

(19)

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 324 293**

(51) Int. Cl.:

C07D 211/60 (2006.01)**C07D 207/16** (2006.01)**A61K 31/496** (2006.01)**A61P 25/28** (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(96) Número de solicitud europea: **03756899 .5**(96) Fecha de presentación : **02.10.2003**(97) Número de publicación de la solicitud: **1546103**(97) Fecha de publicación de la solicitud: **29.06.2005**(54) Título: **Derivados de piperacina y piperidina para el tratamiento de enfermedades neurológicas.**(30) Prioridad: **03.10.2002 US 416134 P**

(73) Titular/es:

VERTEX PHARMACEUTICALS INCORPORATED
130 Waverly Street
Cambridge, Massachusetts 02139, US(45) Fecha de publicación de la mención BOPI:
04.08.2009(72) Inventor/es: **Lauffer, David, J.;**
Botfield, Martyn, C. y
Eckard, Ottow(45) Fecha de la publicación del folleto de la patente:
04.08.2009(74) Agente: **Carpintero López, Mario**

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

Derivados de piperacina y de piperidina para el tratamiento de enfermedades neurológicas.

5 Campo técnico de la invención

La presente invención versa acerca de derivados de la piperacina y de la piperidina, que son especialmente útiles para el tratamiento o la prevención de daño neuronal, en particular daño asociado con enfermedades neurológicas. Estos compuestos también son útiles para estimular el crecimiento de los nervios. La invención también proporciona 10 composiciones que comprenden los compuestos de la presente invención y el uso de sus compuestos en la fabricación de un medicamento para tratar o evitar el daño neuronal o para estimular el crecimiento de los nervios.

Antecedentes de la invención

15 Las enfermedades neurológicas están asociadas con la muerte o lesión de las células neuronales. El tratamiento típico para las enfermedades neurológicas implica fármacos capaces de inhibir la muerte celular neuronal. Un enfoque más reciente implica la promoción de la regeneración de los nervios al promover el crecimiento neuronal.

20 El crecimiento neuronal, que es crítico para la supervivencia de las neuronas, se estimula *in vitro* por medio de factores de crecimiento de los nervios (NGF). Por ejemplo, el factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF) muestra una actividad neurotrófica tanto *in vivo* como *in vitro*, y está siendo investigado en la actualidad para el tratamiento de la enfermedad de Parkinson. Se ha demostrado que la insulina o los factores de crecimiento similares a la insulina estimulan el crecimiento de neuritas en células de feocromocitoma PC12 de ratas y en neuronas simpáticas y sensoras cultivadas [Recio-Pinto *et al.*, J. Neurosci., 6, pp. 1211-1219 (1986)]. La insulina y los factores 25 de crecimiento similares a la insulina también estimulan la regeneración *in vivo* e *in vitro* de nervios motores dañados [Near *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci., pp. 89, 11716-11720 (1992); y Edbladh *et al.*, Brain Res., 641, pp. 76-82 (1994)]. De manera similar, el factor de crecimiento de fibroblasto (FGF) estimula la proliferación [D. Gospodarowicz *et al.*, Cell Differ., 19, p. 1 (1986)] y el crecimiento neural [M. A. Walter *et al.*, Lymphokine Cytokine Res., 12, p. 135 (1993)].

30 Sin embargo, hay desventajas asociadas con el uso de los factores de crecimiento de los nervios para tratar enfermedades neurológicas. Éstos no cruzan fácilmente la barrera de sangre-cerebro. Éstos son inestables en plasma y tienen propiedades deficientes para la administración de fármacos.

35 Recientemente, se ha demostrado que las moléculas pequeñas estimulan la excrecencia de neuritas *in vivo*. En individuos que padecen una enfermedad neurológica, esta estimulación de crecimiento neuronal protege a las neuronas de una degeneración adicional, y acelera la regeneración de células nerviosas. Por ejemplo, se ha demostrado que el estrógeno promueve el crecimiento de axones y dendritas, que son neuritas emitidas por células nerviosas para comunicarse entre sí en un cerebro adulto en desarrollo o dañado [C. Dominique Toran-Allerand *et al.*, J. Steroid Biochem. Mol. Biol., 56, pp. 169-78 (1996); y B. S. McEwen *et al.*, Brain Res. Dev. Brain. Res., 87, pp. 91-95 (1995)]. El progreso de la enfermedad de Parkinson se ve ralentizado en mujeres que toman estrógeno. Se hipotetiza que el estrógeno complementa al NGF y otros neurotrofinas y que ayuda de ese modo a las neuronas a diferencias y sobrevivir.

45 Otras ubicaciones objetivo para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas son la clase de inmunofilina de proteínas. Las inmunofilinas son una familia de proteínas solubles que median en las acciones de fármacos inmunosupresores como ciclosporina A, FK506 y rapamicina. De interés particular es la inmunofilina de 12 kDa, proteína enlazante FK-506 (FKBP12). La FKBP12 enlaza FK-506 y rapamicina, llevando a una inhibición de la activación y proliferación de células T. Interesantemente, son distintos los mecanismos de acción del FK-506 y de la rapamicina. 50 Para una reseña, véase, S. H. Solomon *et al.*, Nature Med., 1, pp. 32-37 (1995). Se ha informado de que los compuestos con una afinidad por la FKBP12 que inhiben la actividad de la rotomasa de esa proteína poseen actividad estimuladora del crecimiento de los nervios. [Lyons *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91, pp. 3191-3195 (1994)]. Muchos de estos compuestos también tienen una actividad inmunosupresora.

55 Se ha demostrado que el FK506 (Tacrolimo) actúa de manera sinérgica con NGF para estimular la excrecencia de neuritas en células PC12 al igual que ganglios sensoriales [Lyons *et al.* (1994)]. También se ha mostrado que este compuesto es un neuroprotector en la isquemia cerebral focal [J. Sharkey y S. P. Butcher, Nature, 371, pp. 336-339 (1994)] y que aumenta la velocidad de regeneración axonal en nervios ciáticos dañados [B. Gold *et al.*, J. Neurosci., 15, pp. 7509-16 (1995)].

60 Sin embargo, el uso de compuestos inmunosupresores tiene inconvenientes, por cuanto el tratamiento prolongado con estos compuestos puede causar nefrotoxicidad [Kopp *et al.*, J. Am. Soc. Nephrol., 1, p. 162 (1991)], déficits neurológicos [P. C. DeGroen *et al.*, N. Eng. J. Med., 317, p. 861 (1987)] e hipertensión vascular [Kahan *et al.*, N. Eng. J. Med., 321, p. 1725 (1989)].

65 Las subclases de compuestos FKBP de enlace que inhiben la actividad de la rotomasa, pero que supuestamente carecen de la función inmunosupresora han sido desvelados para su uso en la estimulación del crecimiento de los

ES 2 324 293 T3

nervios y para la neuroprotección [véanse, la patente estadounidense 5.614.547; WO 96/40633; WO 96/40140; WO 97/16190; WO 98/13343; WO 98/13355; WO 98/29116; WO 98/29117; WO 98/35675; WO 98/37882; WO 98/37885; J. P. Steiner *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, pp. 2019-23 (1997); y G. S. Hamilton *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., 7, pp. 1785-90 (1997)].

5 En el documento WO 96/41609 se describe la estimulación de los axones neurales en células nerviosas por medio de derivados de la piperidina. El uso clínico de los derivados de la piperidina y de la pirrolidona conocidos hasta ahora para estimular el crecimiento axonal no ha sido prometedor, dado que los compuestos son inestables en plasma y no pasan la barrera sangre-cerebro en cantidades adecuadas.

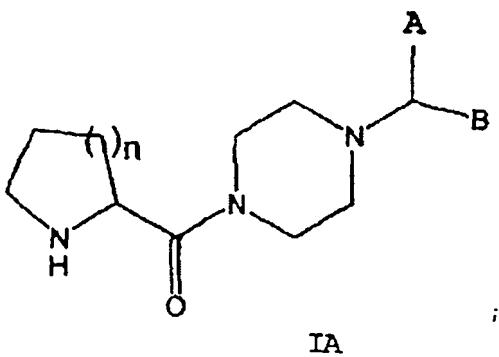
10 10 Más recientemente, se han descrito clases de compuestos que carecen de la capacidad para enlazar FKBP y carecen de la función inmunosupresora para su uso en la estimulación del crecimiento de nervios y la prevención de la neurodegeneración [véanse, WO 98/20891; WO 98/20892; WO 98/20893 y WO 99/10340]. El documento WO 01/58891 A2 describe derivados de la piperacina y de la piperidina, que son útiles para el tratamiento o prevención del daño neuronal.

20 20 Aunque se han descrito una amplia variedad de compuestos para tratar o prevenir las enfermedades degenerativas neurológicas, únicamente dos de estos se encuentran en ensayos clínicos y no se han aprobado ninguno de ellos para su comercialización. Y aunque los compuestos que comparten ciertas similitudes estructurales con los compuestos revelados en el presente documento han sido descritos en las patentes estadounidenses n°s 4.115.569 y 4.374.990, ninguna de esas patentes enseña ni sugiere específicamente los compuestos de la presente invención, ni hay ninguna enseñanza de que dichos compuestos tendrían una utilidad para estimular el crecimiento de los nervios o de prevenir la neurodegeneración.

25 25 De esta manera, sigue existiendo la necesidad del descubrimiento y diseño de nuevos compuestos y composiciones que tengan la capacidad de prevenir y/o tratar el daño neuronal asociado con las afecciones neuropatológicas.

