



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 338 429**

51 Int. Cl.:
C07D 493/04 (2006.01)
A61K 31/35 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **04788824 .3**
96 Fecha de presentación : **20.09.2004**
97 Número de publicación de la solicitud: **1664056**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **07.06.2006**

54 Título: **Poliéteres pentacíclicos condensados.**

30 Prioridad: **19.09.2003 US 504669 P**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
07.05.2010

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
07.05.2010

73 Titular/es:
University of North Carolina at Wilmington
601 S. College Road
Wilmington, North Carolina 28403, US

72 Inventor/es: **Baden, Daniel, G.;**
Abraham, William, M.;
Bourdelaís, Andrea, J. y
Michelliza, Sophie

74 Agente: **Lehmann Novo, María Isabel**

ES 2 338 429 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

Poliéteres pentacíclicos condensados.

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a compuestos de poliéter policíclicos, a composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos, y al uso de los compuestos para la preparación de un medicamento y de composiciones farmacéuticas para tratar enfermedades. Más específicamente, la invención se refiere a un compuesto poliéter policíclico natural, "brevenal", aislado del dinoflagelado marino *K. brevis*, y sus derivados. También se refiere a composiciones farmacéuticas y al uso de los compuestos para la preparación de medicamentos para tratar el envenenamiento con brevetoxina y ciguatoxina y enfermedades que se caracterizan por reducción de la depuración de moco y la disfunción mucociliar.

15 **Antecedentes**

La reducción de la depuración de moco es una característica patológica de enfermedades tales como la fibrosis quística; enfermedad obstructiva crónica de las vías respiratorias (también conocida como enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)) y asma. La alteración de la depuración del moco también puede contribuir al aumento de la incidencia de enfermedades pulmonares y obstrucción de las vías respiratorias. En particular, la fibrosis quística se caracteriza por el funcionamiento anormal de las células epiteliales respiratorias. La fibrosis quística (o "CF") es causada por un gen defectuoso que codifica un transportador de Na^+/Cl^- presente en la superficie de las células epiteliales que revisten las vías respiratorias conductoras del pulmón y otros órganos. Se han identificado cientos de mutaciones en este gen, todas las cuales producen un transporte defectuoso de sodio y cloruro por las células epiteliales. La fibrosis quística (CF) es la enfermedad genética recesiva autosómica más común en los caucásicos que causa muerte prematura en los Estados Unidos. Es causada por mutaciones en el cromosoma 7, que codifica para el regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (CFTR). El CFTR codifica una proteína epitelial de la membrana apical que actúa como canal de cloruro regulado por AMPc y como regulador del canal de sodio epitelial. Los defectos o ausencia del CFTR observados en los pacientes con CF se pueden observar como cambios en la ultraestructura de las cilias, en el transporte de iones sodio y cloruro, y en el transporte de agua a través de las células epiteliales respiratorias. Estos cambios pueden producir espesamiento de la mucosidad y reducción de la depuración mucociliar que lleva a infecciones de las vías respiratorias. Esto sugiere que el CFTR en tejido pulmonar normal puede regular el ENaC regulando por disminución su conductancia de iones sodio a través del epitelio de las vías respiratorias y reduciendo el transporte de agua hacia el interior de la célula, lo que origina una mucosidad menos viscosa y una depuración mucociliar más rápida.

El tratamiento actual para la CF se ha centrado en varias terapias diferentes pero el tratamiento más efectivo hasta la fecha es el uso de compuestos que cambian la viscosidad de la mucosidad y tratar las infecciones pulmonares que surgen cuando las bacterias quedan atrapadas en la mucosidad espesa. Las terapias para aumentar la depuración mucociliar generalmente apuntan a dos estrategias diferentes. La primera es regular la absorción de sodio en las células epiteliales apicales usando bloqueantes de los canales de sodio tales como amilorida y sus derivados. Al reducir la absorción de sodio, se limita el transporte de fluido hacia el interior de las células epiteliales y se normaliza el volumen de líquido superficial.

La segunda estrategia es utilizar compuestos dirigidos a los receptores purinérgicos (es decir, UTP e INS37217), que activan la secreción de cloruro en las células epiteliales respiratorias, lo que a su vez disminuye la absorción de sodio y aumenta el volumen del líquido superficial. También se considera que los receptores purinérgicos regulan la secreción de mucinas y participan en la activación del batido ciliar. Al aumentar la frecuencia de batido ciliar, podría aumentar el transporte de moco, lo que podría eliminar las bacterias y otras partículas de los pulmones más rápidamente.

Estas observaciones indican que la activación de los canales de sodio puede llevar a defectos en la depuración de moco y la broncoconstricción, las cuales se asocian, ambas, con enfermedades de las vías respiratorias, que incluyen la CF.

Si la activación de los canales de sodio dependientes del voltaje contribuye a las enfermedades pulmonares, entonces la modulación efectiva de los canales de sodio dependientes del voltaje puede ser útil para aliviar las patologías de las vías respiratorias asociadas con la disfunción mucociliar, tales como asma, enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, infección pulmonar (por ejemplo, neumonía, *Pseudomonas*), y fibrosis quística. En consecuencia, se necesitan agentes activos que puedan modular el transporte de agua a través de las membranas apicales de las células epiteliales, estos compuestos podrían ser útiles para la regulación de la depuración del moco, así como el tratamiento o prevención de afecciones o enfermedades asociadas con la disfunción mucociliar.

Las mareas rojas de Florida son conocidas por tener efectos adversos sobre la vida marina y los seres humanos. Estas mareas se han vinculado con gran mortalidad de peces, mortalidad de mamíferos marinos e incluso enfermedades humanas. Las enfermedades humanas causadas por las mareas rojas incluyen irritación respiratoria a través del contacto o inhalación y envenenamiento por mariscos neurotóxicos (NSP) a partir del consumo de mariscos expuestos o contaminados (Purkerson-Parker, *et al.*, Chemistry and Biology, 2000,7: 385-393; Baden, D.G., *et al.*, Toxicon,

1982; 20(5):929-932; Baden, D.G., *et al.*, *Int. Rev. Cytol.*, 1983; 82:99-150). Los síntomas del NSP incluyen náuseas, vómitos, diarrea, y broncoconstricción (Purkerson-Parker, *et al.* 2000). El agente causante de los organismos de la marea roja ha sido aislado e identificado como brevetoxina.

5 El envenenamiento por pescado con ciguatera (CFP) es una forma de intoxicación humana por el consumo peces marinos subtropicales y tropicales que han acumulado toxinas naturales a través de su dieta. Se sabe que las toxinas se originan en varias especies dinoflageladas (algas) que son comunes en las regiones endémicas de ciguatera en las latitudes inferiores. Los peces marinos más comúnmente implicados en el envenenamiento por pescado con ciguatera incluyen meros, barracudas, pargos, lucios, caballa y pez ballesta. Muchas otras especies de peces de agua cálida
10 pueden contener toxinas de ciguatera. La aparición de peces tóxicos es esporádica, y no todos los peces de una especie determinada o de una localidad determinada serán tóxicos.

Los signos iniciales de envenenamiento aparecen dentro de las seis horas posteriores al consumo de pescado tóxico y normalmente incluyen una combinación de trastornos gastrointestinales (por ejemplo, náuseas, vómitos y diarrea),
15 neurológicos (por ejemplo, parestesia intensificada, artralgia, mialgia, cefalea, inversión sensorial de temperatura y sensibilidad aguda a temperaturas extremas, vértigo y debilidad muscular) y cardiovasculares (por ejemplo, arritmia, bradicardia o taquicardia y reducción de la presión arterial). Los síntomas definidos dentro de estas categorías generales varían con el origen geográfico de los peces tóxicos. El diagnóstico de CFP continúa siendo poco satisfactorio y se basa normalmente en antecedentes dietarios recientes.

20 El envenenamiento por ciguatera usualmente es autolimitado, y los signos de la intoxicación a menudo remiten en varios días desde el comienzo. Sin embargo, en casos severos se sabe que los síntomas neurológicos persisten desde semanas a meses. En pocos casos aislados los síntomas neurológicos han persistido durante varios años, y en otros casos los pacientes recuperados han experimentado recurrencia de los síntomas neurológicos meses a años después
25 de la recuperación. Dichas recaídas están con mayor frecuencia asociadas con cambios en los hábitos dietarios o con el consumo de alcohol. Existe una baja incidencia de muerte resultante de insuficiencia respiratoria y cardiovascular.

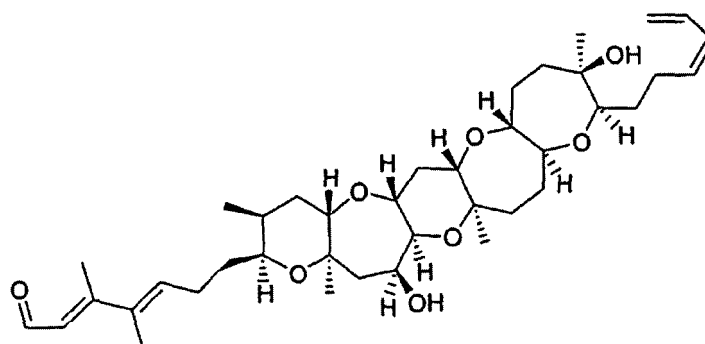
Los tratamientos actuales para el envenenamiento por pescado con ciguatera distan de ser satisfactorios. Normalmente se usa la administración de manitol pero usualmente es sólo eficaz si se usa en las primeras 48 - 72 horas de
30 exposición. El tratamiento del CFP crónico es usualmente sintomático.

Se considera que CFP y NSP son inducidos por medio de la unión a un sitio receptor común en los canales de sodio dependientes del voltaje conocido como sitio 5. La unión de brevetoxinas o ciguatoxina en el sitio 5 produce el
35 influjo masivo de iones sodio a potenciales de reposo normales.

En consecuencia, se necesitan agentes activos que pueden actuar como antagonistas para la unión de las brevetoxinas o la ciguatoxina a los canales de sodio dependientes del voltaje, que sean de utilidad para aliviar los efectos
40 neurológicos y gastrointestinales en las personas afectadas por NSP y CFP.

Síntesis de la invención

Hemos descubierto un compuesto poliéter pentacíclico condensado que tiene actividad como antagonista de brevetoxinas. Este compuesto, Brevenal, se aísla de fuentes nativas purificadas, tales como *K. brevis* y otros organismos de la
45 marea roja. En consecuencia, en un aspecto, la invención proporciona el compuesto Brevenal que puede representarse por la siguiente fórmula:

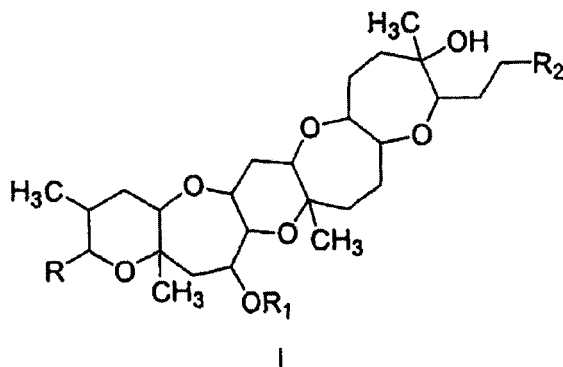


Brevenal

65

En un aspecto amplio, la invención proporciona compuestos de Fórmula I:

5
10
15



y sus sales farmacéuticamente aceptables, donde

20
25

R es alquilo C₁-C₁₂, alquenilo C₁-C₁₂, ésteres de alquilo C₁-C₁₂, alquilamidas C₁-C₁₂, ésteres de alquenilo C₄-C₁₂, ésteres de alquilarilo C₁-C₁₂, ésteres de alquenilarilo C₄-C₁₂, alquenilamidas C₄-C₁₂, alcoxi C₁-C₁₂, formilalquilo C₁-C₁₂, formilalquenilo C₂-C₁₂, alcanoilalquilo C₁-C₁₂, alcanoilalquenilo C₂-C₁₂, carboxialquilo C₁-C₁₂, carboxialquenilo C₂-C₁₂, en los que los grupos alquilo y alquenilo están opcionalmente sustituidos con 1-6 grupos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en: cicloalquilo C₃-C₁₂ opcionalmente sustituido, heterociclilo C₃-C₁₂ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halógeno, alquenilo C₂-C₆, OH, nucleósidos, nucleótidos, purinas, pirimidinas, ésteres aromáticos, ésteres de arilo, ésteres de cicloalquilo, ésteres de cicloalquenilo, purinas o pirimidinas;

30

OR₁ es OH u -O(CO)CH₃; y

35

R₂ es -CH=CHCH=CH₂, -CH₂-fenilo o -CH₂-piridilo, en los que los grupos fenilo y piridilo están opcionalmente sustituidos en cada posición sustituible con un grupo que es de modo independiente alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, haloalquilo, haloalcoxi, hidroxilo, hidroxialquilo, halógeno, -CO₂H, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆) o -C(O)N(alquil C₁-C₆)(alquilo C₁-C₆) o sus sales, solvatos, ésteres, amidas, hidratos farmacéuticamente aceptables, o sus combinaciones.

