5% en agua hasta acetonitrilo al 95% en agua en 13,5 min, manteniendo acetonitrilo al 95% durante 2 min, teniendo tanto el acetonitrilo como el agua 0,025% de TFA.

55 HPLC-MS Analítica - Método 2

60 Plataforma: Serie Agilent 1100: equipada con automuestreador, detector UV (220 nM y 254 nM), detector de MS (APCI) y módulo de bombeo de CO_2 Berger FCM 1200;

Columna de HPLC: Columna Berger Pyridine, PYR 60A, 6 μ , 4,6 x 150 mm;

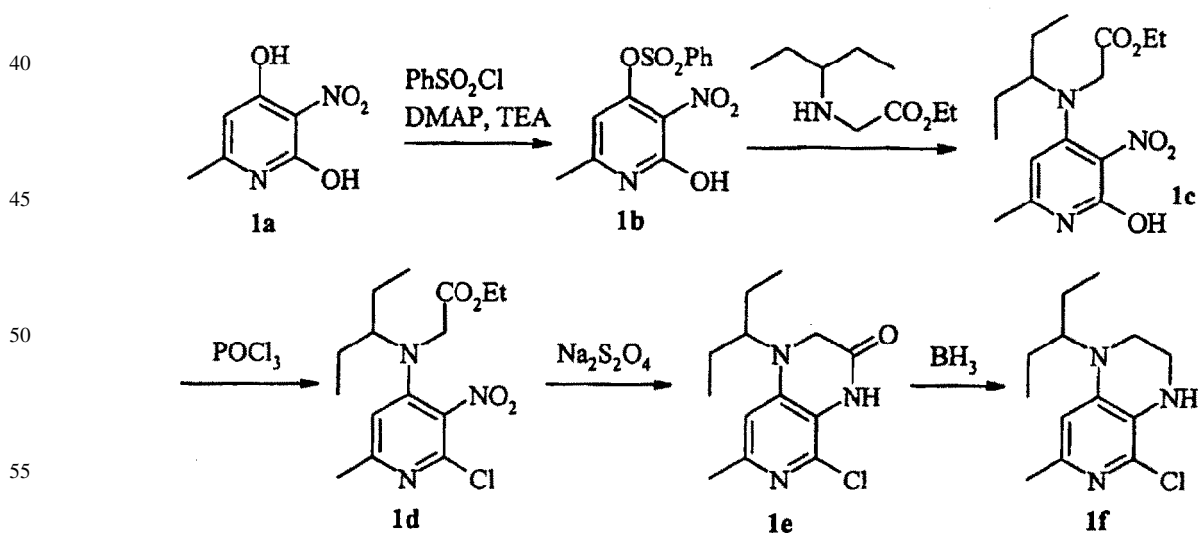
65 Gradiente de HPLC: 4,0 ml/minuto 120 bar; desde metanol al 10% en CO_2 supercrítico a metanol al 60% en CO_2 supercrítico en 1,67 minutos, manteniendo 60% durante 1 minuto. El metanol tiene 1,5% de agua. Contrapresión regulada a 140 bar.

Abreviaturas

	AA:	Anhídrido acético
5	Boc-Phe-CHO:	(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-3-fenilpropional
	BOC:	<i>tert</i> -butoxicarbonilo
	DCM:	diclorometano
10	DMF:	dimetilformamida
	DMSO:	dimetilsulfóxido
15	EDC:	hidrocloruro de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida
	Fmoc:	<i>N</i> -(9-fluorenilmetoxycarbonilo)
	HOBT:	hidrato de 1-hidroxibenzotriazol
20	NaBH(OAc) ₃ :	Triacetoxiborohidruro sódico
	Pd-C:	Paladio (al 10%) sobre carbono
25	TFA:	Ácido trifluoroacético
	THF:	Tetrahidrofurano

Los antagonistas del receptor de CRF de esta invención pueden prepararse mediante los métodos descritos en los Ejemplos 1 a 6. El Ejemplo 7 presenta un método para determinar la actividad de unión al receptor (K_i).