Resumen de la invención

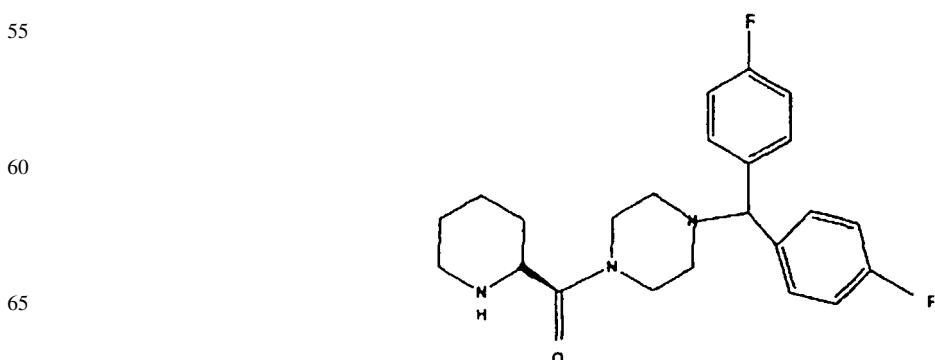
30 La presente invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula IA:



en la que:

n es 1 o 2;

50 A y B están seleccionados cada uno independientemente de entre fenilo, clorofenilo, diclorofenilo, fluorofenilo o difluorofenilo a condición de que si n es 2 A, B no sean simultáneamente fenilo y que el compuesto que tiene la fórmula IA no sea

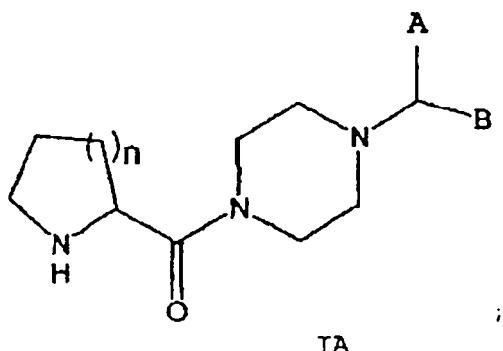


ES 2 324 293 T3

En otra realización, la invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos de la fórmula IA. Estas composiciones pueden ser utilizadas en procedimientos para promover la reparación neuronal o para prevenir el daño neuronal en una célula nerviosa *ex vivo*. Más en particular, los compuestos de la presente invención son útiles en la preparación de un medicamento para tratar diversas enfermedades neurológicas. Ejemplos 5 de dichas enfermedades incluyen la destrucción de los nervios periféricos debido a una lesión física o enfermedades como la diabetes; lesiones físicas al sistema nervioso central (por ejemplo, al cerebro o a la médula espinal); apoplejía; trastornos neurológicos debidos a la degeneración de los nervios, como la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer y la esclerosis lateral amiotrófica.

10 Descripción detallada de la invención

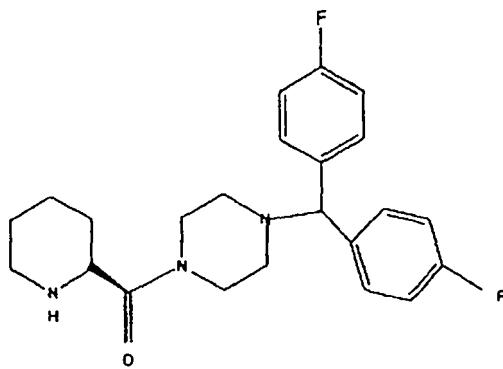
La presente invención proporciona un compuesto que tiene la fórmula IA:



en la que:

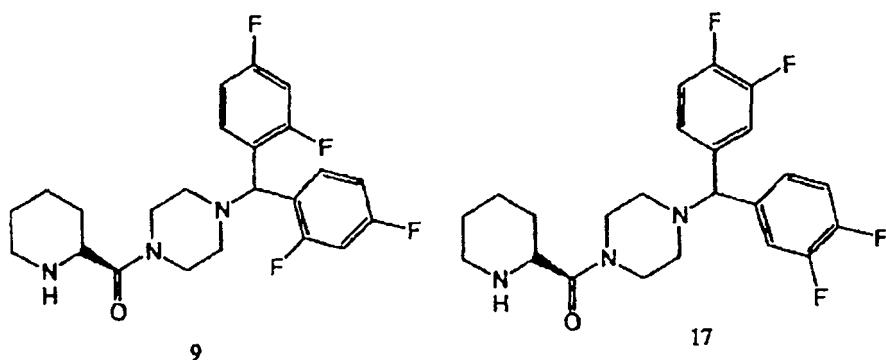
30 n es 1 o 2;

A y B están seleccionados cada uno independientemente de entre fenilo, clorofenilo, diclorofenilo, fluorofenilo o difluorofenilo a condición de que si n es 2 A, B no sean simultáneamente fenilo y que el compuesto que tiene la fórmula IA no sea



50 Preferiblemente, n es 1. Conforme a otra realización preferida, n es 2.

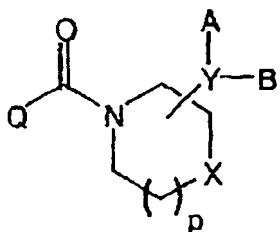
Más preferiblemente, los compuestos de la presente invención tienen las siguientes fórmulas:



ES 2 324 293 T3

Los compuestos de la fórmula IA pueden ser estereoisómeros, isómeros geométricos o tautómeros estables. La invención prevé todos los isómeros posibles, como isómeros E y Z, enantiómeros S y R, diastereoisómeros, racematos y mezclas de los mismos.

- 5 Los compuestos de la presente invención pueden prepararse fácilmente utilizando procedimientos sintéticos conocidos. Por ejemplo, los compuestos de la fórmula I



en la que:

- 20 cada Q es un anillo monocíclico saturado o parcialmente insaturado de 3-7 miembros que tienen 1-4 heteroátomos seleccionados de entre N, O u S;
- 25 en la que se sustituyen opcional e independientemente hasta 4 átomos de hidrógeno en Q con halo, -OH, =O, =N-OR¹, alquilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado, alquilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado sustituido con Ar, alquenilo o alquinilo (C₂-C₆)-lineal o ramificado, alquenilo o alquinilo (C₂-C₆)-lineal o ramificado sustituido con Ar, alquilo O-(C₁-C₆)-lineal o ramificado, O-[alquilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado]-Ar, alquenilo o alquinilo O-(C₂-C₆)-lineal o ramificado, O-[alquenilo o alquinilo (C₂-C₆)-lineal o ramificado]-Ar, u O-Ar;
- 30 en la que Q tiene al menos un grupo atómico de anillo NH;
- 35 cada R¹ está seleccionado independientemente de entre alquilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado, alquilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado sustituido con Ar, alquilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado sustituido con cicloalquilo, alquenilo o alquinilo (C₂-C₆)-lineal o ramificado, o alquenilo o alquinilo (C₂-C₆)-lineal o ramificado sustituido con Ar; en la que uno o dos grupos CH₂ de dichas cadenas de alquilo, alquenilo, o alquinilo en R¹ son sustituidos opcional e independientemente con O, S, S(O), S(O)₂, C(O) u N(R²), en la que cuando R¹ está enlazado a nitrógeno, el grupo CH₂ de R¹ enlazado directamente a dicho nitrógeno no puede ser sustituido con C(O);
- 40 Ar está seleccionado de entre fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, indenilo, azulenilo, 2-furilo, 3-furilo, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, pirrolilo, oxazolilo, tiazolilo, imidazolilo, piraxolilo, pirazolinilo, piraolidinilo, isoxazolilo, isotiazolilo, 1,2,3-oxadiazolilo, 1,2,3-triazolilo, 1,3,4-oxadiazolilo, 1,2,4-oxadiazolilo, 1,2,4,5-tiadiazolilo, 1,2,3,5-tiadiazolilo, benoxazolilo, piridazinilo, 2-pirimidinilo, 4-pirimidinilo, 5-pirimidinilo, pirazinilo, 1,3,5-triazinilo, 1,3,5-tritianilo, indolizinilo, indolilo, isoindolilo, 3H-indolilo, indolinilo, benzo[b]furaniilo, benzo[b]tiofenilo, 1H-indazolilo, bencimidazolilo, benzotiazolilo, purinilo, 4H-quinolizinilo, quinolinilo, 1,2,3,4-tetrahidroisoquinolinilo, isoquinolinilo, 1,2,3,4-tetrahidroquinolinilo, cinolinilo, ftalazinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, 1,8-naftiridinilo, o cualquier otro sistema de anillo monocíclico o bicíclico factible químicamente, en el que cada anillo consiste en 5 a 7 átomos de anillo y en el que cada anillo comprende de 0 a 3 heteroátomos seleccionados independientemente de entre N, O u S, en el que
- 50 cada Ar está sustituido opcional e independientemente por uno a tres sustituyentes seleccionados de entre halo, hidroxi, nitro, -SO₃H, =O, trifluorometilo, trifluorometoxi, alquilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado, alquenilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado, O-[alquilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado], O-[alquenilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado], O-bencilo, O-fenilo, 1,2-metilenodioxi, -(R³)(R⁴), carboxilo, carboxamidas N-(alquilo C₁-C₆-lineal o ramificado o alquenilo C₂-C₆-lineal o ramificado), carboxamidas N,N-di-(alquilo C₁-C₆-lineal o ramificado o alquenilo C₂-C₆-lineal o ramificado), sulfonamidas N-(alquilo C₁-C₆-lineal o ramificado o alquenilo C₂-C₆-lineal o ramificado), o sulfonamidas N,N-di-(alquilo C₁-C₆-lineal o ramificado o alquenilo C₂-C₆-lineal o ramificado);
- 55 cada uno de R³ y R⁴ está seleccionado independientemente de entre alquilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado, alquenilo o alquinilo (C₂-C₆)-lineal o ramificado, hidrógeno, fenilo o bencilo; o en el que R³ y R⁴ se toman junto con el átomo de nitrógeno al que están enlazados para formar un anillo heterocíclico de 5-7 miembros;
- 60 cada R² está seleccionado independientemente de entre hidrógeno, alquilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado, o alquenilo o alquinilo (C₂-C₆)-lineal o ramificado;
- 65 X está seleccionado de entre C(R²)₂, N, N(R²), O, S, S(O) u S(O)₂
- Y está seleccionado de entre un enlace, -O-, alquilo (C₁-C₆)-lineal o ramificado, o alquenilo o alquinilo (C₂-C₆)-lineal o ramificado; en el que Y está enlazado al anillo mostrado por medio de un único enlace o un enlace