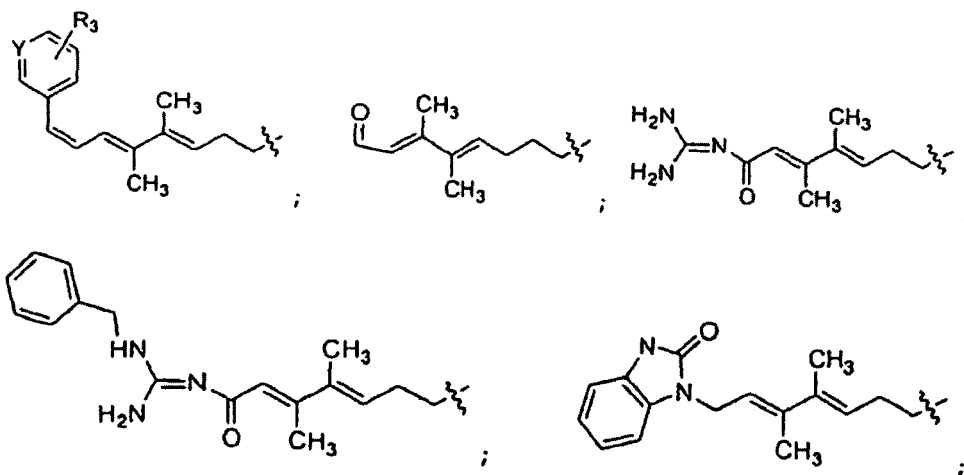
Los compuestos de la invención tienen actividad como antagonistas de brevetoxinas y por ende son útiles para tratar el envenenamiento con brevetoxinas y ciguatoxina.

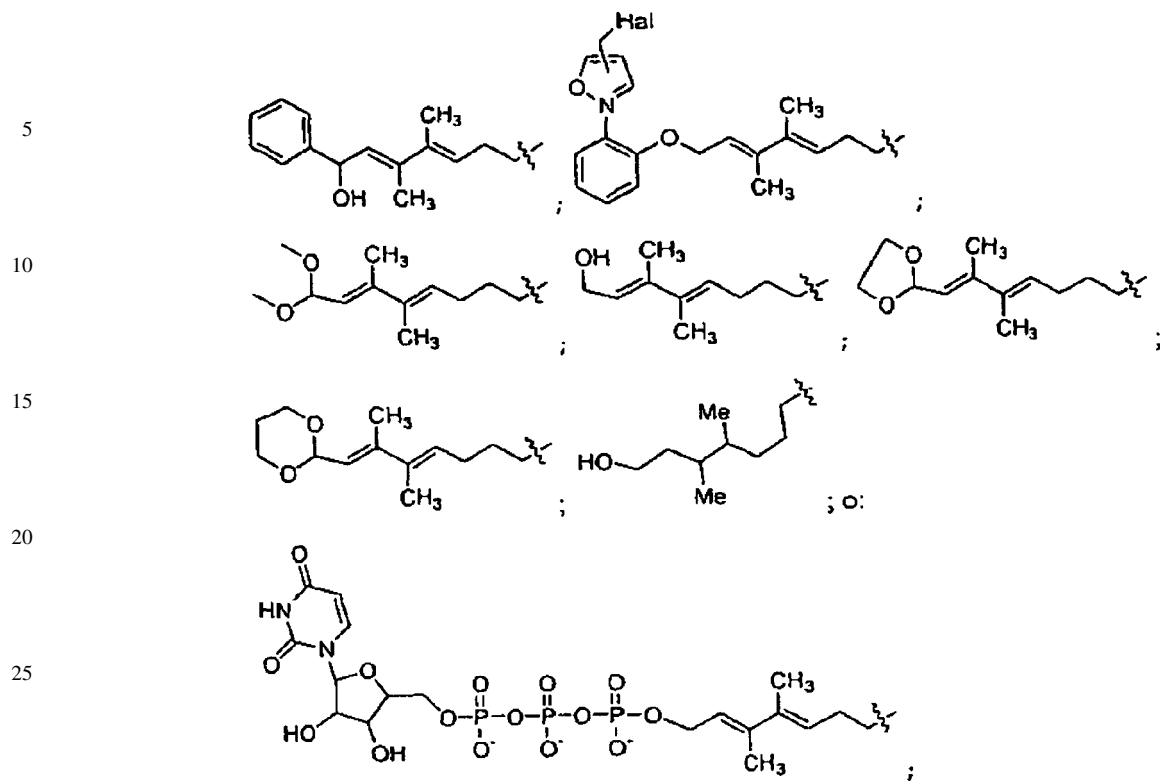
40

La presente invención también proporciona compuestos de Fórmula I en los que

R es

45
50
55
60
65





en los que

Hal es cloro, fluoro, yodo o bromo;

R₃ se selecciona de H, OH, NH₂, halógeno y NO₂, e

Y se selecciona de CH, N, O y S.

La invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprender un compuesto de fórmula I, o una de sus sales, hidratos o solvatos farmacéuticamente aceptables, en combinación con un vehículo, excipiente, disolvente, adyuvante o diluyente farmacéuticamente aceptables.

Los compuestos de la invención también pueden actuar como antagonistas para la clase de compuestos conocidos como brevetoxinas y ciguatoxina.

La invención además se refiere al uso de un compuesto de fórmula I o una de sus sales, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para regular la velocidad de depuración del moco y tratar afecciones o enfermedades asociadas con la reducción de la depuración del moco y la disfunción mucociliar en un individuo.

La invención también proporciona el uso de un compuesto de la invención o una de sus sales, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables, en una cantidad efectiva para tratar el envenenamiento con brevetoxinas o ciguatoxina, para la preparación de un medicamento para el envenenamiento con brevetoxinas o ciguatoxina. Este uso para tratar el envenenamiento con brevetoxinas o ciguatoxina puede ayudar a prevenir, tratar, reducir la gravedad, o retrasar el inicio o progresión de síntomas y estados de enfermedad asociados con el envenenamiento con brevetoxinas o ciguatoxina.

Breve descripción de las Figuras

La Figura 1 ilustra el efecto de las concentraciones de brevenal (3, 10 y 100 pg/ml) sobre la constricción de las vías respiratorias inducida por PbTx-3 en ovejas.

La Figura 2 ilustra el efecto de las concentraciones de brevenal (3, 10 y 100 pg/ml) sobre la constricción de las vías respiratorias inducida por PbTx-2 en ovejas.

La Figura 3 ilustra el efecto de brevenal (10 pg/ml) sobre la constricción de las vías respiratorias inducida por hemi-brevetoxina en ovejas.

ES 2 338 429 T3

La Figura 4 ilustra el efecto de β -naftoil-PbTx-3 y brevenal (100 pg/ml) sobre la reducción de la velocidad del moco traqueal (TMV) inducida por PbTx-3 en ovejas.

La Figura 5 ilustra el efecto de PbTx-3 y PbTx-2 (CONC. 10 pg/ml) sobre la velocidad del moco traqueal (TMV) en ovejas.

Descripción detallada de la invención

Definiciones

A menos que se defina de otro modo, todos los términos científicos y técnicos usados en la presente tienen el mismo significado entendido comúnmente por los expertos en la técnica a la cual pertenece la presente invención.

Todas las patentes y publicaciones mencionadas en la presente se incorporan a la presente como referencia para todos los fines.

Una cantidad “terapéuticamente efectiva” se define como una cantidad efectiva para reducir o disminuir al menos un síntoma de la enfermedad tratada o reducir o retrasar el inicio de uno o más marcadores o síntomas clínicos de la enfermedad.

Como se usa en la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones anexas, las formas singulares “un”, “una” y “el/la” incluyen referentes plurales a menos que el contenido establezca claramente lo contrario. Así, por ejemplo, la referencia a una composición que contiene “un compuesto” incluye una mezcla de dos o más compuestos. Cabe mencionar también que el término “o” se emplea generalmente en un sentido que incluye “y/o” a menos que el contenido establezca claramente lo contrario.

Por “alquilo” y “alquilo C₁-C₆” en la presente invención se entiende grupos alquilo de cadena lineal o ramificada que tienen 1-6 átomos de carbono, tales como, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, 2-pentilo, isopentilo, neopentilo, hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo y 3-metilpentilo. Se entiende que en casos en los que una cadena de alquilo de un sustituyente (por ejemplo de un grupo alquilo, alcoxi o alquenilo) es más corta o más larga que 6 carbonos, así se indicará en el segundo “C” como, por ejemplo, “C₁-C₁₀” indica un máximo de 10 carbonos.

Por el término “halógeno” en la presente invención se entiende flúor, bromo, cloro y yodo.

“Alquenilo” y “alquenilo C₂-C_n” significa grupos hidrocarbonados lineales y ramificados que tienen de 2 a n átomos de carbono y de uno a cuatro dobles enlaces e incluye, por ejemplo, etenilo, propenilo, 1-but-3-enilo, 1-pent-3-enilo, 1-hex-5-enilo, (3E,5E)-4,5-dimetildeca-3,5-dieno y similares.

Como se usa en la presente, el término “cicloalquilo” se refiere a grupos carbocíclicos saturados que tienen tres a doce átomos de carbono. El cicloalquilo puede ser un sistema monocíclico o policíclico condensado. Los ejemplos de tales grupos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo. Los grupos cicloalquilo de la presente están no sustituidos o, como se especifica, sustituidos en una o más posiciones sustituibles con varios grupos. Por ejemplo, tales grupos cicloalquilo pueden estar opcionalmente sustituidos con, por ejemplo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, monoalquil(C₁-C₆)amino, dialquil(C₁-C₆)amino, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆ aminoalquilo (C₁-C₆), monoalquilamino (C₁-C₆)-alquilo (C₁-C₆) o dialquilamino (C₁-C₆)-alquilo (C₁-C₆).

Por “arilo” se entiende un grupo carbocíclico aromático que tiene un anillo único (por ejemplo, fenilo), múltiples anillos (por ejemplo, bifenilo), o anillos condensados múltiples en el que al menos uno es aromático (por ejemplo, 1,2,3,4-tetrahidronaftilo, naftilo), que está opcionalmente mono-, di- o trisustituido. Los grupos arilo preferidos de la presente invención son fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, indanilo, indenilo, dihidronaftilo, tetralinilo o 6,7,8,9-tetrahidro-5H-benzo[a]cicloheptenilo. Los grupos arilo de la presente son no sustituidos o, según se especifique, sustituidos en una o más posiciones sustituibles con diversos grupos. Los grupos arilo preferidos están opcionalmente sustituidos con alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, monoalquil(C₁-C₆)amino, dialquil(C₁-C₆)amino, alquenilo C₂-C₆, alquinilo C₂-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, aminoalquilo (C₁-C₆), monoalquil(C₁-C₆)aminoalquilo (C₁-C₆) o dialquil(C₁-C₆)aminoalquilo (C₁-C₆). Los grupos arilo preferidos son fenilo y naftilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido como se describió anteriormente.

Por “heteroarilo” se entiende uno o más sistemas anulares aromáticos de 5, 6, o 7 miembros anulares que incluye sistemas anulares condensados de 9-11 átomos que contienen al menos uno y hasta cuatro heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno o azufre. Los grupos heteroarilo preferidos de la presente invención incluyen piridinilo, pirimidinilo, quinolinilo, benzotienilo, indolilo, indolinilo, piridazinilo, pirazinilo, isoindolilo, isoquinolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, ftalazinilo, imidazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, oxazolilo, tiazolilo, indolizínilo, indazolilo, benzotiazolilo, bencimidazolilo, benzofuranilo, furanilo, tienilo, pirrolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazolopiridinilo, imidazopiridinilo, isotiazolilo, naftiridinilo, cinolinilo, carbazolilo, beta-carbolinilo, isocromanilo, cromanilo, tetrahidroisoquinolinilo, isoindolinilo, isobenzotetrahidrofuranilo, isobenzotetrahidrotienilo, isobenzotienilo, benzoxazolilo, piridopiridinilo, benzotetrahidrofuranilo, benzotetrahidrotienilo, purinilo, benzodioxolilo, triazinilo, fenoxazinilo, fenotiazinilo, pteridinilo, benzotiazolilo, imidazopiridinilo, imidazotiazolilo, dihidrobenzisoxazi-

ES 2 338 429 T3

nilo, benzisoxazinilo, benzoxazinilo, dihidrobenzisotiazinilo, benzopirano, benzotiopirano, cumarinilo, isocumarinilo, cromonilo, cromanonilo, piridinil-N-óxido, tetrahidroquinolinilo, dihidroquinolinilo, dihidroquinolinonilo, hidroiso-quinolinonilo, dihidrocumarinilo, dihidroisocumarinilo, isoindolinonilo, benzodioxano, benzoxazolinonilo, pirrolil N-óxido, pirimidinil N-óxido, piridazinil N-óxido, pirazinil N-óxido, quinolinil N-óxido, indolil N-óxido, indolinil N-óxido, isoquinolil N-óxido, quinazolinil N-óxido, quinoxalinil N-óxido, ftalazinil N-óxido, imidazolil N-óxido, isoxazolil N-óxido, oxazolil N-óxido, tiazolil N-óxido, indolizil N-óxido, indazolil N-óxido, benzotiazolil N-óxido, bencimidazolil N-óxido, pirrolil N-óxido, oxadiazolil N-óxido, tiadiazolil N-óxido, triazolil N-óxido, tetrazolil N-óxido, S-óxido de benzotiopirano, S,S-dióxido de benzotiopirano. Los grupos heteroarilo más preferidos incluyen oxazolilo, isoxazolilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo y pirazinilo. Los grupos heteroarilo de la presente son no sustituidos o, según se especifique, sustituidos en una o más posiciones sustituibles con diversos grupos. Los grupos heteroarilo preferidos están opcionalmente sustituidos con alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, mono alquil(C₁-C₆)amino, dialquil(C₁-C₆)amino, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, aminoalquilo (C₁-C₆), monoalquil(C₁-C₆)aminoalquilo (C₁-C₆) o dialquil(C₁-C₆)aminoalquilo (C₁-C₆).