Ejemplo 1

Síntesis del reactivo 5-cloro-1-(1-etilpropil)-7-metil-1,2,3,4-tetrahidropirido[3,4-*b*]pirazina

Etapa 1A

A una suspensión de 3-nitro-6-metilpiridin-2,4-diol (1a, 25,5 g) y DMAP (0,92 g) en THF (250 ml) se añadió TEA (16,7 g) gota a gota. La suspensión resultante se calentó hasta reflujo mientras se añadía gota a gota cloruro de bencenosulfonilo (29,2 g) y la mezcla se sometió a reflujo durante 1 h adicional después de la terminación de la adición. La evaporación de disolvente daba 1b en bruto.

Etapa 1B

El residuo procedente de la Etapa 1A (cantidad completa) se suspendió en MeCN (250 ml). Se añadió DMAP (1,0 g) seguido por la adición gota a gota de una solución del aminoéster (26,0 g) en MeCN. La mezcla se calentó a reflujo durante una noche. Después de la evaporación del disolvente, el residuo se extrajo entre EtOAc y NaHCO₃ acuoso, a continuación la capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró para dar 1c.

Etapa 1C

El 1c en bruto se disolvió en MeCN (50 mL) y se sometió a reflujo con POCl₃ (2,0 eq) durante la noche. La mezcla se vertió sobre hielo y a continuación se neutralizó con carbonato sódico. La mezcla se extrajo con acetato de etilo. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice para proporcionar 1d (10,47 g).

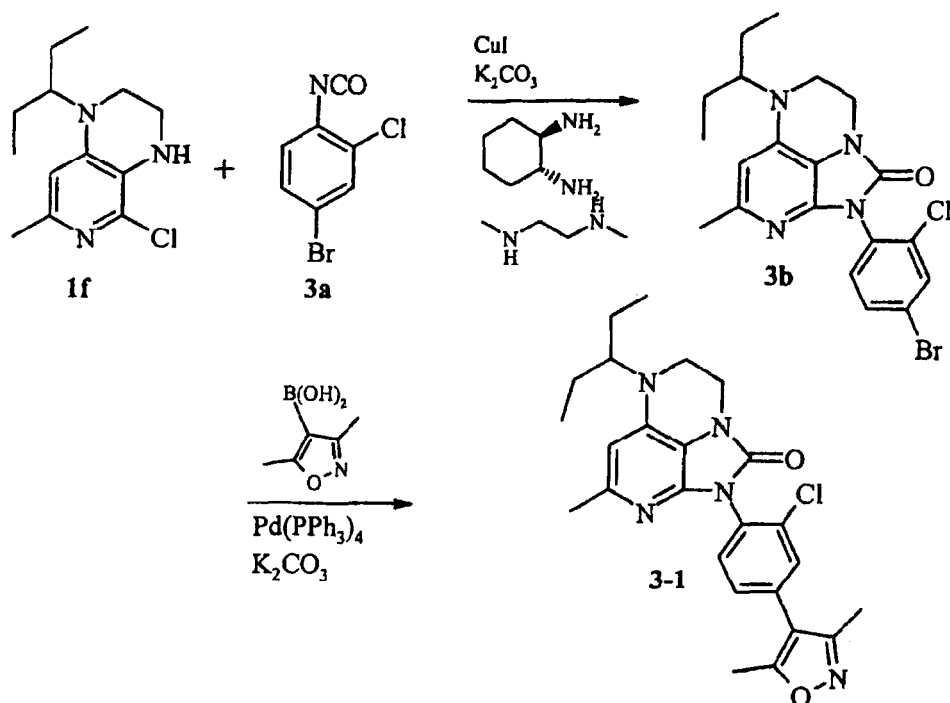
Etapa 1D

A una solución de Na₂S₂O₄ (26,56 g) y NaHCO₃ (12,82 g) en agua (100 ml) se añadió gota a gota una solución de 1d (10,45 g) en MeCN (80 ml) a temperatura ambiente. Después de agitar durante 2 h, el MeCN se evaporó y el residuo se extrajo con EtOAc. Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron para proporcionar compuesto 1e en bruto (6,20 g).

Etapa 1E

Al compuesto 1e en bruto (6,20 g) en THF seco (20 ml) se añadió borano (solución 1 M en THF, 3,0 eq) lentamente. Después de agitar a temperatura ambiente durante la noche, se añadió metanol cuidadosamente, y a continuación el disolvente se evaporó para proporcionar el compuesto 1f (3,1 g).