ES 2 324 293 T3

doble; y en el que uno o dos de los grupos CH_2 de dicho alquilo, alquenilo o alquinilo está sustituido opcional e independientemente con O, S, S(O), S(O)₂, C(O) u N(R);

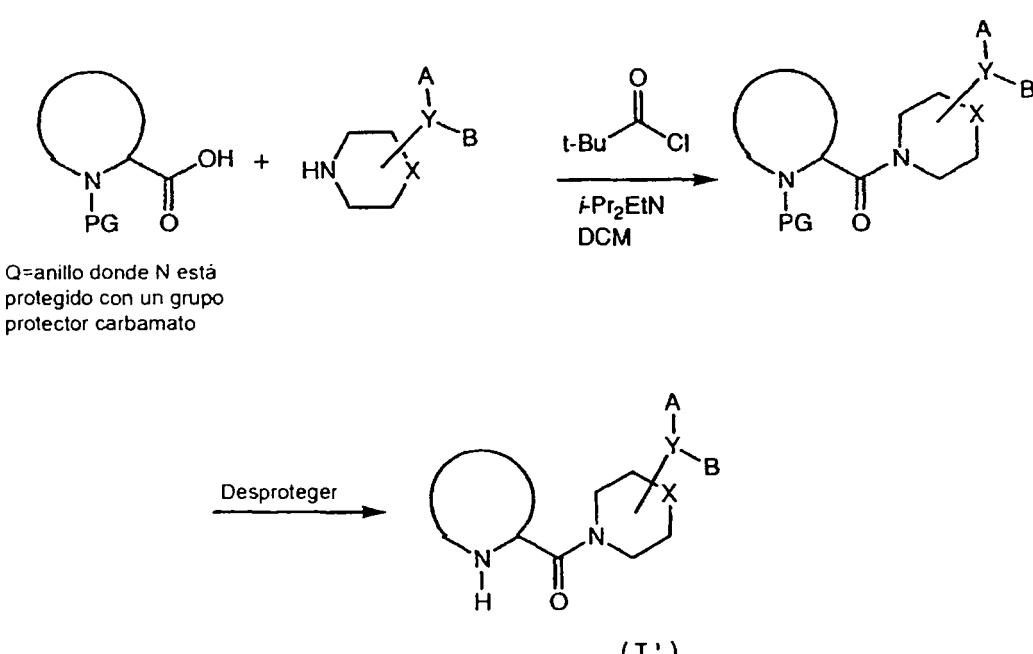
5 p es 0, 1 o 2;

cada uno de A y B está seleccionado de entre hidrógeno o Ar; o uno de entre A o B se encuentra ausente; y

10 en la que dos átomos de carbono del anillo en la estructura mostrada del anillo pueden estar enlazados entre sí mediante un alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$ -lineal o un alquenilo $\text{C}_2\text{-C}_4$ lineal para crear una porción bicíclica,

15 puede ser preparada como se muestra a continuación en el esquema 1:

Esquema 1



40 En el esquema mostrado anteriormente, se utilizan las siguientes abreviaturas:

iPr₂EtN = diisopropiletilamina;

45 DCM = diclorometano;

Un experto en la técnica será consciente de procedimientos sintéticos análogos para preparar otros compuestos de la fórmula (I).

50 La actividad estimuladora del crecimiento de los nervios de los compuestos de la presente invención puede ser investigada inicialmente utilizando varios ensayos de cultivos celulares conocidos en la técnica. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden ser probados en un ensayo de excrecencia de neuritas utilizando células de feocromocitoma PC12 como describen Lyons *et al.*, PNAS, 91, pp. 3191-3195 (1994). Se puede llevar a cabo un ensayo similar en células SH-SY5Y de neuroblastoma humano. De manera alternativa, se puede utilizar el ensayo de ganglios de la raíz dorsal en pollitos descrito en la patente estadounidense 5.614.547 o en G. S. Hamilton *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., (1997) y en las referencias citadas en la misma.

60 Los compuestos de la presente invención también pueden ser investigados para una actividad estimuladora del crecimiento de nervios *in vivo* utilizando un modelo de ratón de la enfermedad de Parkinson [J. P. Steiner *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, pp. 2019-23 (1997), patente estadounidense 5.721.256] o después de un aplastamiento quirúrgico de los nervios ciáticos en ratas.

65 La actividad neuroprotectora de los compuestos de la presente invención puede ser investigada utilizando células mesencefálicas ventrales de embrión de rata en un cultivo que son expuestas subsiguientemente al agonista del receptor de glutamato NMDA. Este ensayo se describe en detalle en la sección de ejemplos.

Conforme a otra realización, la presente invención proporciona composiciones que comprenden un compuesto de la fórmula IA y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

ES 2 324 293 T3

Los vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden ser utilizados en estas composiciones farmacéuticas incluyen, pero no están limitados a, intercambiadores de iones, alúmina, estearato de aluminio, lecitina, proteínas de suero, como albúmina de suero humano, sustancias tampón como fosfatos, glicina, ácido sóblico, sorbato de potasio, mezclas parciales de glicéridos de ácidos grasos saturados vegetales, agua, sales o electrolitos, como el sulfato de 5 protamina, el disodio hidrógeno fosfato, el potasio hidrógeno fosfato, el cloruro sódico, las sales de cinc, el sílice coloidal, el trisilicato de magnesio, la pirrolidona de polivinilo, las sustancias basadas en celulosa, el polietilenglicol, la carboxi metilcelulosa de sodio, los poliacrilatos, las ceras, los polímeros de bloque de polietileno-polioxi-propileno, el polietilenglicol y la grasa de lana.

10 En otra realización, la composición farmacéutica de la presente invención comprende un compuesto de la fórmula IA, un vehículo farmacéuticamente aceptable, y uno o más agentes terapéuticos adicionales.

Por ejemplo, el agente adicional puede ser un factor neurotrófico.

15 El término “factor neurotrófico”, según se utiliza en el presente documento, se refiere a los compuestos que son capaces de estimular el crecimiento o la proliferación del tejido nervioso. Se han identificado numerosos factores neurotróficos en la técnica y se puede utilizar cualquiera de esos factores en las composiciones de la presente invención. Estos factores neurotróficos incluyen, pero no están limitados a, factor de crecimiento de los nervios (NGF), factor de crecimiento similares a la insulina (IGF-1) y sus derivados activos truncados como el gIGF-1 y Des(1-3) IGF-I, 20 factor neurotrófico de fibroblasto ácido y básico (aFGF y bFGF, respectivamente), factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF), factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), factores neurotróficos ciliares (CNTF), factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF), neurotrofina-3 (NT-3) y neurotrofina 4/5 (NT-4/5). El factor neurotrófico más preferido en las composiciones de la presente invención es NGF.

25 Según se utilizan en el presente documento, los compuestos descritos utilizados en las composiciones farmacéuticas y en los procedimientos de la presente invención, están definidos para incluir derivados farmacéuticamente aceptables de los mismos. Un “derivado farmacéuticamente aceptable” denota cualquier sal, éster, o sal de dicho éster, farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la presente invención o cualquier otro compuesto que, al ser administrado a un paciente, es capaz de proporcionar (directa o indirectamente) un compuesto de la presente invención, o 30 un metabolito o residuo del mismo, caracterizado por la capacidad para promover la reparación o prevenir el daño de las neuronas por una enfermedad o trauma físico.

Si se utilizan sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos, esas sales se derivan preferiblemente de bases y ácidos inorgánicos u orgánicos. Incluidas entre dichas sales de ácido se encuentran las siguientes: 35 acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, bencenosulfonato, bisulfato, butirato, citrato, camforato, camforsulfonato, ciclopentanopropionato, digluconato, dodecilsulfato, etanosulfonato, fumarato, glucoheptanato, glicerofosfato, hemisulfato, heptanato, hexanato, hidrocloruro, hidrobromuro, hidroyoduro, 2-hidroxietanosulfonato, lactato, maleato, metanosulfonato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, oxalato, palmato, pectinato, persulfato, 3-fenil-propionato, picrato, 40 pivalato, propionato, succinato, tartrato, tiocianato, tosilato y undecanato. Las sales básicas incluyen sales amónicas, sales metálicas alcalinas, como las sales de sodio o de potasio, sales metálicas alcalinas téreas, como las sales de calcio o de magnesio, sales con bases orgánicas, como las sales de diciclohexilamina, N-metil-D-glucamina, y sales con aminoácidos como la arginina, lisina, y etcétera. También, los grupos básicos que contienen nitrógeno se pueden cuaternizar con dichos agentes como haluros de alquilo de cadena corta, como cloruro, bromuros y yoduros de metilo, de etilo, de propilo, y de butilo; sulfatos de dialquilo, como sulfatos de dimetilo, de dietilo, de dibutilo y de diamilo, 45 haluros de cadena larga como cloruros, bromuros y yoduros de decilo, de laurilo, de miristilo y de estearilo, haluros de aralquilo, como bromuros de bencilo y de fenetilo y otros. De ese modo, se obtienen productos solubles o dispersables en agua o en aceite.