Por “heterociclo”, “heterocicloalquilo” o “heterociclilo” se entiende uno o más sistemas anulares carbocíclicos de anillos de 4, 5, 6, o 7 miembros que incluyen sistemas anulares condensados de 9-11 átomos que contienen al menos uno y hasta cuatro heteroátomos seleccionados de nitrógeno, oxígeno o azufre. Los heterociclos preferidos de la presente invención incluyen morfolinilo, tiomorfolinilo, S-óxido de tiomorfolinilo, S,S-dióxido de tiomorfolinilo, piperazinilo, homopiperazinilo, pirrolidinilo, pirrolinilo, tetrahidropirano, piperidinilo, tetrahidrofuranilo, pirimidina-2,4(1H,3H)-diona, 1H-benzo[d]-imidazol-2(3H)-ona, tetrahidrotienilo, homopiperidinilo, homomorfolinilo, homotiomorfolinilo, S,S-dióxido de homotiomorfolinilo, oxazolidinonilo, dihidropirazolilo, dihidropirrolilo, dihidropirazinilo, dihidropiridinilo, dihidropirimidinilo, dihidrofurilo, dihidropirano, S-óxido de tetrahidrotienilo, S,S-dióxido de tetrahidrotienilo y S-óxido de homotiomorfolinilo. Los grupos heterocíclicos más preferidos incluyen 1H-benzo[d]imidazol-2(3H)-onilo, pirimidina-2,4(1H,3H)-dionilo, piperidinilo, pirrolidinilo y piperazinilo. Los grupos heterociclo de la presente son no sustituidos o, según se especifique, sustituidos en una o más posiciones sustituibles con diversos grupos. Los grupos heterociclo preferidos están opcionalmente sustituidos con alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halógeno, hidroxilo, ciano, nitro, amino, monoalquil(C₁-C₆)-amino, dialquil(C₁-C₆)amino, alqueno C₂-C₆, alquino C₂-C₆, haloalquilo C₁-C₆, haloalcoxi C₁-C₆, aminoalquilo (C₁-C₆), monoalquil(C₁-C₆)aminoalquilo (C₁-C₆), dialquil(C₁-C₆)aminoalquilo (C₁-C₆) u =O.

Como se usa en la presente, el término “ariléster” abarca los grupos ariloxicarbonilo y arilcarboniloxi.

Como se usa en la presente, el término “alquiléster” abarca los grupos alquiloxicarbonilo y alquilcarboniloxi. Como se usa en la presente, alquilcarbonilo tiene el mismo significado que alcanilo.

Como se usa en la presente, el término “alquilamida” abarca grupos alquilaminocarbonilo, grupos dialquilcarbonilo y grupos alcanilamino.

Como se usa en la presente, el término “alquenilamida” abarca grupos alquenilaminocarbonilo, grupos dialquenilcarbonilo y grupos alquenilcarbonilamino.

Como se usa en la presente, el término “alqueniléster” abarca grupos alqueniloxicarbonilo y alquenilcarboniloxi.

El término alquilariléster como se usa en la presente se refiere a grupos alquiloxicarbonilo y alcaniloxi en los que la porción alquilo porta un grupo arilo o heteroarilo.

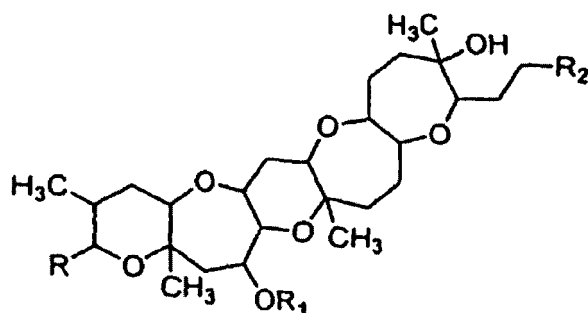
El término alquenilariléster como se usa en la presente se refiere a grupos alqueniloxicarbonilo y alquenilcarboniloxi en los que la porción alqueno porta un grupo arilo o heteroarilo.

La frase “regular la depuración de mucosidad” abarca “controlar, promover y/o influir sobre la depuración de mucosidad”.

Como se usa en la presente, los términos “tratamiento” y “tratar” abarcan la administración profiláctica del compuesto o una composición farmacéutica que comprende el compuesto (“profilaxis”) así como la terapia de recuperación para reducir o eliminar una enfermedad o trastorno mencionado en la presente. La administración profiláctica está destinada a prevenir trastornos o prevenir la recurrencia de trastornos y se puede usar para tratar a un individuo que está en riesgo de padecer o sufrir uno o más de los trastornos mencionados en la presente. En consecuencia, como se usa en la presente, el término “tratamiento”, o uno de sus derivados, contempla la inhibición parcial o completa del estado de enfermedad indicado, cuando se administra un ingrediente activo de la invención en forma profiláctica o después del inicio del estado de enfermedad para el que se administra dicho ingrediente activo de la invención. “Profilaxis” se refiere a la administración del(de los) ingrediente(s) activo(s) a un mamífero para proteger al mamífero de cualquiera de los trastornos expuestos en la presente, así como de otros.

Como se usa en la presente, el término “individuo” abarca animales, que incluyen mamíferos y peces. Con preferencia el término se refiere a mamíferos tales como seres humanos, ganado vacuno y caballos, con más preferencia a seres humanos y animales domésticos tales como gatos, perros y caballos, y con máxima preferencia a los seres humanos.

En un aspecto, la presente invención se refiere a compuestos, o sus sales farmacéuticamente aceptables, de Fórmula (I):



(I)

20 en la que

R es alquilo C₁-C₁₂, alqueno C₁-C₁₂, ésteres de alquilo C₁-C₁₂, alquil C₁-C₁₂ amidas, ésteres de alqueno C₄-C₁₂, ésteres de alquilarilo C₁-C₁₂, ésteres de alquenilarilo C₄-C₁₂, alqueno C₄-C₁₂ amidas, alcoxi C₁-C₁₂, formilalquilo C₁-C₁₂, formilalqueno C₂-C₁₂, alcanoilalquilo C₁-C₁₂, alcanoilalqueno C₂-C₁₂, carboxialquilo C₁-C₁₂, carboxialqueno C₂-C₁₂, en el que los grupos alquilo y alqueno están opcionalmente sustituidos con 1-6 grupos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en: cicloalquilo C₃-C₁₂ opcionalmente sustituido, heterociclilo C₃-C₁₂ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halógeno, alqueno C₂-C₆, OH, nucleósidos, nucleótidos, purinas, pirimidinas, ésteres aromáticos, ésteres de arilo, ésteres de cicloalquilo, ésteres de cicloalqueno, purinas o pirimidinas;

OR₁ es OH u -O(CO)CH₃; y

R₂ es -CH=CHCH=CH₂, -CH₂-fenilo o -CH₂-piridilo, en los que los grupos fenilo y piridilo están opcionalmente sustituidos con 1, 2, o 3 grupos que son independientemente alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, haloalquilo, haloalcoxi, hidroxilo, hidroxialquilo, halógeno, -CO₂H, alcoxi C₁-C₆ carbonilo, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆) o -C(O)N(alquilo C₁-C₆)(alquilo C₁-C₆).

En otro aspecto general, R₁ y R₂ son como se definieron anteriormente y R es alquilo, halógeno, alqueno, cicloalquilo, arilo, heteroarilo, heterociclo, heterocicloalquilo o heterociclilo.

En aun otro aspecto, R es alquilo C₆-C₁₂, ésteres de alquilo C₆-C₁₂, alquil C₆-C₁₂ amidas, ésteres de alquilfenilo C₆-C₁₂, alcoxi C₁-C₆, formilalquilo C₆-C₁₂, alcanoilalquilo C₆-C₁₂, carboxialquilo C₆-C₁₂, en el que las porciones alquilo están opcionalmente sustituidas con 1-4 grupos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en: cicloalquilo C₃-C₁₂, heterociclilo C₅-C₆, fenilo, naftilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, quinolinilo, indolilo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halógeno, alqueno C₂-C₆, OH, nucleósidos, nucleótidos, purinas, pirimidinas, ésteres de fenilo, ésteres de cicloalquilo, ésteres de cicloalqueno, purinas y pirimidinas, en los que cada uno de los sustituyentes cíclicos de R también está opcionalmente sustituido con hasta 5 grupos que son independientemente alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halógeno, haloalquilo, haloalcoxi, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₄-alquilo C₁-C₆, CO₂H, C(O)NH₂, C(O)NH(alquilo C₁-C₆) o C(O)N(alquil C₁-C₆)(alquilo C₁-C₆).

En aun otro aspecto, R es alqueno C₆-C₁₂, ésteres de alqueno C₆-C₁₂, ésteres de alquenoilfenilo C₆-C₁₂, alqueno C₆-C₁₂ amidas, formilalqueno C₆-C₁₂, alcanoilalqueno C₆-C₁₂, alcanoilalqueno C₆-C₁₂, carboxialqueno C₆-C₁₂, carboxialqueno C₆-C₁₂, en los que los grupos alqueno están opcionalmente sustituidos con 1-4 grupos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en: cicloalquilo C₃-C₁₂, heterociclilo C₅-C₆, fenilo, naftilo, piridilo, pirimidilo, piridazinilo, pirazinilo, furanilo, tienilo, quinolinilo, indolilo, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halógeno, alqueno C₂-C₆, OH, nucleósidos, nucleótidos, purinas, pirimidinas, ésteres de fenilo, ésteres de cicloalquilo, ésteres de cicloalqueno, purinas y pirimidinas, en los que cada uno de los sustituyentes cíclicos en R también está opcionalmente sustituido con hasta 5 grupos que son independientemente alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halógeno, haloalquilo, haloalcoxi, hidroxilo, hidroxialquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₄-alquilo C₁-C₆, CO₂H, C(O)NH₂, C(O)NH(alquilo C₁-C₆), o C(O)N(alquil C₁-C₆)(alquilo C₁-C₆).

En aun otro aspecto, OR₁ es OH.

En otro aspecto más, R₂ es -CH=CHCH=CH₂, -CH₂-fenilo, o -CH₂-piridilo, en los que los grupos fenilo y piridilo están opcionalmente sustituidos con 1, 2, o 3 grupos que son independientemente alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, haloalquilo, haloalcoxi, hidroxilo, hidroxialquilo, halógeno, -CO₂H, alcoxi C₁-C₆ carbonilo, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆) o -C(O)N(alquilo C₁-C₆)(alquilo C₁-C₆).

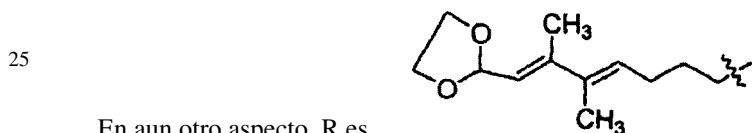
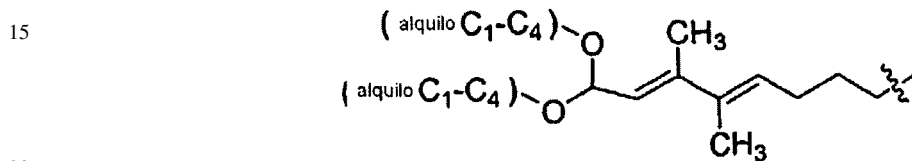
ES 2 338 429 T3

En otro aspecto, R es alqueno C₆-C₁₂ sustituido con 1, 2, o 3 grupos que son independientemente alcoxi C₁-C₄, halógeno, -CHO, -OCH₂CH₂O-, -OCH₂CH₂CH₂O- u OH.