Ejemplo 2

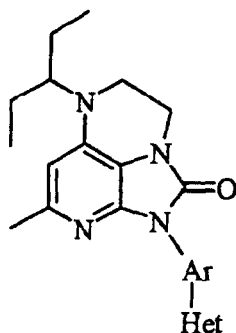


Etapa 3A

Una mezcla de compuesto 1f (253 mg, Ejemplo 1) e isocianato de 2-cloro-4-bromofenilo (232 mg) en 1,4-dioxano (2,5 ml) se agitó a temperatura ambiente durante 5 h. A la mezcla resultante se añadieron CuI (100 mg), K₂CO₃ (414 mg), *trans*-1,2-diaminociclohexano (50 µl) y N,N'-dimetiletildiamina (50 µl) sucesivamente antes de calentar durante la noche en un tubo cerrado a 110°C. El compuesto 3b resultante (190 mg) se purificó mediante cromatografía en gel de sílice.

Etapa 3B

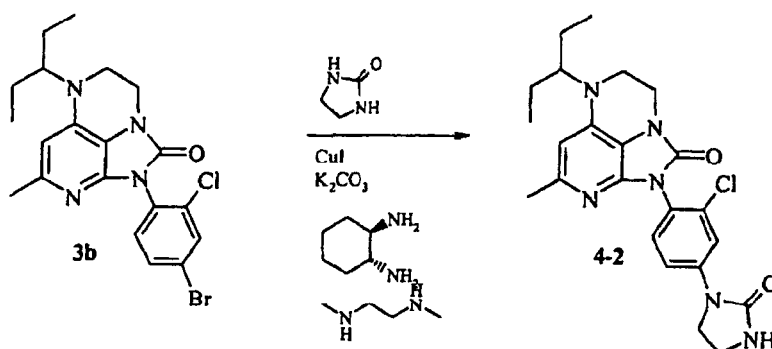
Una mezcla de compuesto 3b (25 mg) junto con ácido (3,5-dimetil-isoxazol)-4-borónico (0,12 mmol), tetraquis (trifenilfosfina)paladio(0) (0,01 mmol) y K_2CO_3 (0,25 mmol) se calentó (100°C) en dioxano/agua durante la noche en un tubo cerrado. El compuesto 3-1 (8,4 mg) se obtuvo como una sal de TFA después de la purificación a través de LC-MS preparativa. Al variar la estructura del ácido heterocicloborónico, se sintetizaron los compuestos de la siguiente Tabla:



	Ar	Het	PM	$[MH]^+$	t_R^*
3-1			465,982	610,3	1,009
3-2			436,944	437	1,422

* Todos los t_R presentados para el Método 2 de HPLC Analítica.

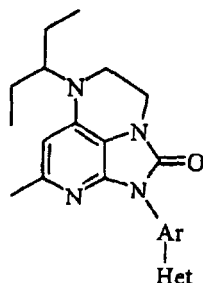
Ejemplo 3



ES 2 303 130 T3

Etapla 4A

El compuesto 3b (25 mg) se mezcló con imidazolidin-2-ona y se sometió al procedimiento general de acoplamiento mediado por CuI descrito en el Ejemplo 3. El compuesto 4-2 (3,0 mg) se obtuvo después de la purificación a través de LC-MS preparativa. Al variar el reaccionante heterocíclico, se sintetizaron los siguientes compuestos.



	Ar	Het	PM	[MH] ⁺	t _R [*]
4-1			436,944	437	1,168

Ejemplo 4

Actividad de unión al receptor de CRF

Los compuestos de esta invención pueden evaluarse con respecto a la actividad de unión al receptor de CRF mediante un ensayo de unión de radioligandos estándar como el descrito en general por Grigoriadis y otros (Mol. Pharmacol vol 50, páginas 679-686, 1996) y Hoare y otros (Mol. Pharmacol vol 63, páginas 751-765, 2003). Utilizando ligandos de CRF radiomarcados, el ensayo puede usarse para evaluar la actividad de unión de los compuestos de la presente invención con cualquier subtipo de receptor de CRF.