50 Los compuestos descritos utilizados en las composiciones y en los procedimientos de la presente invención también pueden ser modificados al añadir funcionalidades apropiadas para mejorar las propiedades selectivas biológicas. Dichas modificaciones son conocidas en la técnica e incluyen aquellas que aumentan la penetración biológica en un sistema biológico dado (por ejemplo, sangre, sistema linfático, sistema nervioso central), aumentan la disponibilidad oral, aumentan la solubilidad para permitir la administración mediante inyección, alteran el metabolismo y alteran el ritmo de excreción.

55 Las composiciones de la presente invención pueden ser administradas oralmente, parenteralmente, mediante aerosol de inhalación, tópicamente, rectalmente, nasalmente, bucalmente, vaginalmente o por medio de un reservorio implantado. El término “parenteral” según se utiliza en el presente documento incluye una inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intrahepática, intralesional e intracraneal 60 o técnicas de infusión. Preferiblemente, las composiciones se administran oral, intraperitoneal o intravenosamente.

Las formas estériles inyectables de las composiciones de la presente invención pueden ser una suspensión acuosa 65 u oleaginosa. Estas suspensiones pueden estar formuladas conforme a las técnicas conocidas en la técnica utilizando agentes de dispersión o humectantes y agentes de suspensión adecuados. La preparación estéril inyectable también puede ser una disolución o suspensión estéril inyectable en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo como una disolución en 1,3-butanodiol. Entre los vehículos y disolventes aceptables que pueden ser empleados se encuentran el agua, una disolución de Ringer y una disolución isotónica de cloruro sódico. Además, se emplean de manera convencional aceites estériles fijos como un disolvente o un medio de suspensión. Para este fin, se

ES 2 324 293 T3

puede emplear cualquier aceite suave fijo incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Los ácidos grasos, como el ácido oleico y sus derivados glicéridos son útiles en la preparación de inyectables, como también lo son los aceites naturales farmacéuticamente aceptables, como el aceite de oliva o el aceite de ricino, especialmente en sus versiones polioxietiladas. Estas disoluciones o suspensiones de aceite pueden contener también un diluyente o dispersante alcohólico de cadena larga, como Ph. Helv o un alcohol similar.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser administradas oralmente en cualquier forma galénica aceptable oralmente incluyendo, pero no limitada a, cápsulas, comprimidos, suspensiones o disoluciones acuosas. En el caso de los comprimidos para un uso oral, los vehículos empleados comúnmente incluyen la lactosa y el almidón de maíz. También se añaden normalmente agentes de lubricación, como el estearato de magnesio. Para su administración oral en forma de comprimido, diluyentes útiles incluyen lactosa y almidón seco de maíz. Cuando se requieren suspensiones acuosas para un uso oral, se combina el ingrediente activo con agentes emulsionantes y de suspensión. Si se desea, también se pueden añadir ciertos agentes edulcorantes, aromatizantes o colorantes.

De manera alternativa, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden ser administradas en la forma de supositorios para una administración rectal. Estos pueden ser preparados al mezclar el agente con un excipiente adecuado no irritante que sea sólido a temperatura ambiente pero líquido a temperatura rectal y que se derrita por lo tanto en el lineal para liberar el fármaco. Dichos materiales incluyen manteca de cacao, cera de abeja y polietilenglicoles.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden ser administradas de manera tópica, especialmente cuando el objetivo del tratamiento incluye zonas u órganos fácilmente accesibles mediante aplicación tópica, incluyendo enfermedades oculares, cutáneas o del tracto intestinal inferior. Las formulaciones tópicas adecuadas se preparan fácilmente para cada una de estas zonas u órganos.

La aplicación tópica para el tracto intestinal inferior puede ser efectuada en una formulación de suppositorio rectal (véase más arriba) o en una formulación adecuada para enemas. También se pueden utilizar parches tópicos transdérmicos.

Para aplicaciones tópicas, las composiciones farmacéuticas se pueden formular en un ungüento adecuado que contiene el componente activo suspendido o disuelto en uno o más vehículos. Los vehículos para una administración tópica de los compuestos de la presente invención incluyen, pero no están limitados a, aceite mineral, petrolato líquido, petrolato blanco, propilenglicol, polioxietileno, compuesto de polioxipropileno, cera emulsionante y agua. De manera alternativa, las composiciones farmacéuticas pueden ser formuladas en una loción o crema adecuada que contiene los componentes activos suspendidos o disueltos en uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables. Los vehículos adecuados incluyen, pero no están limitados a, aceite mineral, monoestearato de sorbitano, polisorbato 60, cera de ésteres de cetilo, alcohol de cetario, 2-octildodecanol, alcohol de bencilo y agua.

Para un uso oftalmológico, las composiciones farmacéuticas pueden formularse como suspensiones micronizadas en suero salino estéril isotónico con pH ajustado, o, preferiblemente, como disoluciones en suero salino estéril isotónico con pH ajustado, bien con o sin un conservante como cloruro de benzalconio. De manera alternativa, para usos oftalmológicos, las composiciones farmacéuticas pueden formularse en un ungüento como vaselina.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden ser administradas mediante aerosol nasal o inhalación. Dichas composiciones están preparadas conforme a las técnicas bien conocidas en la técnica de la formulación farmacéutica y pueden estar preparadas en suero salino, empleando alcohol de bencilo u otros conservantes adecuados, promotores de la absorción para mejorar la biodisponibilidad, fluorocarbonos, y/u otros agentes convencionales de solubilización o de dispersión.

La cantidad tanto de un compuesto descrito como del factor neurotrófico opcional que puede ser combinada con los materiales de los vehículos para producir una única forma galénica variará dependiendo del huésped tratado y del modo particular de administración. Preferiblemente, las composiciones deberían estar formuladas de forma que se pueda administrar una dosis de entre 0,01 - 100 mg/kg de peso corporal/día del compuesto descrito. Si está presente un factor neurotrófico en la composición, entonces se puede administrar una dosis de entre 0,01 µg/kg - 100 mg/kg de peso corporal/día del factor neurotrófico a un paciente que recibe estas composiciones.

También se debería comprender que una dosis específica y un régimen de tratamiento para cualquier paciente en particular dependerá de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado, la edad, el peso corporal, el estado general de la salud, el género, la dieta, el tiempo de administración, el ritmo de excreción, la combinación de fármacos, y el juicio del médico tratante y de la severidad de la enfermedad particular que se esté tratando. La cantidad de ingredientes activos también dependerá del compuesto descrito en particular y del factor neurotrófico en la composición.

Conforme a otra realización, la presente invención proporciona procedimientos para promover la reparación o la prevención de daño neuronal en una célula nerviosa *ex vivo*. Dichos procedimientos comprenden el paso de tratar células nerviosas, células gliales, células cromafinas o células madre con cualquiera de los compuestos descritos anteriormente. Preferiblemente, este procedimiento promueve la reparación o previene el daño neuronal y el compuesto está formulado en una composición que comprende adicionalmente un vehículo farmacéuticamente aceptable. La

ES 2 324 293 T3

cantidad del compuesto utilizada en estos procedimientos es de entre aproximadamente 0,01 y 100 mg/kg de peso corporal/día.

Conforme a una realización alternativa, el procedimiento de promover la reparación o la prevención de daños neuronales comprende el paso adicional de tratar células nerviosas con un factor neurotrófico, como los contenidos en las composiciones farmacéuticas de la presente invención. Esta realización incluye administrar el compuesto y el agente neurotrófico en una forma de una única dosis o en formas de dosis múltiples separadas. Si se utilizan formas de dosis separadas, se pueden administrar al mismo tiempo, consecutiva o en menos de aproximadamente 5 horas entre sí.

Conforme a otra realización, los procedimientos de la presente invención se utilizan para estimular el crecimiento axonal en células nerviosas. Por lo tanto, los compuestos son adecuados para tratar o prevenir daño neuronal causado por una amplia variedad de enfermedades o traumas físicos. Estos incluyen, pero no están limitados a, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, ALS, enfermedad de Huntington, síndrome de Tourette, esclerosis múltiple, apoplejía e isquemia asociada con una apoplejía, paropatía neural, otras enfermedades degenerativas neurales, enfermedades de las neuronas motoras, neuropatías periféricas incluyendo las quimioneuropatías, la lesión ciática, lesiones de la médula espinal o del cerebro, daño al nervio facial, daño de los nervios asociado con cirugía o quimioterapia, retinopatía, degeneración macular, depresión o esquizofrenia.

Los procedimientos de la presente invención utilizados para estimular el crecimiento axonal en células nerviosas también son útiles para aumentar la supervivencia y diferenciación de injerto de nervio, aumentar la supervivencia y diferenciación de un trasplante de célula madre, y para aumentar la supervivencia y diferenciación de un trasplante de célula glial.