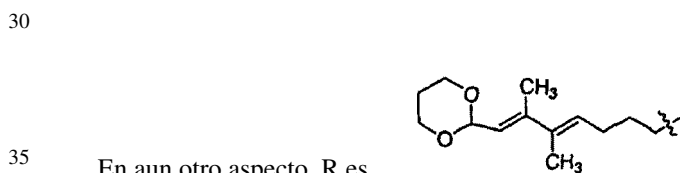
En aun otro aspecto, R es alqueno C₈-C₁₂ sustituido con 1, 2, o 3 grupos que son independientemente alcoxi C₁-C₄, halógeno, -CHO, -OCH₂CH₂O-, -OCH₂CH₂CH₂O- u OH.

En aun otro aspecto más, R es alqueno C₉-C₁₀ sustituido con 1, 2 o 3 grupos que son independientemente alcoxi C₁-C₄, -CHO, -OCH₂CH₂O-, -OCH₂CH₂CH₂O- u OH. En un aspecto, cuando R está sustituido con dos grupos alcoxi C₁-C₄, ellos son iguales. Aun con más preferencia, cuando los dos grupos alcoxi C₁-C₄ son iguales, estos se unen al mismo carbono, formando de este modo un acetal.

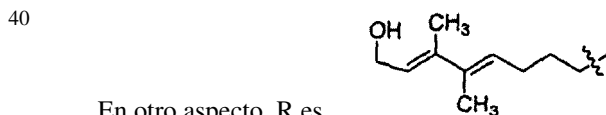
En aun otro aspecto, R es



En aun otro aspecto, R es

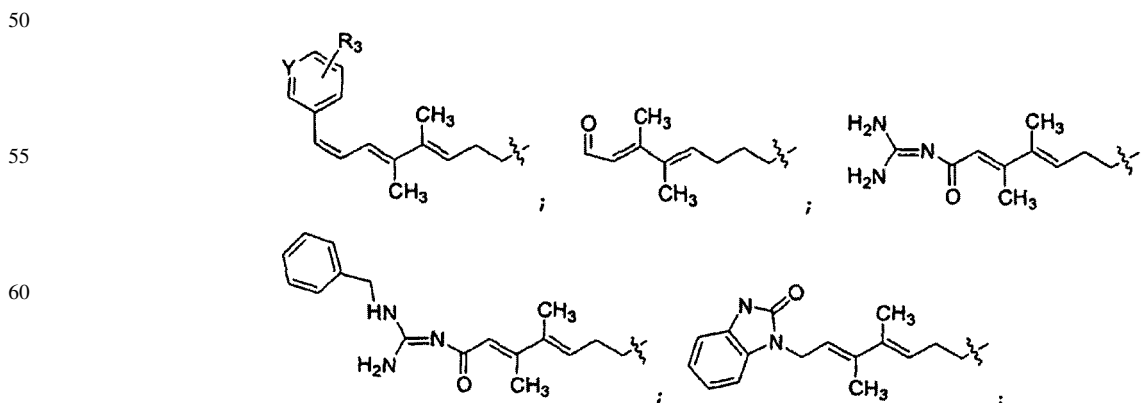


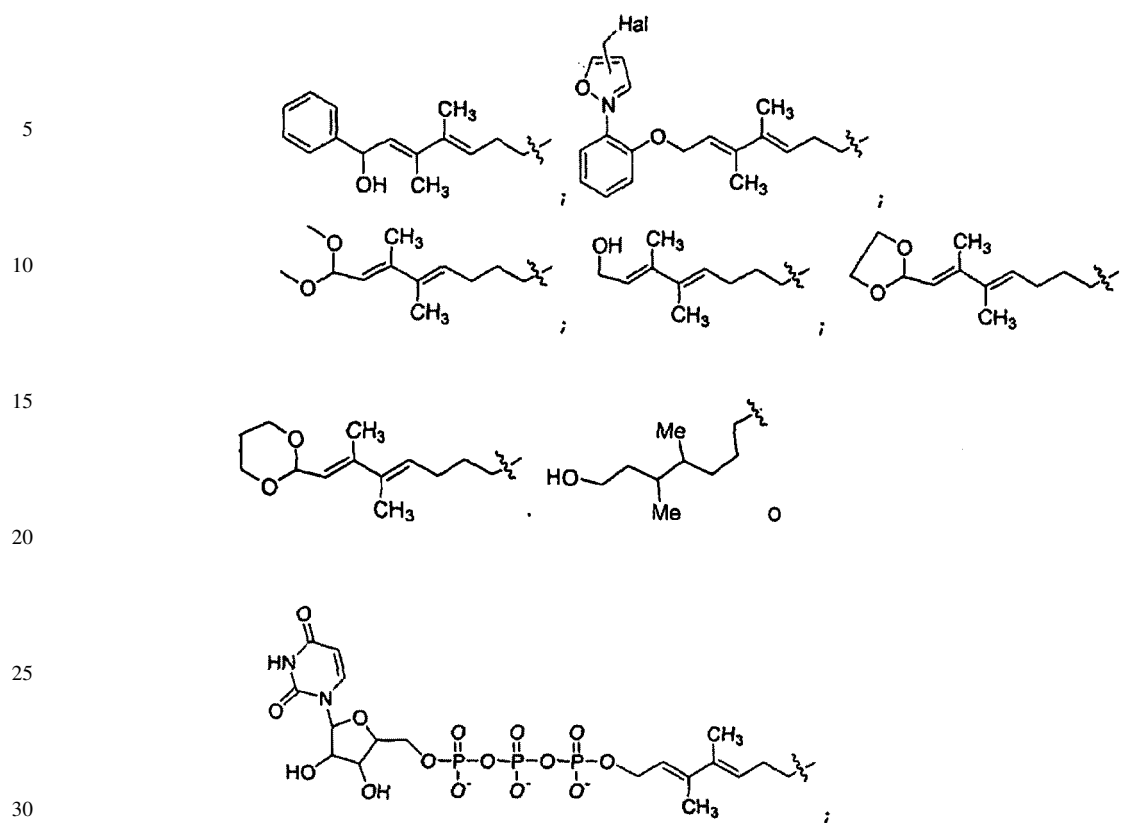
En aun otro aspecto, R es



En otro aspecto, R es

En otra realización de este aspecto, el compuesto es de Fórmula (I), en la que R es





35 en el que

Hal es cloro, fluoro, yodo o bromo;

40 R_3 se selecciona de H, OH, NH_2 , halógeno y NO_2 , e

Y se selecciona de CH, N, O y S.

En otro aspecto, R_2 es $-CH=CHCH=CH_2$.


45 En una realización preferida, R_2 en el compuesto de Fórmula (I) es $-CH=CHCH=CH_2$ en conformación cis.


En una realización preferida, R_2 en el compuesto de fórmula (I) es $-CH=CHCH=CH_2$ en conformación cis, y R es un alqueno C_1-C_{12} que comprende un dieno.

50 En una realización más preferida, R_2 en el compuesto de Fórmula (I) es $-CH=CHCH=CH_2$ en conformación cis, y R es un alqueno C_2-C_{12} que comprende un dieno, en conformación trans.

En otra realización, R_2 en el compuesto de fórmula (I) es $CH=CHCH=CH_2$ en conformación trans, y R es alqueno C_2-C_{12} que comprende un dieno, en conformación trans.

55 En otra realización, R_2 es $-CH_2$ -fenilo o $-CH_2$ -piridilo, en los que los grupos fenilo y piridilo están opcionalmente sustituidos con 1, 2 o 3 grupos que son independientemente alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , CF_3 , OCF_3 , hidroxilo, hidroxialquilo C_1-C_6 , halógeno, $-CO_2H$, alcoxi C_1-C_6 -carbonilo, $-C(O)NH_2$, $-C(O)NH$ (alquilo C_1-C_6) o $-C(O)N$ (alquilo C_1-C_6)(alquilo C_1-C_6).

60 En otra realización, R_2 es $-CH=CHCH=CH_2$. En aun otra realización R_2 es . En aún otra realización,

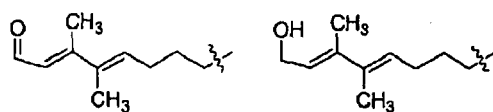
65 R_2 es .

ES 2 338 429 T3

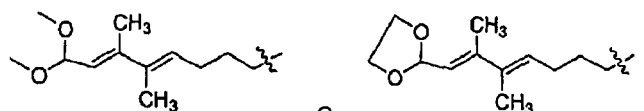
En aun otra realización

R es

5



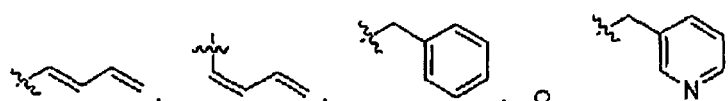
10



15

y

20



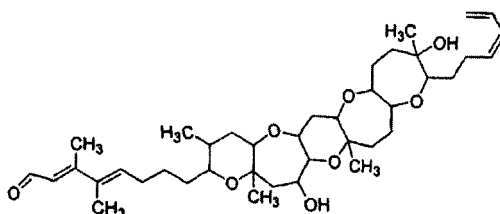
R₂ es
mo se definieron anteriormente y R₁ es H.