En resumen, el ensayo de unión implica el desplazamiento de un ligando de CRF radiomarcado del receptor de CRF. Más específicamente, el ensayo de unión se realiza en placas de ensayo de 96 pocillos usando 1-10 µg de membranas celulares de células transfectadas de manera estable con receptores de CRF humanos. Cada pocillo recibe aproximadamente 0,05 ml de tampón de ensayo (por ejemplo, solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco, cloruro de magnesio 10 mM, EGTA 2 mM) que contiene el compuesto de interés o un ligando de referencia (por ejemplo, sauvagina, urocortina I o CRF), 0,05 ml de [¹²⁵I]tirosina-sauvagina (concentración final ~150 pM o aproximadamente la K_D, según se determina por análisis de Scatchard) y 0,1 ml de una suspensión de membranas celulares que contiene el receptor de CRF. La mezcla se incuba durante 2 horas a 22°C seguido de separación del ligando unido y libre por filtración rápida sobre filtros de fibra de vidrio. Después de tres lavados, los filtros se secan y se cuenta la radiactividad (electrones Auger deI) usando un contador de centelleo. Todos los datos de unión del radioligando pueden analizarse usando los programas de ajuste de curvas por mínimos cuadrados no lineales Prism (GraphPad Software Inc) o XLfit (ID Business Solutions Ltd).

Ejemplo 5

Actividad de adenilato ciclasa estimulada por CRF

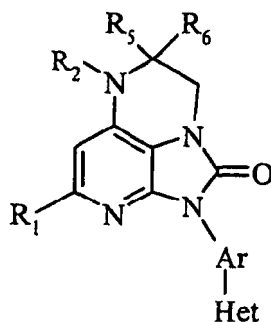
Los compuestos de la presente invención también pueden evaluarse por diversos ensayos funcionales. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden investigarse con respecto a la actividad de adenilato ciclasa estimulada por CRF. Un ensayo para la determinación de la actividad de adenilato ciclasa estimulada por CRF puede realizarse como se describe en general por Battaglia y otros (Synapse 1:572, 1987) con modificaciones para adaptar el ensayo a preparaciones de células enteras.

ES 2 303 130 T3

Más específicamente, la mezcla de ensayo convencional puede contener lo siguiente en un volumen final de 0,1 ml: L-glutamina 2 mM, HEPES 20 mM e IBMX 1 mM en tampón de DMEM. En estudios de estimulación, se cultivan células enteras con receptores de CRF transfectados en placas de 96 pocillos y se incuban durante 30 min a 37°C con diversas concentraciones de péptidos relacionados y no relacionados con CRF para establecer el perfil de rango-orden farmacológico del subtipo de receptores particular. Después de la incubación, se mide el AMPc en las muestras usando kits disponibles en el mercado convencionales, tales como AMPc-Screen™ de Applied Biosystems. Para la evaluación funcional de los compuestos, se incuban células y una sola concentración de CRF o péptidos relacionados que producen una estimulación de 50% de la producción de AMPc junto con diversas concentraciones de compuestos competitivos durante 30 min a 37°C, y se determina el AMPc como se ha descrito anteriormente.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la siguiente estructura:



(I)

o una sal farmacéuticamente aceptable, éster, solvato o estereoisómero del mismo,

donde:

R_1 y R_2 son iguales o diferentes e independientemente son alquilo C1-C10 o alquilo C1-C10 sustituido, en donde al menos un hidrógeno se reemplaza por un sustituyente seleccionado entre: halógeno, hidroxilo, alquilo C1-C10 y alcoxi C1-C10;

Ar es fenilo sustituido con un cloro;

Het es pirazol o dimetilisoxazol;

R_5 es hidrógeno y R_6 es igual o diferente y es hidrógeno, alquilo C1-C10 o alquilo C1-C10 sustituido, en donde al menos un hidrógeno se reemplaza por un sustituyente seleccionado entre: halógeno, hidroxilo, alquilo C1-C10 y alcoxi C1-C10.

2. Una composición que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 y un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable.

3. Uso de un compuesto de fórmula (I) de acuerdo con la reivindicación 1, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de un trastorno seleccionado entre un trastorno afectivo, un trastorno relacionado con la ansiedad, un trastorno de la alimentación, un trastorno inmunosupresor inducido por estrés, un trastorno inflamatorio o un trastorno de abuso o síndrome de abstinencia de sustancias.

4. Uso de un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el trastorno es síndrome del intestino irritable.

5. Uso de un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el trastorno es depresión.

6. Uso de un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el trastorno es ansiedad.

7. Uso de un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el trastorno es trastorno obsesivo-compulsivo.

8. Uso de un compuesto de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 3, en el que el trastorno es apoplejía.