En una realización particularmente preferida de la invención, los compuestos se utilizan en la preparación de un medicamento para tratar un paciente que padece de neuralgia del trigémino, neuralgia del glosofaríngeo, parálisis de Bell, miastenia grave, distrofia muscular, lesión muscular, atrofia progresiva muscular, atrofia bulbar progresiva muscular heredada, síndromes de discos intervertebrales herniados, rotos o prolapsados, espondilosis cervical, trastornos del plexo, síndromes destructivos de la salida torácica, neuropatías periféricas, como las causadas por plomo, dapsona, garrapatas o porfiria, otros trastornos de mielina periférica, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Gullain-Barre, enfermedad de Parkinson y otros trastornos Parkisonianos, ALS, síndrome de Tourette, esclerosis múltiple, otros trastornos de mielina central, apoplejía e isquemia asociada con una apoplejía, paropatía neural, otras enfermedades degenerativas neurales, enfermedades de las neuronas motoras, lesión ciática, neuropatía asociada con la diabetes, lesiones de la médula espinal, lesión del nervio facial y otros traumas, neuropatías inducidas por la quimioterapia -y otras medicaciones, enfermedad de Huntington, y enfermedades de fibrilización proteínica, como la enfermedad difusa por cuerpos de Lewy, la variante de la enfermedad de Alzheimer con cuerpos de Lewy, la demencia familiar británica 1, y la demencia frontotemporal.

Más preferiblemente, las composiciones de la presente invención se utilizan para la preparación de un medicamento para tratar la enfermedad de Parkinson, la esclerosis lateral amiotrófica, la enfermedad de Alzheimer, la apoplejía, las neuralgias, las atrofias musculares, y el síndrome de Gullain-Barre.

Los anteriores procedimientos utilizan compuestos de la fórmula IA.

Más preferiblemente, los anteriores procedimientos utilizan los compuestos 9 y 17.

Los medicamentos preparados utilizando los compuestos conforme a la invención se administran en la forma de una preparación farmacéutica que contiene no solo el ingrediente activo sino también vehículos, sustancias auxiliares y/o aditivos adecuados para una administración entérica o parenteral. La administración puede ser oral o sublingual como un sólido en la forma de cápsulas o comprimidos, como un líquido en la forma de disoluciones, suspensiones, elixires, aerosoles o emulsiones, o rectal en la forma de supositorios, o en la forma de disoluciones para ser inyectadas que pueden ser administradas de manera subcutánea, intramuscular o intravenosa, o que pueden ser administradas de manera tópica o intratecal. Las sustancias auxiliares para la formulación medicinal deseada incluyen los vehículos inertes orgánicos e inorgánicos conocidos por los expertos en la técnica, como agua, gelatina, goma arábiga, lactosa, almidones, estearato de magnesio, talco, aceites vegetales, polialquilenglicos, etc. Las formulaciones medicinales también pueden contener conservantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes o sales para cambiar la presión osmótica o como tampones.

Las disoluciones o suspensiones para ser inyectadas son adecuadas para una administración parenteral, y, en especial, las disoluciones acuosas de los compuestos activos en aceite de ricino polihidroxietoxilado.

Se pueden utilizar como sistemas de vehículos sustancias auxiliares activas en la superficie como las sales de ácido gálico, fosfolípidos de origen animal o vegetal, o mezclas de los mismos, y liposomas o sus componentes.

Se puede determinar el efecto neurotrófico de los compuestos de la fórmula (I) de la presente invención y de sus sales fisiológicamente aceptables utilizando varios ensayos de cultivos celulares conocidos en la técnica o el ensayo descrito en el Ejemplo 66. Por ejemplo, los compuestos de la presente invención pueden ser probados en una excrecencia de neuritas utilizando células de feocromocitoma PC12 como describen W. E. Lyons *et al.*, Proc.

ES 2 324 293 T3

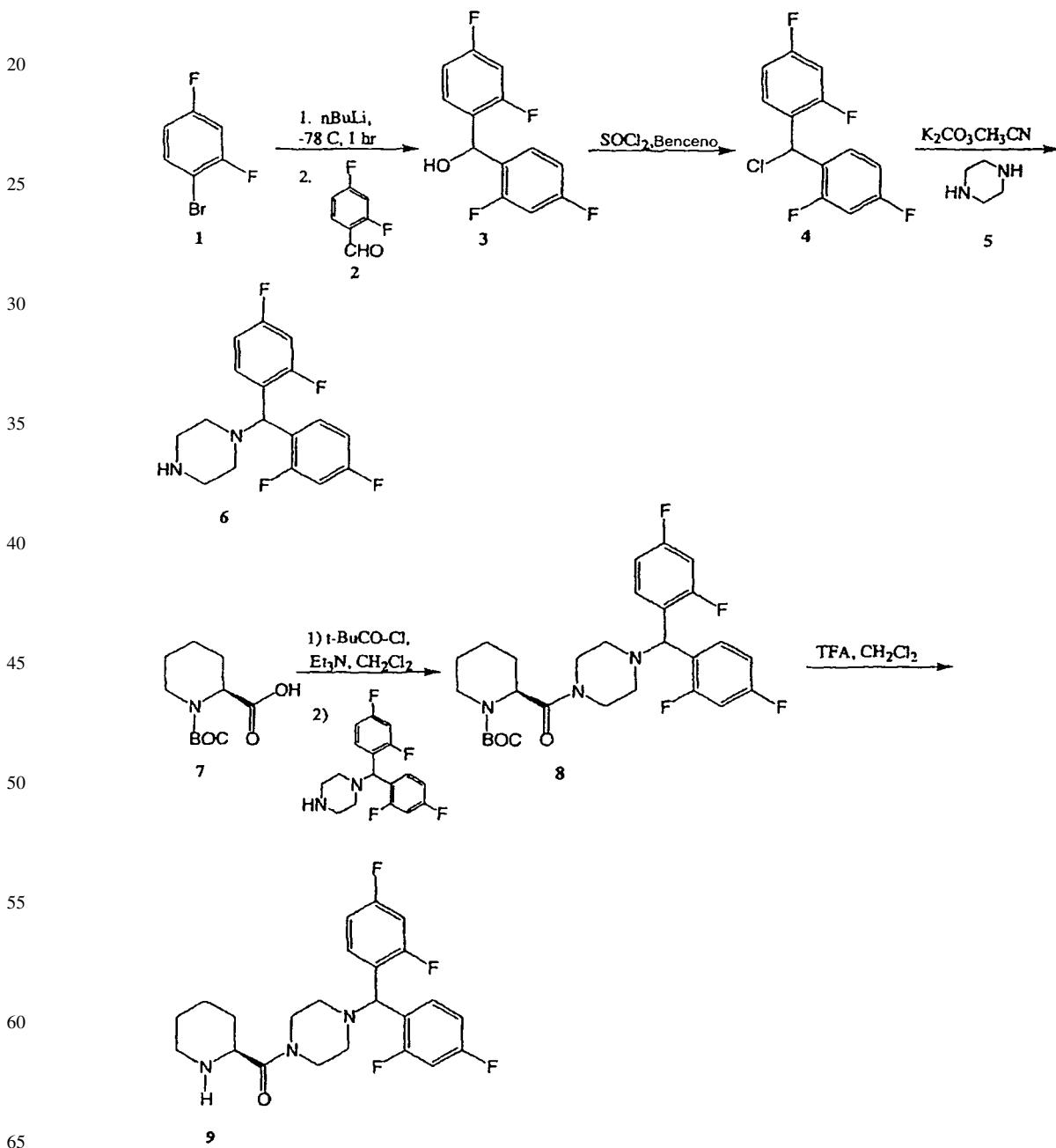
Natl. Acad. Sci. USA, 91, pp. 3191-3195 (1994). Se puede llevar a cabo un ensayo similar en células SH-SY5Y de neuroblastoma humano. De manera alternativa, se puede utilizar el ensayo de ganglios de la raíz dorsal en pollitos descrito en la patente estadounidense 5.614.547 o en G. S. Hamilton *et al.*, Bioorg. Med. Chem. Lett., (1997) y en las referencias citadas en la misma.

5

Los compuestos de la presente invención también pueden ser investigados para una actividad de crecimiento de los nervios *in vivo* utilizando un modelo de ratón de la enfermedad de Parkinson [J. P. Steiner *et al.*, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94, pp. 2019-23 (1997)].

10 Para que se comprenda más completamente la presente invención, se exponen los siguientes ejemplos. Estos ejemplos son para fines ilustrativos únicamente y no se deben interpretar como limitantes del alcance de la invención de ninguna forma.

15 Ejemplo 1



ES 2 324 293 T3

A) Bis-(2,4-difluoro-fenil)-metanol 3

Se disolvió 1-bromo-2,4-difluoro-1-benceno (1, 201,18 g, 1,04 mol) en éter anhidro (1L). Se añadió butilitio (1,6 M) (665 mL, 1,06 mol) a -78°C durante 60 minutos. Después de 2 horas a -78°C, se añadió 2,4-difluorobenzaldehído

- 5 (2, 146,65 g, 1,03 mol) gota a gota para mantener la temperatura por debajo de -65°C. Se permitió que la mezcla de la reacción se calentase hasta temperatura ambiente durante la noche. Después de apagar la reacción con 1N HCl (600 mL), se separó la fase orgánica y se extrajo la fase acuosa con éter (2 × 1L). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera y se secaron sobre sulfato sódico, luego se evaporaron hasta quedar secas. Se utilizó el producto crudo 3 (producción cuantitativa) sin una purificación adicional.