En otra realización R y R₂ son co-

25

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

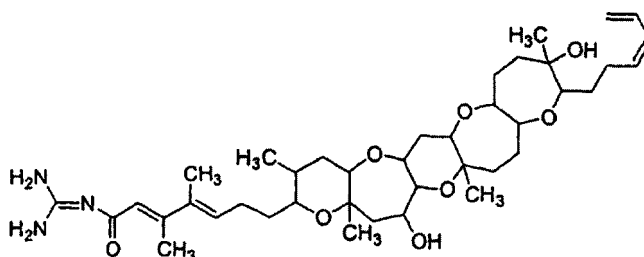
30



35

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

40

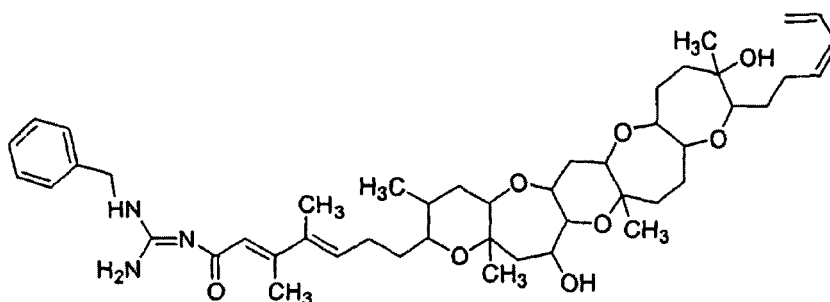


45

50

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

55



60

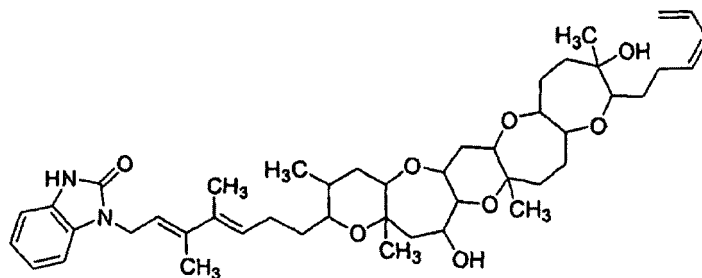
65

ES 2 338 429 T3

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

5

10

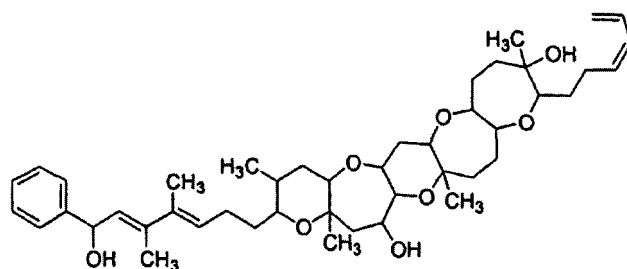


15

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

20

25

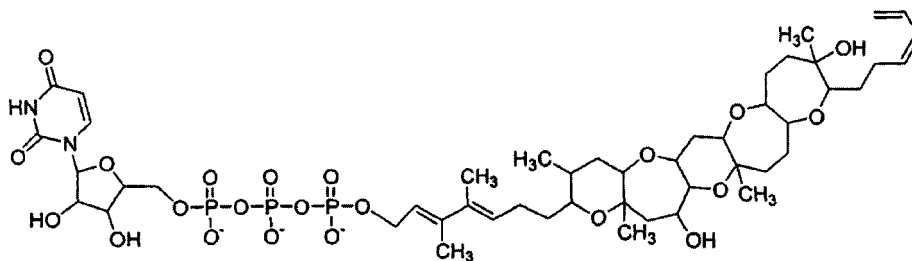


30

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

35

40



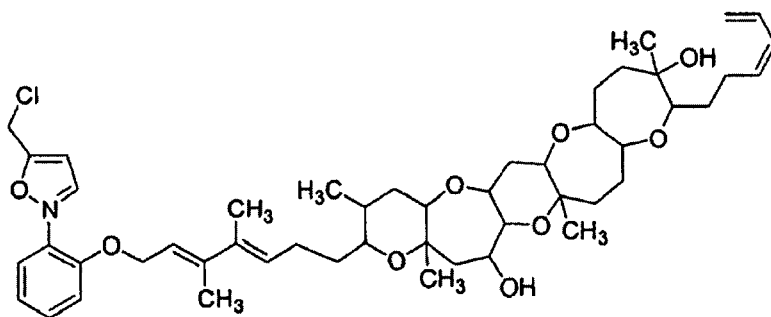
45

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

50

55

60



65

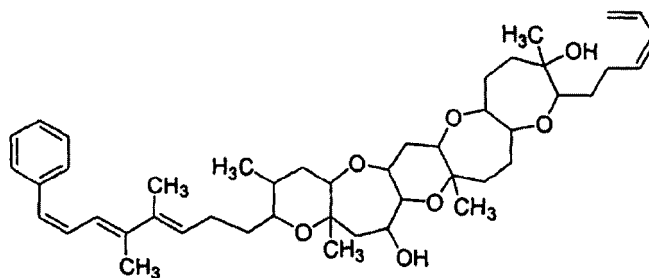
ES 2 338 429 T3

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

5

10

15

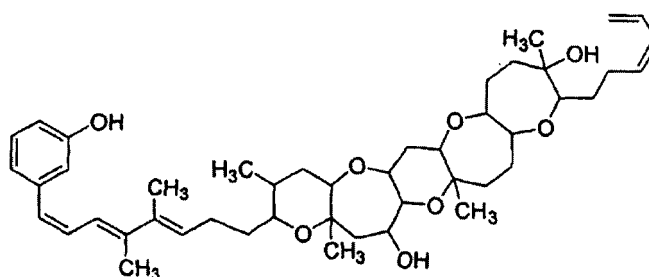


En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

20

25

30

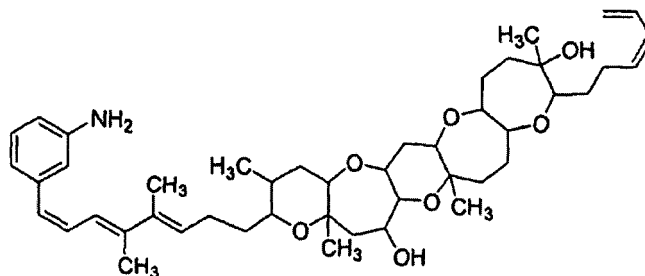


En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

35

40

45



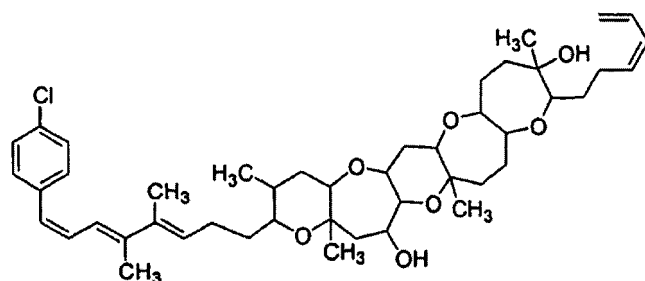
En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

50

55

60

65



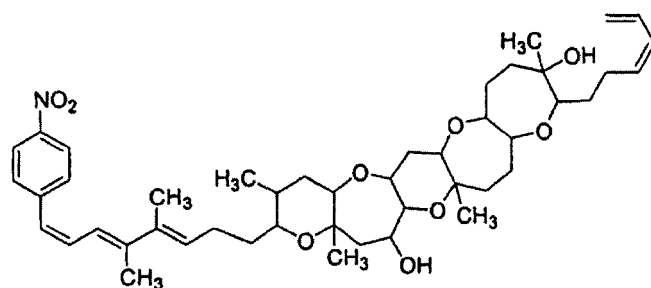
ES 2 338 429 T3

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

5

10

15

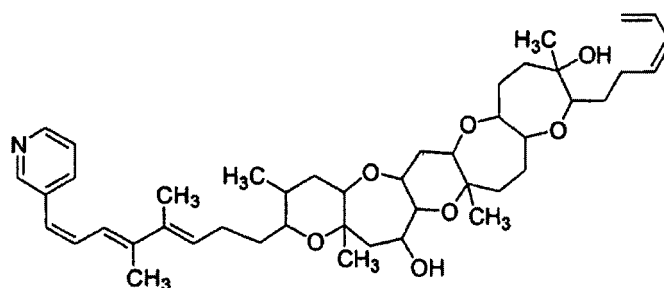


En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

20

25

30



35

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

40

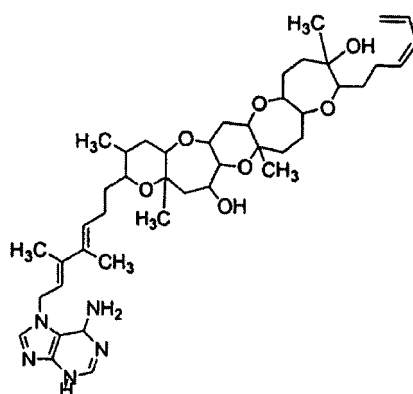
45

50

55

60

65



ES 2 338 429 T3

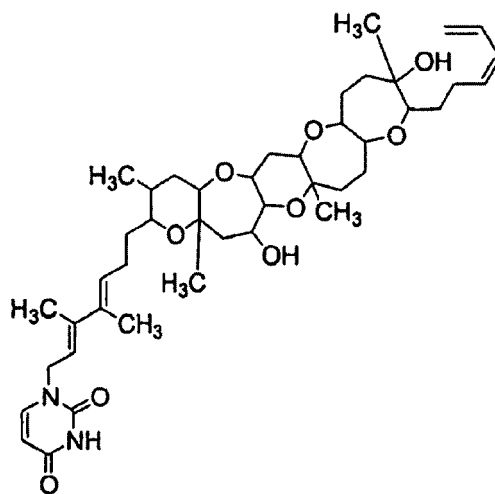
En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

5

10

15

20



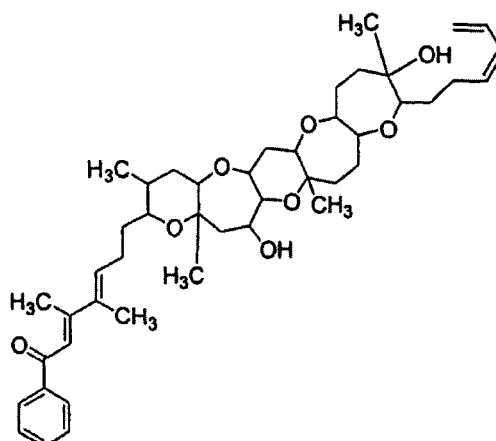
En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

25

30

35

40



45

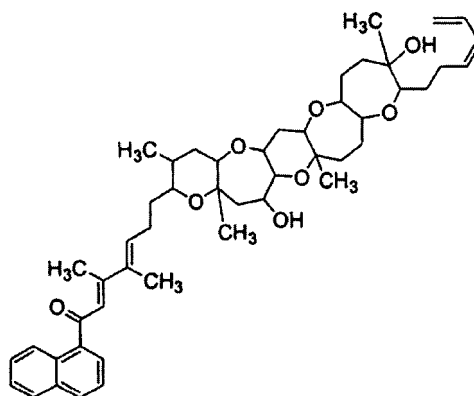
En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

50

55

60

65



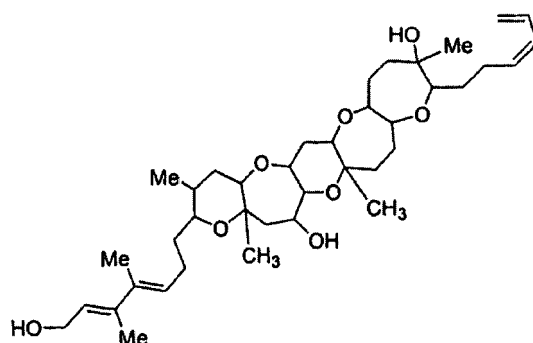
ES 2 338 429 T3

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

5

10

15

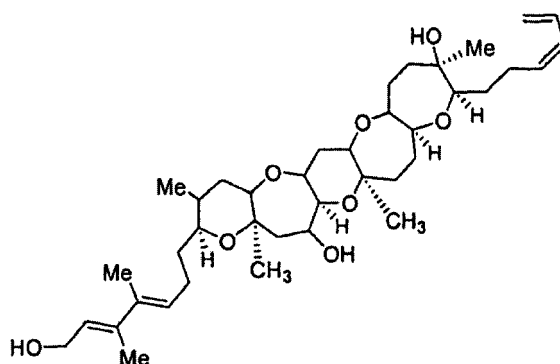


En un aspecto de esta realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

20

25

30



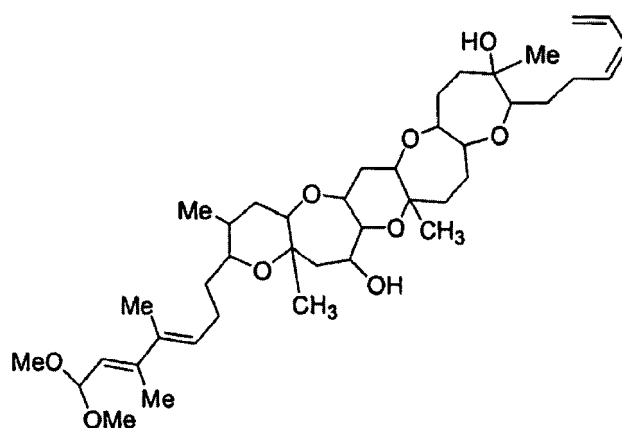
35

En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

40

45

50

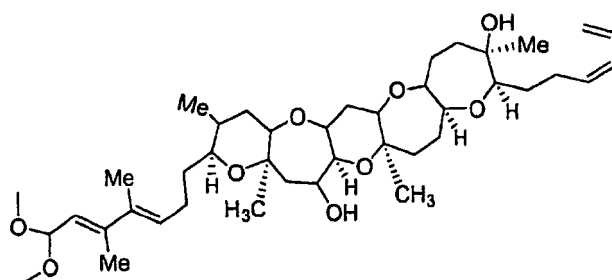


55

En un aspecto de esta realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:

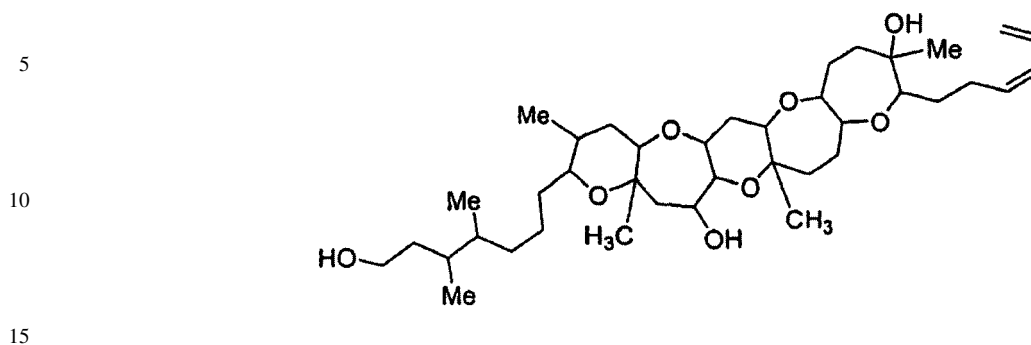
60

65

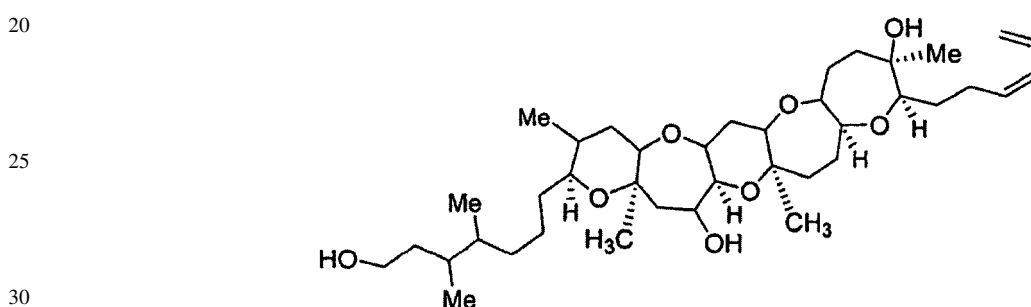


ES 2 338 429 T3

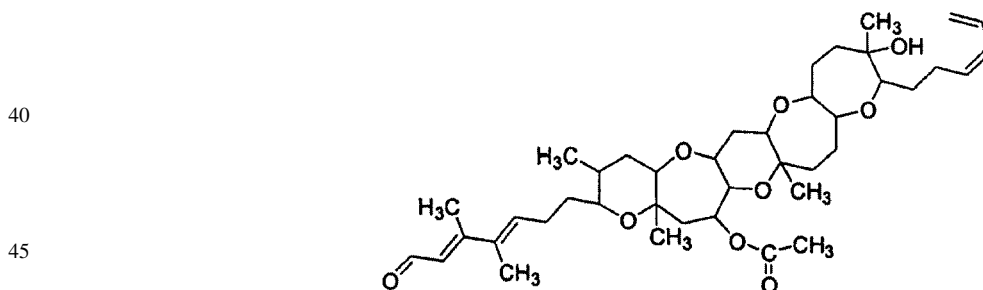
En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:



En un aspecto de esta realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:



En otra realización preferida, el compuesto de fórmula (I) es:



50 Los compuestos de Fórmula (I) pueden tener centros asimétricos y presentarse como racematos, mezclas racémicas y como diastereómeros individuales o enantiómeros. Todas las formas isoméricas se incluyen dentro del alcance de la presente invención.

55 En un aspecto preferido, los compuestos de la invención se basan en el núcleo de brevenal, es decir, cada estereocentro de los compuestos de fórmula (I) tiene la misma configuración que los estereocentros del brevenal.

60 En otro aspecto, la invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de fórmula I o una de sus sales, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables, y un vehículo, excipiente, disolvente, adyuvante o diluyente farmacéuticamente aceptable.

65 En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto, sal, solvato o hidrato de la invención para la preparación de un medicamento para regular la depuración de moco, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto, sal, solvato o hidrato de la invención, en una cantidad efectiva para regular la depuración de moco en el individuo o célula.

Como se usa en la presente, las disminuciones de la depuración de moco o la disfunción mucociliar en general se miden a través del transporte de moco traqueal (TMV), un marcador sustituto de la depuración pulmonar global.

ES 2 338 429 T3

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de la invención para la preparación de un medicamento para tratar afecciones o enfermedades relacionadas, o asociadas con, la reducción de la depuración de moco, o una composición farmacéutica que comprende un compuesto de la invención o una sal, hidrato, éster, amida, solvato farmacéuticamente aceptable o sus mezclas, en una cantidad efectiva para tratar las afecciones o enfermedades. Este uso para tratar afecciones o enfermedades asociadas con la reducción de la depuración de moco puede ayudar a prevenir, tratar, reducir la gravedad o retrasar el inicio o progresión de los síntomas o estados de enfermedad asociados con la reducción de la depuración de moco. Tales afecciones o enfermedades incluyen los ejemplos no limitantes de enfermedad respiratoria obstructiva crónica (también conocida como enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)); asma; fibrosis quística, broncoconstricción y otras enfermedades pulmonares que incluyen infecciones pulmonares, tales como los ejemplos no limitantes de neumonía, *Pseudomonas* y bronquitis; y fibrosis quística.

En una realización, el uso para tratamiento se puede emplear para tratar enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, tales como enfisema, fibrosis pulmonar y/o tos del fumador.

En una realización, el uso para tratamiento se puede emplear para tratar el asma.

En una realización, el uso para tratamiento se puede emplear para tratar una enfermedad pulmonar.

En una realización, el uso para tratamiento se puede emplear para tratar una infección pulmonar, que incluye, pero sin limitación, neumonía o *Pseudomonas*.

En una realización, el uso para tratamiento se puede emplear para tratar envenenamiento por brevetoxinas o ciguatoxina, y sus síntomas.

En una realización preferida, el uso para el tratamiento de la fibrosis quística.

En otro aspecto, la invención proporciona usos para tratar los síntomas relacionados con las afecciones o enfermedades asociadas con la reducción de la depuración de moco o la disfunción mucociliar, que comprende administrar a un individuo que necesita tal tratamiento, una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la invención, o una de sus sales, hidratos o solvatos farmacéuticamente aceptables.

En una realización de este aspecto, los usos de la invención son para tratar enfermedades asociadas con membranas mucosas, que incluyen enfermedades tales que involucran al páncreas, intestinos, riñones, trompa de Falopio y/o vasos deferentes.

En otra realización de este aspecto, el uso puede comprender opcionalmente, en combinación con un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales, solvatos o hidratos farmacéuticamente aceptables, el uso de una cantidad efectiva de un compuesto conocido por su utilidad para el tratamiento de afecciones o enfermedades asociadas con la reducción de la depuración de moco. Los usos de la invención opcionalmente pueden comprender un régimen terapéutico adicional tal como una terapia de soporte o adyuvante.

En una realización de los usos de la invención, el individuo es un animal. Más preferiblemente, el animal es un mamífero. Aún más preferiblemente, el mamífero es un ser humano.

En otra realización, el animal es un animal de compañía, tal como, por ejemplo, un caballo, perro o gato.

Las cantidades terapéuticamente efectivas de los compuestos de la invención adecuadas para los usos son generalmente de aproximadamente 0,1 pg/día a aproximadamente 1000 mg/día. Las cantidades terapéuticamente efectivas variarán de acuerdo con diversos parámetros que incluyen, por ejemplo, el uso terapéutico particular y las características físicas del individuo/paciente, y están dentro del conocimiento de los expertos en la técnica.

En un aspecto preferido, la cantidad terapéuticamente efectiva para administración oral es de aproximadamente 1 mg/día a aproximadamente 1000 mg/día. En otro aspecto, de aproximadamente 1 mg/día a aproximadamente 500 mg/día. En aun otro aspecto, de aproximadamente 1 mg/día a aproximadamente 100 mg/día. En aun otro aspecto, de aproximadamente 0,1 mg/día a aproximadamente 10 mg/día.

En otro aspecto, la cantidad terapéuticamente efectiva se administra en una dosis de entre aproximadamente 1 mg a aproximadamente 500 mg por dosis.

En aun otro aspecto, la cantidad terapéuticamente efectiva comprende una dosis entre aproximadamente 1 mg a aproximadamente 100 mg por dosis.

Las dosis preferidas para la administración por inhalación son de aproximadamente 0,1 pg a aproximadamente 1 μ g por día.

Las dosis preferidas para la administración por inyección, es decir, administración parenteral, son de aproximadamente 100 ng a aproximadamente 1 mg por día.

ES 2 338 429 T3

La presente invención también incluye el uso de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables para la fabricación de un medicamento para usar en el tratamiento de un individuo que padece, o para prevenir que un sujeto desarrolle, NSP y/o CFP y los síntomas asociados con esos envenenamientos, y que necesita tal tratamiento.

5

En un aspecto, este uso de un compuesto de fórmula (I) se puede emplear cuando la enfermedad o afección es enfermedad pulmonar obstructiva crónica.

10

En otro aspecto, este uso de un compuesto de fórmula (I) se puede emplear cuando la enfermedad o afección es el asma.

En otro aspecto, este uso de un compuesto de fórmula (I) se puede emplear cuando la enfermedad o afección es una enfermedad pulmonar.

15

En otro aspecto, este uso de un compuesto de fórmula (I) se puede emplear cuando la enfermedad o afección es una infección pulmonar.

20

En otro aspecto, este uso de un compuesto de fórmula (I) se puede emplear cuando la enfermedad o afección es fibrosis quística.

En otro aspecto, este uso de un compuesto de fórmula (I) se puede emplear cuando la enfermedad o afección es bronquitis crónica.

25

En otro aspecto, este uso de un compuesto de fórmula (I) se puede emplear cuando la enfermedad o afección es el síndrome de Kartenerger.

En otro aspecto, este uso de un compuesto de fórmula (I) se puede emplear cuando la enfermedad o afección es bronquiectasia.

30

En otro aspecto, este uso de un compuesto de fórmula (I) se puede emplear cuando la enfermedad o afección es una enfermedad relacionada con la industria, causada o agravada por gases inhalados, partículas de productos textiles, polvo u otras partículas o vapores industriales. Los ejemplos específicos de partículas y polvo incluyen, por ejemplo, óxidos de hierro, sílice, talco, carbón, grafito, fibras, aserrín, polvo de granos, disolventes orgánicos y gases contaminantes.

35

En aun otro aspecto, los compuestos de fórmula (I) y las composiciones farmacéuticas que comprenden la fórmula (I) se pueden emplear cuando la enfermedad o afección proviene de la inhalación de partículas bacterianas u otras patógenas, por ejemplo partículas fúngicas. En consecuencia, la invención también abarca métodos para eliminar partículas patógenas, tales como partículas que comprenden bacterias, por ejemplo partículas de ántrax u hongos.

40

La presente invención también incluye un kit de recipientes que incluye una pluralidad de recipientes, incluyendo cada recipiente una o más dosis unitarias de un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

45

En una realización, este kit de recipientes incluye cada recipiente adaptado para administración oral e incluye un comprimido, gel, o cápsula o inhalador.

50

En una realización, este kit de recipientes incluye cada recipiente adaptado para administración parenteral e incluye un producto de depósito, jeringa, ampolla o vial.

En una realización, este kit de recipientes incluye cada recipiente adaptado para administración tópica e incluye un parche, medipad, ungüento o crema.

55

Los compuestos de fórmula (I) pueden formar sales cuando reaccionan con ácidos o bases apropiados. En general se prefieren las sales farmacéuticamente aceptables respecto de los correspondientes compuestos de fórmula (I) ya que estas con frecuencia producen compuestos que son usualmente más hidrosolubles, estables y/o más cristalinos. Las sales farmacéuticamente aceptables son cualquier sal que retiene la actividad del compuesto original y no imparte ningún efecto perjudicial o no deseable al individuo al que se administra y en el contexto en que se administra. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales de adición de ácidos de ácidos tanto inorgánicos como orgánicos. Las sales farmacéuticamente aceptables preferidas incluyen sales tales como las descritas por Berge, Bighley y Monkhouse, *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66, 1-19. Tales sales se pueden formar a partir de ácidos inorgánicos y orgánicos. Sus ejemplos representativos incluyen los ácidos maleico, fumárico, benzoico, ascórbico, pamoico, succínico, bismetilensulfónico, metansulfónico, etandisulfónico, acético, propiónico, tartárico, salicílico, cítrico, glucónico, aspártico, esteárico, palmítico, itacónico, glicólico, p-aminobenzoico, glutámico, bencensulfónico, clorhídrico, bromhídrico, sulfúrico, ciclohexilsulfámico, fosfórico y nítrico. Para otras sales aceptables, véase *Int. J. Pharm.*, 33, 201-217 (1986).

60

65

Los hidratos y solvatos de los compuestos junto con sus polimorfos también son formas de los compuestos de la invención y se pueden formar de acuerdo con técnicas conocidas para los expertos en la técnica farmacéutica. La invención además incluye complejos, en particular complejos organometálicos, de los compuestos de la invención. Los complejos se pueden preparar, según sea necesario, usando procesos conocidos en la técnica.

5

Métodos de la invención

Los compuestos de la invención, formulaciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos, y sus sales farmacéuticamente aceptables, son útiles para tratar a un individuo, con preferencia un mamífero, más preferiblemente un ser humano, que padece de una enfermedad o afección asociada con reducción de la depuración de moco, y son útiles para ayudar a prevenir o retrasar el inicio de tal enfermedad o afección. Los compuestos y las formulaciones de la invención son particularmente útiles para tratar, prevenir o retardar el avance de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma, enfermedad pulmonar, infección pulmonar y fibrosis quística. Cuando se trata o previene una enfermedad y afección asociada con la reducción de la depuración de moco, y los síntomas asociados, los compuestos de la invención se pueden usar de modo individual o en combinación, como sea mejor para el individuo.

15

Con respecto a estas enfermedades y afecciones, el término “tratamiento” significa que los compuestos de la invención se pueden usar en individuos, preferentemente individuos/pacientes humanos, con una afección o enfermedad existente. Los compuestos de la invención no curarán necesariamente al individuo que padece la enfermedad pero retrasará o hará más lento el avance o prevendrá la progresión posterior de la enfermedad, brindando de este modo al individuo una vida más útil.

20

El término “prevenir” significa que si los compuestos de la invención se administran a los que no padecen actualmente la enfermedad, o el(los) síntoma(s) de la afección, pero que normalmente desarrollarían la enfermedad o tendrían mayor riesgo para la enfermedad, ellos no desarrollarán la enfermedad. Además, “prevenir” también incluye retrasar el desarrollo de la enfermedad en un individuo que finalmente desarrollará la enfermedad o podría tener el riesgo de la enfermedad debido a la edad, antecedentes familiares, anormalidades genéticas o cromosómicas, y/o debido a la presencia de uno o más marcadores biológicos de la enfermedad. Al retrasar el inicio de la enfermedad, los compuestos de la invención pueden evitar que el individuo contraiga la enfermedad durante el período en que el individuo normalmente hubiera contraído la enfermedad o reducir la velocidad de desarrollo de la enfermedad o algunos de sus efectos pero para la administración de los compuestos de la invención hasta el momento en que el individuo finalmente contrae la enfermedad. Prevenir también incluye la administración de los compuestos de la invención a aquellos individuos que se cree tienen predisposición a la enfermedad.