10

B) Cloruro de Bis-(2,4-difluorobenzhidrilo) 4

- 15 Se añadió cloruro de tionilo (88,2 mL, 1,21 mol) a una disolución del crudo 3 (273,37 g, 1,07 mol), obtenido como se ha descrito anteriormente, en benceno anhidro (750 mL). Se reflujo y se monitorizó la reacción mediante TLC; se añadió cloruro de tionilo (2 × 45 mL) adicional después de 30 min. Después de 1 hora bajo reflujo, se enfrió la reacción hasta temperatura ambiente y luego se evaporó bajo una presión reducida. Se azeotropó el residuo con dos cargas de heptanos y tolueno para eliminar toda traza de cloruro de tionilo. Se obtuvo el crudo 4 inmediatamente en el siguiente paso.

20

C) 1-[Bis-(2,4-difluoro-fenil)-metil]-piperacina 6

- 25 Se disolvió el crudo 4 (243,9 g, 0,89 mol) en acetonitrilo (1550 mL) y se añadió piperacina 5 (765 g, 8,88 mol). Se añadió carbonato potásico (147,29 g, 1,7 mol) bajo agitación, y se reflujo la reacción durante la noche. Después del enfriamiento, se filtró la mezcla, y se evaporó el filtrado bajo presión reducida. Se disolvió el crudo en acetato de etilo (2000 mL) y luego se lavó sucesivamente con agua (5 × 500 mL) y con salmuera (500 mL) y se secó finalmente sobre sulfato sódico. El producto 6 deseado (237,66 g, 88%) se utilizó para el siguiente paso sin una purificación adicional.

30

D) 2-{4-[Bis-(2,4-difluoro-fenil)metil]piperacina-1-carbonil}-pirperidina-1-éster tert-butilo del ácido carboxílico 8

- 35 Se añadió cloruro de pivaloilo (42,15 mL, 0,34 mol) gota a gota a temperatura ambiente a una disolución de (S)-(-)-1-(tert-butoxicarbonil)-2-piperidina-ácido carboxílico (7, 78,48 g, 0,34 mol) y de trietilamina (95,4 mL, 0,68 mol) en cloruro de metileno (2280 mL). Después de que se completase la adición, se agitó la disolución durante 2 h. a temperatura ambiente y luego se añadió una disolución de 6 (111,0 g, 0,34 mol) en cloruro de metileno (580 mL) durante 1 h. Se agitó la mezcla de la reacción durante la noche a temperatura ambiente, y luego se lavó con NaOH 10% (4 × 1L) y con salmuera (2 × 1L). Se secó la capa orgánica sobre sulfato sódico y luego se evaporó bajo presión reducida. Se secó la resultante espuma seca amarilla a vacío elevado a temperatura ambiente para proporcionar el producto puro 8 (184,49 g) con un rendimiento del 92%.

40

E) {4-[Bis-(2,4-difluoro-fenil)-metil]-piperacina-1-il}-piperidin-2-il-metanona 9

- 45 Se añadió ácido trifluoroacético (74 mL) gota a gota a temperatura ambiente a una disolución de éster tert-butilo del ácido 2-{4-[Bis-(2,4-difluorofenil)-metil]piperacina-1-carbonil}-piperidina-1-carboxílico (8) (13,14 g, 37,16 mmol) en cloruro de metileno (205 mL). Se agitó la mezcla de la reacción durante 3 h. Después de que se completase la reacción, se eliminaron las sustancias volátiles y se concentró la muestra *in vacuo*. Se disolvió el crudo en cloruro de metileno (100 mL) y se lavó con 1M NaOH (2 × 100 mL). Se secó la capa orgánica sobre sulfato sódico y luego se evaporó bajo presión reducida para producir 14,56 g del compuesto 8 (rendimiento del 90%) como un aceite amarillo claro. Se purificó el producto crudo mediante cromatografía sobre 340 g de gel de sílice (eluyente: CH₂C₁₂/MeOH/NH₄OH, 95/5/0,1) para producir el compuesto deseado 9 como un sólido blanco (8,67 g, rendimiento del 54%, tf = 84-85°C).

50

- 55 Espec. de masas: M+1 m/z = 436, M+2 m/z 437 (API-ES, modo positivo). Rotación óptica: [α]_D = -5,0° (c = 0,475 g/100 mL de CHCl₃). HPLC (columna: 50 mm C18) tr 3,973 min. (pureza 97,93%).

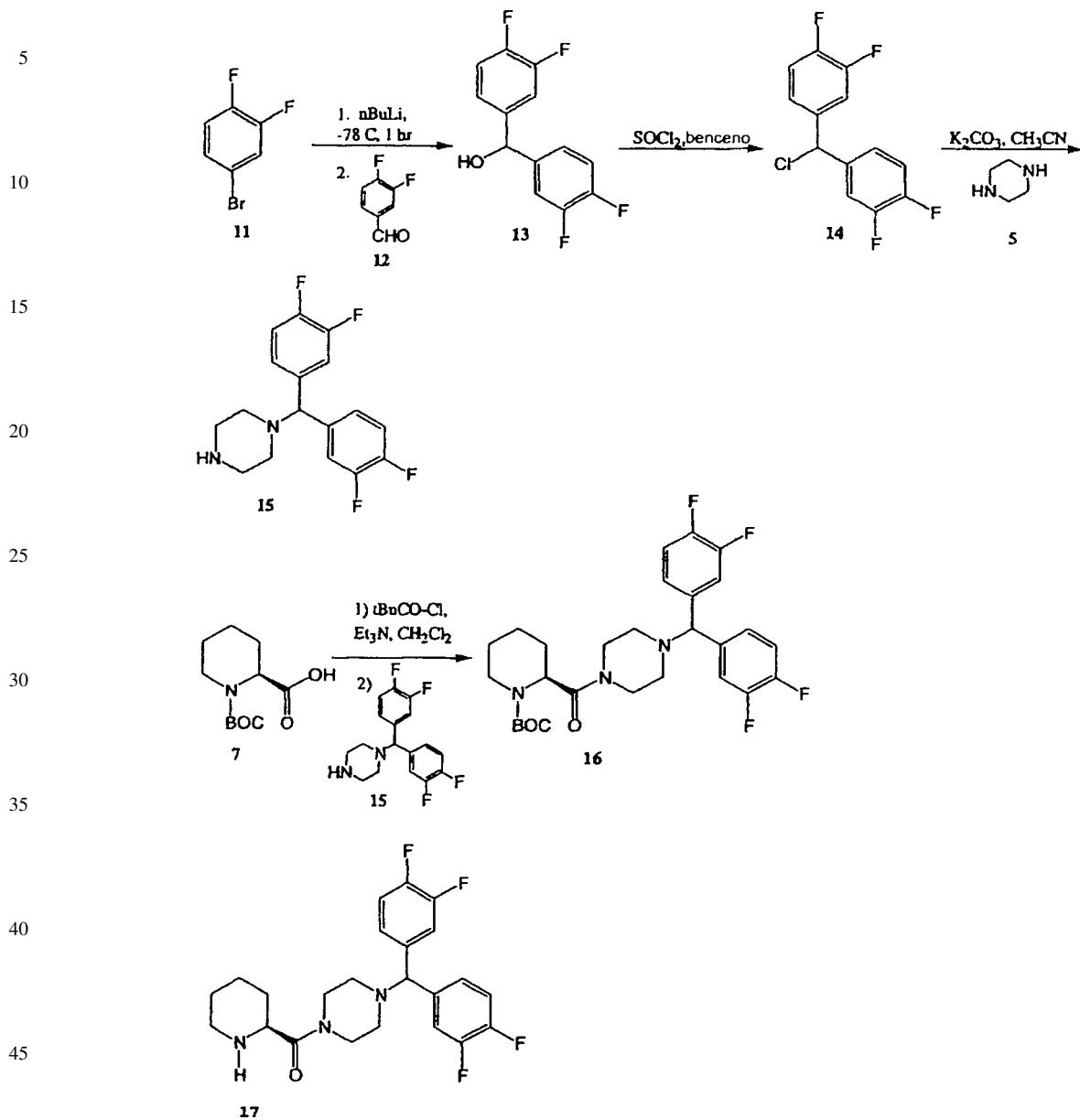
Dihidrocloruro de {4-[Bis-(2,4-difluoro-fenil)-metil]-piperacina-1-il}-piperidin-2-il-metanona 9

60

- Se disolvió el compuesto 9 (5,59 g, 12,8 mmol) en 20 mL de cloruro de metileno y se diluyó con 200 mL de éter de dietilo. Se añadió gota a gota una disolución anhidra de 1,0 M HCl en éter de dietilo (70 mL, 70 mmol). Se formó un precipitado y después de la agitación durante 1,5 horas, se recogió el precipitado y se secó al vacío a 50°C para producir sal de dihidrocloruro, 6,06 g. HPLC (columna C18 (150 mm)): tr 4,784 min. (pureza 100%).

65

Ejemplo 2



50 A) Bis-(3,4-difluoro-fenil)-metanol 13

Se disolvió 3,4-difluoro-1-bromobenceno 11 (200 g, 1,04 mol) en dietiloéter seco (1000 ml). Se añadió una disolución de n-butilitio (1,6 M en hexano) (660 ml, 1,06 mol, 1,2 eq) a -78°C durante 1 h. bajo nitrógeno. Se agitó la mezcla de la reacción a -78°C durante otras 2 h. y luego se añadió 3,4-difluorobenzaldehído 12 (146 g, 1,0 eq.) gota a gota, manteniéndose la temperatura por debajo de los -70°C. Se agitó la mezcla de la reacción a -70°C durante 3 h. Se calentó lentamente la reacción hasta temperatura ambiente durante la noche. Se añadió 1N HCl (500 ml) para apagar la reacción. Se separó la fase orgánica y se extrajo la fase acuosa con éter de dietilo (2 × 600 ml). Se lavó la fase combinada orgánica con salmuera (2 × 500 ml) sobre sulfato sódico. Después de la eliminación del disolvente, se obtuvieron 258 g (98%) de crudo 13 como un aceite marrón. Este producto crudo se utilizó para la siguiente reacción sin una purificación adicional.