25

30

35

En un aspecto preferido, los compuestos de la invención son útiles para retardar el avance de los síntomas de enfermedad.

40

En otro aspecto preferido, los compuestos de la invención son útiles para prevenir el avance posterior de los síntomas de la enfermedad.

45

En el tratamiento o prevención de las enfermedades anteriores, los compuestos de la invención se administran en una cantidad terapéuticamente efectiva. La cantidad terapéuticamente efectiva variará de acuerdo con el compuesto particular usado, las características físicas del individuo tratado, y la vía de administración, como es conocido por los expertos en la técnica.

50

Al tratar a un individuo que exhibe cualquiera de las enfermedades anteriores diagnosticadas, un médico puede administrar un compuesto de la invención inmediatamente y continuar la administración en forma indefinida, según sea necesario.

Formas de dosificación y cantidades

Los compuestos de la invención se pueden administrar por vía inhalatoria, oral, parenteral, (IV, IM, depo-IM, SC y depo-SC), sublingual, intranasal, intratecal, tópica, vaginal o rectal. Las formas de dosificación conocidas por los expertos en la técnica son adecuadas para la administración de los compuestos de la invención.

55

Se proporcionan composiciones que contienen cantidades terapéuticamente efectivas de los compuestos de la invención. Los compuestos preferentemente se formulan en preparaciones farmacéuticas tales como comprimidos, cápsulas o elixires para la administración oral o en soluciones o suspensiones estériles para administración parenteral. Normalmente los compuestos descritos anteriormente se formulan en composiciones farmacéuticas usando técnicas y procedimientos bien conocidos en la técnica.

60

Aproximadamente 1 pg a aproximadamente 100 mg de un compuesto o mezcla de compuestos de la invención o una sal o éster fisiológicamente aceptable se combina con un vehículo, portador, excipiente, aglutinante, conservante, estabilizante, sabor, etc., fisiológicamente aceptable, en una forma de dosificación unitaria requerida por la práctica farmacéutica aceptada. La cantidad de sustancia activa de estas composiciones o preparaciones es tal que se obtiene una dosis adecuada en el intervalo indicado. Las composiciones se formulan preferentemente en una forma de dosi-

65

ES 2 338 429 T3

ficación unitaria, conteniendo cada dosis de aproximadamente 0,1 pg a aproximadamente 100 mg, preferentemente aproximadamente 0,1 pg a aproximadamente 10 mg, más preferentemente aproximadamente 0,1 pg a aproximadamente 10 pg, o aproximadamente 1 pg a aproximadamente 10 mg, del ingrediente activo. La frase “forma de dosificación unitaria” se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitarias para individuos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéutico adecuado.

Para preparar composiciones farmacéuticamente aceptables de la invención, uno o más compuestos de la invención se mezclan con un vehículo farmacéuticamente aceptable adecuado. Después de la mezcla o la adición del(de los) compuesto(s), la mezcla resultante puede ser una solución, suspensión, emulsión o similares. Las suspensiones liposómicas también pueden ser adecuadas como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estas se pueden preparar de acuerdo con procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. La forma de la mezcla resultante depende de numerosos factores, que incluyen el modo de administración deseado y la solubilidad del compuesto en el portador o vehículo seleccionado. La concentración efectiva es suficiente para reducir o mejorar al menos un síntoma de la enfermedad, trastorno o afección tratada y se puede determinar empíricamente.

Los portadores o vehículos farmacéuticos adecuados para la administración de los compuestos provistos en la presente incluyen cualquier portador conocido por los expertos en la técnica que sea adecuado para el modo de administración particular. Además, los principios activos también se pueden mezclar con otros principios activos que no alteren la acción deseada, o con materiales que suplementan la acción deseada, o tienen otra acción. Los compuestos se pueden formular como único ingrediente farmacéuticamente activo en la composición o se pueden combinar con otros ingredientes activos.

Cuando los compuestos exhiben solubilidad insuficiente, se pueden usar procedimientos para solubilizarlos. Tales procedimientos son conocidos e incluyen, pero sin limitación, utilizar codisolventes tales como dimetilsulfóxido (DMSO), usar tensioactivos tales como Tween[®], y la disolución en bicarbonato de sodio acuoso. También se pueden usar derivados de los compuestos, tales como sales o profármacos, en la formulación de composiciones farmacéuticas efectivas.

La concentración del compuesto es efectiva para la aplicación de una cantidad después de la administración que reduce o mejora al menos un síntoma del trastorno para el que se administra el compuesto. Normalmente, las composiciones se formulan para la administración de dosis únicas.

Los compuestos de la invención se pueden preparar con vehículos que los protegen contra la eliminación rápida del cuerpo, tales como formulaciones o recubrimientos de liberación programada. Dichos vehículos incluyen formulaciones de liberación controlada, tales como, sin limitación, sistemas de liberación microencapsulada. El compuesto activo se incluye en el vehículo farmacéuticamente aceptable en una cantidad suficiente para ejercer un efecto terapéuticamente útil en ausencia de efectos secundarios no deseables en el individuo tratado. La concentración terapéuticamente efectiva se puede determinar empíricamente ensayando los compuestos en sistemas conocidos de modelos *in vitro* e *in vivo* para el trastorno tratado.

Los compuestos y composiciones de la invención pueden estar contenidos en recipientes de dosis múltiples o individuales. Los compuestos y composiciones contenidos se pueden proporcionar en kits, por ejemplo, que incluyen partes componentes que se pueden ensamblar para el uso. Por ejemplo, un inhibidor del compuesto en forma liofilizada y un diluyente adecuado se pueden proporcionar como componentes separados para su combinación antes del uso. Un kit puede incluir un inhibidor del compuesto y un segundo agente terapéutico para la coadministración. El inhibidor y el segundo agente terapéutico se pueden proporcionar como partes componentes separadas. Un kit puede incluir una pluralidad de recipientes, conteniendo cada recipiente una o más dosis unitarias de un compuesto de la invención. Los recipientes preferentemente se adaptan para el modo deseado de administración, que incluye, sin limitación, comprimidos, cápsulas de gel, cápsulas de liberación sostenida y similares para administración oral; productos de depósito, jeringas pre-llenadas, ampollas, viales y similares para administración parenteral; y parches, medipads, cremas y similares para administración tópica.

La concentración del compuesto activo en la composición del fármaco dependerá de la vía de administración y de las velocidades de distribución, metabolismo y excreción del compuesto, así como el esquema de dosis y la cantidad administrada, junto con otros factores conocidos por los expertos en la técnica.

El ingrediente activo se puede administrar de una vez o se puede dividir en numerosas dosis más pequeñas administradas a intervalos de tiempo. Se entiende que la dosis precisa y la duración del tratamiento es función de la enfermedad tratada y se puede determinar empíricamente usando protocolos de ensayo conocidos o por extrapolación de los datos de ensayos *in vivo* o *in vitro*. Cabe mencionar que las concentraciones y los valores de dosis también pueden variar con la gravedad de la afección que será aliviada. Se entiende además que para cualquier individuo particular, los esquemas de dosis específicos se deben ajustar respecto del tiempo de acuerdo con las necesidades individuales y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de concentración expuestos en la presente son sólo ejemplos y no están destinados a limitar el alcance o la práctica de las composiciones reivindicadas.

ES 2 338 429 T3

Si se desea administración oral, el compuesto se debe proporcionar en una composición que lo proteja del ambiente ácido del estómago. Por ejemplo, la composición se puede formular en una cubierta entérica que mantenga su integridad en el estómago y libere el compuesto activo en el intestino. La composición también se puede formular en combinación con un antiácido u otro ingrediente semejante.

Las composiciones orales generalmente incluirán un diluyente inerte o un vehículo comestible y se pueden compactar para dar comprimidos o encerrar en cápsulas de gelatina. A los fines de la administración terapéutica oral, el compuesto o compuestos activos se pueden incorporar con excipientes y usarse en forma de comprimidos, cápsulas o comprimidos para disolución oral. Se pueden incluir agentes aglutinantes y materiales adyuvantes farmacéuticamente compatibles como parte de la composición.

Los comprimidos, píldoras, cápsulas, comprimidos para disolución oral y similares pueden contener alguno de los siguientes ingredientes o compuestos de naturaleza similar: un aglutinante tal como, sin limitación, goma de tragacanto, acacia, almidón de maíz o gelatina; un excipiente tal como celulosa microcristalina, almidón o lactosa; un agente desintegrante tal como, sin limitación, ácido algínico y almidón de maíz; un lubricante tal como, sin limitación, estearato de magnesio; un deslizante, tal como, sin limitación, dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; y un agente saborizante tal como menta, salicilato de metilo o saborizante frutal.

Cuando la forma de dosificación unitaria es una cápsula, puede contener, además del material del tipo anterior, un vehículo líquido tal como un aceite graso. Además, las formas de dosificación unitarias pueden contener otros materiales diversos, que modifican la forma física de la unidad de dosificación, por ejemplo recubrimientos de azúcar y otros agentes entéricos. Los compuestos también se pueden administrar como componentes de un elixir, suspensión, jarabe, oblea, goma de mascar o similares. Un jarabe puede contener, además de los compuestos activos, sacarosa como agente edulcorante y determinados conservantes, pigmentos y colorantes, y sabores.

Los materiales activos también se pueden mezclar o combinar con otros agentes activos farmacéuticamente aceptables que no alteren la acción deseada, o con materiales que suplementen la acción deseada.

Las soluciones o suspensiones usadas para aplicación parenteral, intradérmica, subcutánea o tópica pueden incluir alguno de los siguientes componentes: un diluyente estéril tal como agua para inyección, solución salina, aceite fijo, un aceite vegetal natural tal como aceite de sésamo, aceite de coco, aceite de maní, aceite de semilla de algodón y similares, o un vehículo graso sintético tal como oleato de etilo y similares, polietilenglicol, glicerina, propilenglicol u otro disolvente sintético; agentes antimicrobianos tales como alcohol bencílico y metilparabenos; antioxidantes tales como ácido ascórbico y bisulfito de sodio; agentes quelantes tales como ácido etilendiamino-tetraacético (EDTA); tampones tales como acetatos, citratos y fosfatos y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio y dextrosa. Las preparaciones parenterales se pueden cargar en ampollas, jeringas desechables o viales de dosis múltiples hechos de vidrio, plástico u otro material adecuado. Se pueden incorporar tampones, conservantes, antioxidantes y similares, según sea necesario.

Cuando se administra por vía intravenosa, los vehículos adecuados incluyen solución fisiológica, solución salina tamponada con fosfato (PBS) y soluciones que contienen agentes espesantes y solubilizantes tales como glucosa, polietilenglicol, polipropilenglicol y sus mezclas. Las suspensiones liposómicas que incluyen liposomas dirigidos a tejidos también pueden ser adecuados como vehículos farmacéuticamente aceptables. Estos se pueden preparar de acuerdo con métodos conocidos, por ejemplo como se describe en la Patente Estadounidense No. 4.522.811.

Los compuestos activos se pueden preparar con vehículos que protegen al compuesto contra la eliminación rápida del cuerpo, tales como formulaciones de liberación programada o recubrimientos. Tales vehículos incluyen formulaciones de liberación controlada, tales como, sin limitación, implantes y sistemas de administración microencapsulados, y polímeros biocompatibles y biodegradables, tales como colágeno, copolímero de etileno-acetato de vinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, poliortoésteres, ácido poliláctico y similares. Los métodos de preparación de estas formulaciones son conocidos por los expertos en la técnica.

Los compuestos de la invención se pueden administrar por inhalación (sea oral o intranasal), por vía oral, parenteral (IV, IM, depo-IM, SC, y depo-SC), sublingual, intratecal, tópica o rectal. Las formas de dosificación conocidas por los expertos en la técnica son adecuadas para la administración de los compuestos de la invención.

Los compuestos de la invención se pueden administrar por vía entérica o parenteral. Cuando se administra en forma oral, los compuestos de la invención se pueden administrar en formas de dosificación usuales para la administración oral como es bien conocido por los expertos en la técnica. Estas formas de dosificación incluyen las formas de dosificación unitarias sólidas usuales de los comprimidos y las cápsulas así como las formas de dosificación líquida tales como soluciones, suspensiones y elixires. Cuando se usan las formas de dosificación sólidas, se prefiere que sean del tipo de liberación sostenida de modo que los compuestos de la invención se deban administrar sólo una o dos veces por día.

Las formas de dosificación orales se administran al individuo 1, 2, 3, o 4, o más veces por día, o según sea necesario. Se prefiere que los compuestos de la invención se administren tres o menos veces, más preferentemente una o dos veces por día. En consecuencia, se prefiere que los compuestos de la invención se administren en forma de dosificación oral.