B) Cloruro de Bis-(3,4-difluorobenzhidril) 14

65 Se añadió cloruro de tionilo (136,8 g, 1,15 mol, 1,15 eq.) gota a gota a una disolución de 13 (258 g, 1 mol) en benceno seco (750 ml). Se refluyó y monitorizó la reacción mediante TLC. Después de 2 h., se añadió cloruro de tionilo (68 g, 0,57 mol) adicional. Después de otra 1 h a refljo, se enfrió la reacción y luego se evaporó bajo presión reducida. Se utilizaron dos cargas de heptano y tolueno para eliminar azeotrópicamente las trazas restantes de cloruro de tionilo, proporcionando 268 g (97%) de crudo 14 como un aceite marrón.

ES 2 324 293 T3

C) 1-(Bis-(3,4-difluorofenil)-metil)-piperacina 15

Se disolvió el crudo 14 (248 g, 0,9 mol) en acetonitrilo (1400 ml) y se añadió piperacina 5 (752,6 g, 8,7 mol, 9,7 eq.). Se añadió carbonato potásico (145 g, 1,15 mol, 1,2 eq.) con agitación, y se reflujoó la reacción durante la noche.

- 5 Despues del enfriamiento, se filtró la mezcla y se evaporó el filtrado bajo presión. Se disolvió el residuo en cloruro de metileno (3000 ml), se lavó con bicarbonato sódico saturado (2×400 ml) y con salmuera (500 ml) y se secó sobre sulfato sódico. Despues de la eliminación del disolvente, se obtuvieron 302 g de 15 como un aceite marrón.

10 D) éster tert-butilo del ácido 2-(4-(Bis-(3,4-difluoro-fenil)-metil)-piperacina-1-carbonil)-piperidina-1-carboxílico 16

Se añadió cloruro de pivaloilo (53 g, 0,44 mol, 1 eq.) gota a gota durante 1 h a temperatura ambiente a una disolución de (S)-(+)1-(tert-butoxicarbonil)-2-áido piperidincarboxílico 7 (100 g, 0,44 mol) y de trietilamina (89 g, 0,88 mol, 2,0 eq) en cloruro de metileno (1500 ml). Despues de agitar otras 2 h a temperatura ambiente, se añadió

- 15 durante 2 h una disolución de 15 (143 g, 0,44 mol) en cloruro de metileno (500 ml). Se agitó la mezcla de la reacción durante la noche a temperatura ambiente, y luego se lavó con NaOH (1N, 800 ml) y con salmuera (2×500 ml) y se secó sobre sulfato sódico. Despues de la eliminación del disolvente, se purificó el producto crudo mediante cromatografía en gel de sílice (heptano/acetato de etilo/trietilamina = 50/50/1) para producir 188 g (80%) de 16 puro como un aceite incoloro.

20

E) (4-(Bis-(3,4-difluoro-fenil)-metil)piperacín-1-il)-piperidin-2-il-metanona 17

- 25 Se añadió ácido trifluoroacético (700 ml, 9,1 mol) a una disolución de 16 (187,8 g, 0,35 mol) en cloruro de metileno (2000 ml) durante 2 horas a temperatura ambiente. Despues de agitar 1 h a temperatura ambiente, la TLC mostró una reacción completa y se eliminó el disolvente al vacío. Se redissolvió el residuo en 6L de cloruro de metileno, se lavó con 1N NaOH (2 \times 600 ml) y con salmuera (2 \times 600 ml) y se secó sobre sulfato sódico. Despues de la eliminación del disolvente se purificó el producto crudo en gel de sílice (cloruro de metileno/metanol/hidróxido de amonio = 12/1/0,5) para producir 100 g de 17 puro como un aceite incoloro.

30

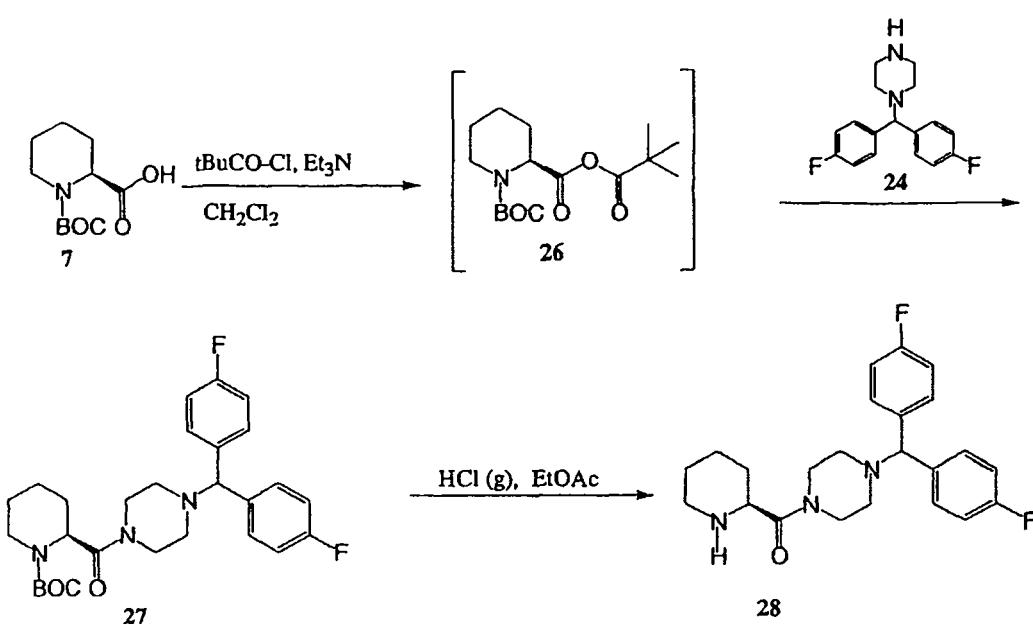
Espec. de masas: M+1 m/z = 436 (API-ES, modo positivo). Rotación óptica: $[\alpha]_D = -2,7$ (c = 0,548 g/100 ml CHCl₃). HPLC (columna C18 (50 mm)) tr 4,007 min. (99,7%).

35 F) Dihidrocloruro de (4-Bis-(3,4-difluoro-fenil)-metil)piperacín-1-il)-piperidin-2-il-metanona 17

- 40 Se disolvió el compuesto 17 (5,2 g, 11,9 mmol) en 20 ml de cloruro de metileno y se diluyó con 200 ml de éter de dietilo. Se añadió gota a gota una disolución anhidra de 1,0 M HCl en éter de dietilo (70 ml, 70 mmol). Se formó un precipitado y, despues de ser agitado durante 1,5 horas, se recogió el precipitado y se secó al vacío a 50°C para dar la sal dihidrocloruro, 6,03 g. HPLC (columna C18 (150 mm)): tr 4,971 min. (pureza 100%).

Ejemplo comparativo 3

45



ES 2 324 293 T3

A) *tert-butilo del ácido 2-[4-(Bis-(4-fluoro-fenil)-metil]-piperacina-1-carbonil}-piperidina-1-éster carboxílico 27*

Se añadió cloruro de pivaloilo (4,3 ml, 34,9 mmol) gota a gota durante 15 min. a temperatura ambiente a una disolución de (S)-(+)1-(tert-butoxicarbonil)-2-ácido piperidincarboxílico (8 g, 34,89 mmol) y de trietilamina (12,5 ml, 90 mmol) en cloruro de metileno (150 ml). Después de agitar durante 1,5 h, se añadió una disolución de 1-bis-(4,4'-difluoro-benzhidril)piperacina (9,51 g, 33 mmol) en cloruro de metileno (100 ml) durante 1,5 h y se agitó la reacción a temperatura ambiente durante la noche. Se lavó la reacción con 1N de hidróxido de sodio (2×100 ml) y con salmuera y se secó la capa orgánica sobre sulfato sódico anhídrico. Después de la eliminación del disolvente, se purificó el producto crudo mediante cromatografía (gel de sílice) eluyendo con cloruro de metileno/acetato de etilo (7/3) para proporcionar 16,5 g (producción cuantitativa) del producto deseado.

B) *Dihidrocloruro de (4-(Bis-4-fluoro-fenil)-metil)piperacina-1-il)-piperidin-2-il-metanona 28*

Se disolvió éster *tert*-butilo del ácido 2-[4-[Bis-(4-fluoro-fenil)-metil]-piperacina-1-carbonil}-piperidina-1-carboxílico (16,48 g, 33 mmol) en acetato de etilo (250 ml) y se enfrió a 5°C. Se burbujeó cloruro de hidrógeno anhídrico en la disolución y después de 15 minutos se formó un precipitado. Se filtró el precipitado, se lavó con éter de dietilo y se secó al vacío a 50°C para proporcionar 15,7 g del producto deseado.

Espec. de masas: M+1 m/z = 400,4 (ES, modo positivo)

HPLC (columna C18 (150 mm)) tr 3,847 min. (100%).

25 Ejemplo 4

Ensayo de neuroprotección

Se disecciona la región mesencefálica ventral de embriones de rata Sprague-Dawley en el día 15 del embrión (Harlan), disociada en suspensión de una única célula mediante una combinación de tripsinización y trituración (Costantini *et al.*, *Neurobiol Dis.*, pp. 97-106 (1998)). Se colocaron células VM disociadas en placas de 96 pocillos revestidos con poli-L-ornitina a una densidad de 85.000 células/pocillo en 100 μ L de DMEM suplementado con 18% de suero de caballo inactivado por calor, 0,24% de glucosa, 2 mM de glutamina y 50 μ g/ml de penicilina/estreptomicina y se incubó en una incubadora de 5% CO₂. Después de un día en cultivo (DIV1), se sustituyó el medio con 100 μ L de un medio definido (cóctel de DMEM suplementado con 1 × N2 (Gibco-BRL), 0,12% de glucosa, 2 mM de glutamina, y 50 unidades/ml de penicilina/estreptomicina) que contenía DMSO o diversas concentraciones de los compuestos de la presente invención. En el DIV5, se indujo la lesión neuroexcitotóxica mediante la adición de diversas concentraciones del agonista del receptor de glutamato NMDA (100-400 μ M). Se incubaron cultivos con la neurotoxina durante 20 horas y se evalúan los efectos de los compuestos de neurofilina utilizando absorción de afinidad elevada a ³H-dopamina conforme a un procedimiento publicado por Park y Mytilineou [*Brain Res.*, 599, pp. 83-97 (1992)].

La siguiente Tabla muestra los resultados de este ensayo para diversos compuestos de la presente invención.

45 TABLA 1

Actividad del compuesto

50 VRT nº	DAT (VM) CI50 (nM)	DRG excrecencia de neuritas
Comparativo 28	12	+
55 9	145	s.d.
17	6	s.d.

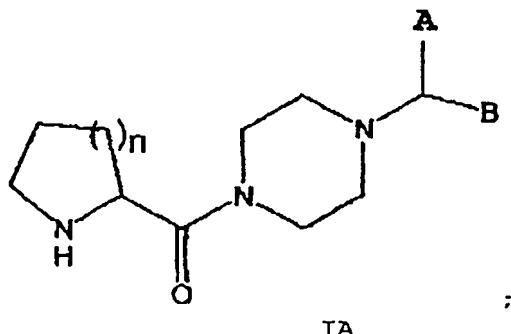
60 Se espera que todos los compuestos de la presente invención muestren actividad detectable en este ensayo.

Aunque hemos descrito un número de realizaciones de la presente invención, es evidente que nuestros ejemplos básicos se pueden alterar para proporcionar otras realizaciones que utilizan los compuestos y los procedimientos de la presente invención. Por lo tanto, se apreciará que el alcance de la presente invención estará definido por las reivindicaciones adjuntas, en vez de por las realizaciones específicas que se han representado a título de ejemplo.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que tiene la fórmula IA:

5

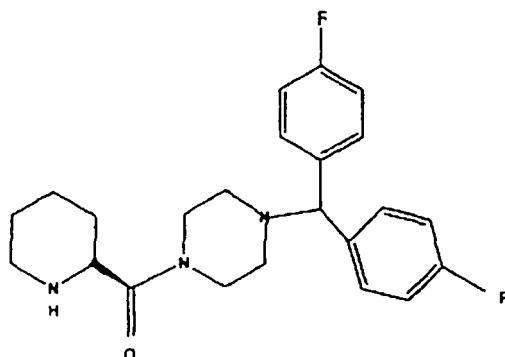


20 en la que:

n es 1 o 2;

A y B están seleccionados independientemente cada uno de entre fenilo, clorofenilo, diclorofenilo, fluorofenilo o difluorofenilo a condición de que si n es 2 A, B no sean fenilo simultáneamente y que el compuesto que tiene la fórmula IA no sea

30



35

40

2. El compuesto conforme a la reivindicación 1, en el que dicho compuesto está seleccionado de entre uno cualquiera de los compuestos 9 o 17.

45

3. Una composición que comprende un compuesto conforme a una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 en una cantidad suficiente como para estimular el crecimiento de los nervios o prevenir la neurodegeneración; y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

50

4. La composición conforme a la reivindicación 3, que comprende adicionalmente un factor neurotrófico.

55

5. La composición conforme a la reivindicación 4, en la que dicho factor neurotrófico está seleccionado de entre factor de crecimiento de los nervios (NGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) y sus derivados activos truncados como el gIGF-1 y Des(1-3) IGF-I, factor de crecimiento de fibroblastos ácidos y básicos (aFGF y bFGF, respectivamente), factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF), factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), factores neurotróficos ciliares (CNTF), factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF), neurotrofina-3 (NT-3) y neurotrofina 4/5 (NT-4/5).

60

6. La composición conforme a la reivindicación 3, en la que dicha composición está formulada para una administración oral o parenteral a un paciente.

7. La composición conforme a la reivindicación 4, en la que dicha composición está formulada para una administración oral o parenteral a un paciente.

65

8. El uso de un compuesto conforme a la reivindicación 1 o 2 en la fabricación de un medicamento para promover la reparación neuronal o prevenir daño neuronal en un paciente, que comprende el paso de administrar a un paciente una cantidad del compuesto suficiente como para promover la reparación neuronal o prevenir el daño neuronal.

ES 2 324 293 T3

9. El uso conforme a la reivindicación 8, que comprende el paso adicional de administrar a dicho paciente un factor neurotrófico bien como parte de una forma de dosificación múltiple junto con dicho compuesto o bien como una forma de dosificación separada.
- 5 10. El uso conforme a la reivindicación 9, en el que dicho factor neurotrófico está seleccionado de entre factor de crecimiento de los nervios (NGF), factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-1) y sus derivados activos truncados como el gIGF-1 y Des(1-3) IGF-I, factor de crecimiento de fibroblasto ácido y básico (aFGF y bFGF, respectivamente), factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF), factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF), factores neurotróficos ciliares (CNTF), factor neurotrófico derivado de la línea celular glial (GDNF), neurotrofina-3 (NT-3) y neurotrofina 4/5 (NT-4/5).
- 15 11. El uso conforme a la reivindicación 8, en el que dicho procedimiento se utiliza para tratar a un paciente que padece una enfermedad seleccionada de entre neuralgia del trigémino, neuralgia del glosofaríngeo, parálisis de Bell, miastenia grave, distrofia muscular, lesión muscular, atrofia progresiva muscular, atrofia bulbar progresiva muscular heredada, síndromes de discos intervertebrales herniados, rotos o prolapsados, espondilosis cervical, trastornos del plexo, síndromes destructivos de la salida torácica, neuropatías periféricas, como las causadas por plomo, dapsona, garrapatas o porfiria, otros trastornos de la mielina periférica, la enfermedad de Alzheimer, el síndrome de Gullain-Barre, la enfermedad de Parkinson y otros trastornos parkinsonianos, ALS, síndrome de Tourette, esclerosis múltiple, otros trastornos de la mielina central, apoplejía e isquemia asociada con una apoplejía, paropatía neural, otras enfermedades degenerativas neurales, enfermedades de las neuronas motoras, lesión ciática, neuropatía asociada con la diabetes, lesiones de la médula espinal, lesión del nervio facial y otros traumas, neuropatías inducidas por la quimioterapia -y otras medicaciones, enfermedad de Huntington, y enfermedades de fibrilización proteínica, como la enfermedad difusa por cuerpos de Lewy, la variante de la enfermedad de Alzheimer con cuerpos de Lewy, la demencia familiar británica y la demencia frontotemporal.
- 20 25 12. El uso conforme a la reivindicación 9, en la que dicho procedimiento se utiliza para tratar a un paciente que padece una enfermedad seleccionada de entre neuralgia del trigémino, neuralgia del glosofaríngeo, parálisis de Bell, miastenia grave, distrofia muscular, lesión muscular, atrofia progresiva muscular, atrofia bulbar progresiva muscular heredada bulbar, síndromes de discos intervertebrales herniados, rotos o prolapsados, espondilosis cervical, trastornos del plexo, síndromes destructivos de la salida torácica, neuropatías periféricas, como las causadas por plomo, dapsona, garrapatas o porfiria, otros trastornos de mielina periférica, la enfermedad de Alzheimer, el síndrome de Gullain-Barre, la enfermedad de Parkinson y otros trastornos Parkinsonianos, ALS, síndrome de Tourette, esclerosis múltiple, otros trastornos de mielina central, apoplejía e isquemia asociada con una apoplejía, paropatía neural, otras enfermedades degenerativas neurales, enfermedades de las neuronas motoras, lesión ciática, neuropatía asociada con la diabetes, lesiones de la médula espinal, lesión del nervio facial y otros traumas, neuropatías inducidas por la quimioterapia -y otras medicaciones, enfermedad de Huntington, y enfermedades de fibrilización proteínica, como la enfermedad difusa por cuerpos de Lewy, la variante de la enfermedad de Alzheimer con cuerpos de Lewy, la demencia familiar británica y la demencia frontotemporal.
- 30 35 40 13. Un procedimiento para promover la reparación neuronal o para prevenir el daño neuronal en una célula nerviosa, célula glial, célula cromafina o célula madre *ex vivo* que comprende el paso de administrar a dicha célula una cantidad de un compuesto conforme a la reivindicación 1 o 2 suficiente como para promover la reparación neuronal o para prevenir el daño neuronal.

45

50

55

60

65