Se prefiere que cualquiera que sea la forma de dosificación oral usada, se diseñe de modo de proteger los compuestos de la invención del ambiente ácido del estómago. Los comprimidos con recubrimiento entérico son bien conocidos por los expertos en la técnica. Además, las cápsulas llenas con pequeñas esferas, cada una recubierta para protegerse de la acidez estomacal, también son bien conocidas por los expertos en la técnica.

Como se indicó anteriormente, dependiendo de si hay presentes átomos de carbono asimétricos, los compuestos de la invención pueden estar presentes como mezclas de isómeros, como racematos o en forma de isómeros puros.

Las sales de los compuestos son preferentemente las sales farmacéuticamente aceptables o no tóxicas de los compuestos de fórmula I. A los fines de aislamiento y purificación también es posible usar sales farmacéuticamente inaceptables.

Ejemplos

Ejemplo 1

Síntesis de Compuestos

Aislamiento de Brevenal

El brevenal se puede aislar y purificar a partir de fuentes nativas, tales como *K. brevis*, o otros organismos de marea roja. Las metodologías de purificación adecuadas son bien conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Baden *et al.*, 1981, *Toxicon* 19:455-463; Poll *et al.*, *Molecular Pharmacology*, 1986 30:129-135. El siguiente procedimiento es representativo.

El brevenal se extrae de cultivos de *K. brevis* (Provasoli - Guillard National Center for Culture of Marine Phytoplankton, West Boothbay Harbor, ME) usando cloroformo. Se recolectan las fases clorofórmicas, se secan y reparten entre éter de petróleo y metanol acuoso para extraer los pigmentos y desechos de lípidos celulares. La fase acuosa-metanólica (90%) se seca al vacío y los componentes se separan usando una columna de gel de sílice (fase móvil CHCl_3 :metanol:ácido acético; 100:10:1 v/v). El brevenal y las brevetoxinas coeluyen de la columna de sílice; se recolectan las fracciones que contienen estos materiales y se combinan. Se usa una columna de matriz de C18 de baja presión para separar los pigmentos remanentes de las brevetoxinas y el brevenal usando una fase móvil de acetoniitrilo:agua (80:20 v/v), lo que origina un extracto "clarificado". El extracto clarificado se aplica a una columna de HPLC, tal como una columna de fase reversa de C18 Varian (0,8 x 25 cm) con un tampón de corrida de metanol:agua 90:10 con una velocidad de bombeo apropiada (por ejemplo, 3-4 ml/min). La detección de los picos del eluato se puede realizar por cualquier método conocido en la técnica, tal como detección de UV a 215 nm. Los picos de interés se aíslan y aplican a otra columna, tal como una columna de interacción hidrófoba (HI) (por ejemplo, columna de fenilhexilo C18 Phenomenex 0,8 x 25 cm) en un tampón de corrida apropiado (por ejemplo, 99% de MeOH:1% de H_2O). Las fracciones que contienen los compuestos de interés se mezclan y los compuestos se aíslan por cualquier método conocido tal como cristalización o evaporación de disolvente (Roto-Vap).

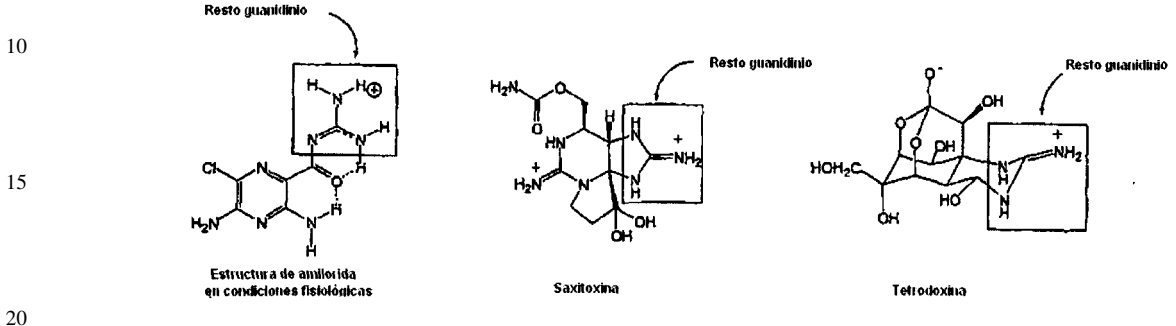
La estructura del brevenal se determinó usando una cantidad de procedimientos espectroscópicos que incluyen RMN, espectroscopía de masa y FT-IR. La masa exacta del brevenal determinada por espectroscopía de masa de alta resolución es 656,4043. La estructura primaria y estereoespecífica se dilucidó usando espectroscopía de RMN 1-D y 2-D en cuatro disolventes diferentes.

Se pueden usar varias metodologías diferentes para obtener los compuestos de la invención; el brevenal es un material de partida adecuado. Se conocen metodologías adecuadas en la técnica. El brevenal se puede usar como material de partida como tal o se puede proteger primero o convertir al alcohol o ácido carboxílico correspondiente para el procesamiento posterior. Los procedimientos de síntesis representativos para preparar los compuestos de la invención a partir de tales materiales iniciales se describen en, por ejemplo, Mende, T.J., *et al.*, *Tetr. Lett.*, 1990; 31(37):5307-5310; Trainer, V.L., *et al.*, *Malec. Pharm.*, 1991; 40(6):988-994; Keck, G.E., *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1987, 28:139-142; Alvarez, E., *et al.*, *Chem. Rev.*, 1995, 95:1953-1980; Rein, *et al.*, 1994: (a) *J. Org. Chem.*, 59:2107-2113; (b) *J. Org. Chem.* 59:2101-2106. Cada una de estas referencias se incorpora a la presente como referencia en su totalidad. Los expertos en la técnica apreciarán que se pueden realizar modificaciones menores a los procedimientos particulares para obtener los compuestos de la invención.

Ejemplo 1

Derivado de α -amilorida

5 La amilorida (N-amidino-3,5-diamino-6-cloropirazincarboxamida) existe en forma cargada en condiciones fisiológicas como se muestra a continuación.

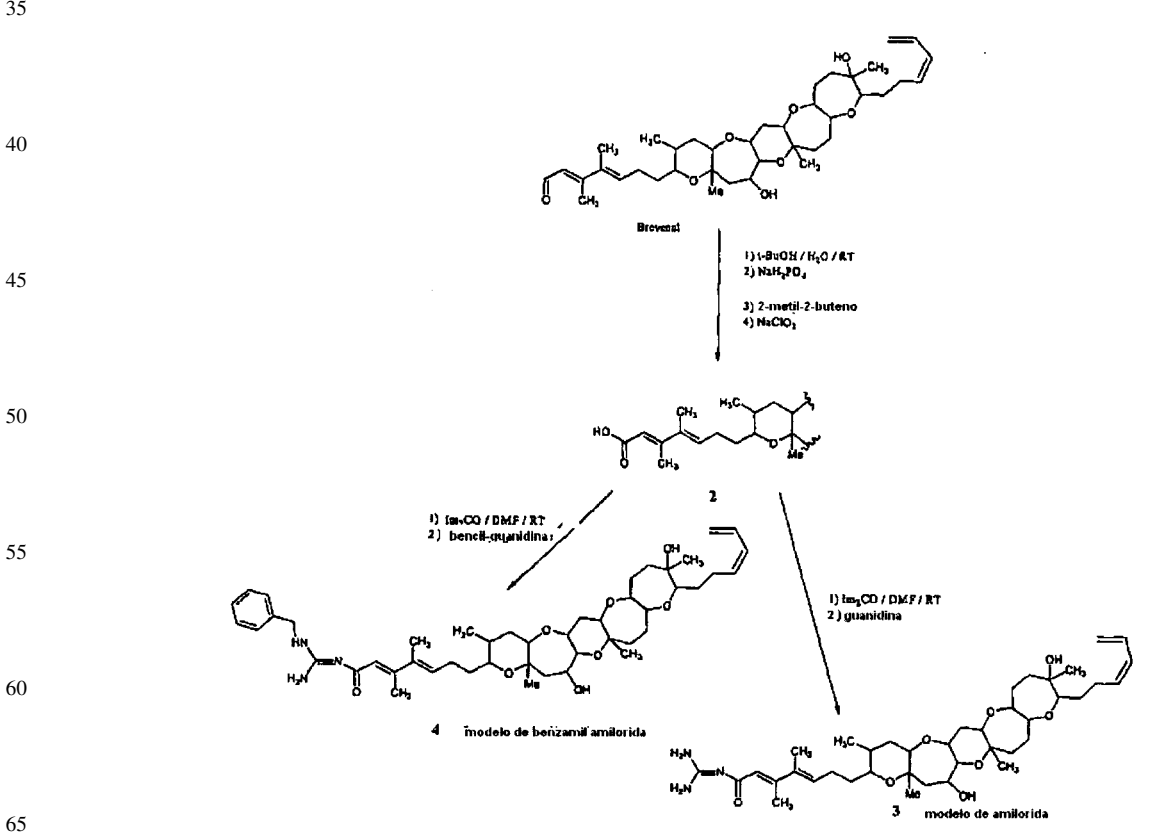


Funcionalización del brevenal con amilorida

25 La introducción de un resto de guanidina en la cadena lateral del brevenal se realiza de la siguiente forma. El brevenal se trata con clorito de sodio y dihidrogenofosfato de sodio en una mezcla de los disolventes terc-butanol/2-metil-2-buteno para producir el derivado de brevenal ácido 2 (esquema 2). El tratamiento de 2 con CDI en DMF seguido de adición de guanidina (base libre) o carbonato de guanidina proporciona el compuesto de guanidina 3.

Esquema 2

Introducción de guanidina en la cadena lateral de aldehído α,β no saturado del brevenal



ES 2 338 429 T3

Preparación de benzamil guanidina brevenal

La síntesis se realiza siguiendo esencialmente el mismo procedimiento descrito para la síntesis de 3 con la adición de benzamil guanidina en vez de guanidina (esquema 2). En forma alternativa, el brevenal se puede convertir en el cloruro de ácido correspondiente para efectuar la conversión a los derivados de guanidina.

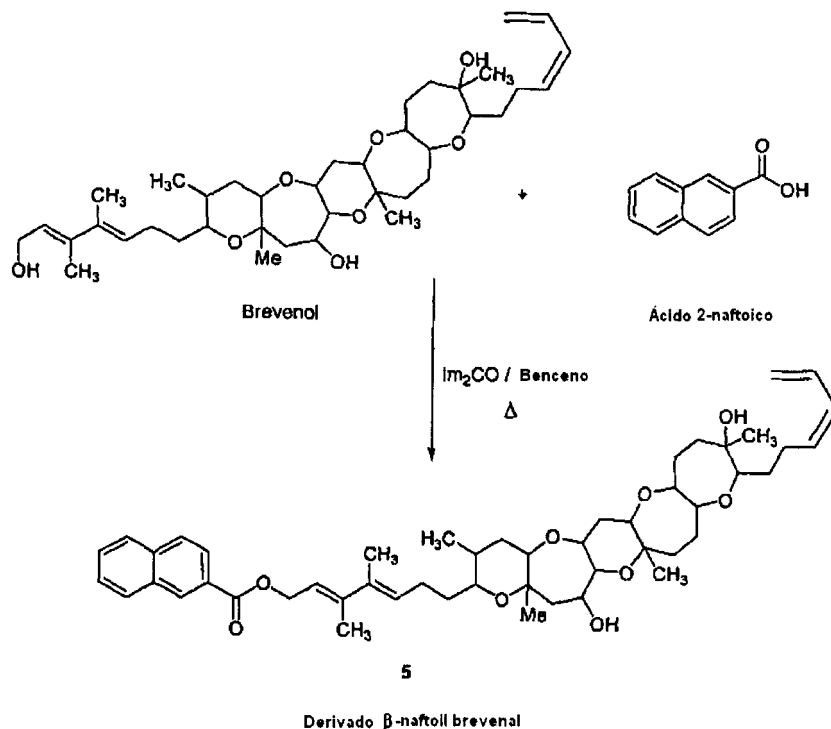
Ejemplo 2

10 β -Naftoil derivado

El β -naftoil brevenal se prepara de la siguiente manera. Una solución de carbonildiimidazol y ácido 2-naftoico en benceno se añade al brevenol y se somete a reflujo toda la noche para dar β -naftoil brevenal 5 (esquema 3).

Esquema 3

Síntesis del β -naftoil derivado



El brevenal se trata con borohidruro de sodio y cloruro de cerio en una mezcla de DMF/metanol. Después de una extracción en éter, el extracto bruto se purifica por HPLC para dar brevenol con buen rendimiento. De modo alternativo, el brevenal se puede convertir primero en el correspondiente ácido carboxílico y se hace reaccionar posteriormente con un alcohol apropiado para dar un éster.

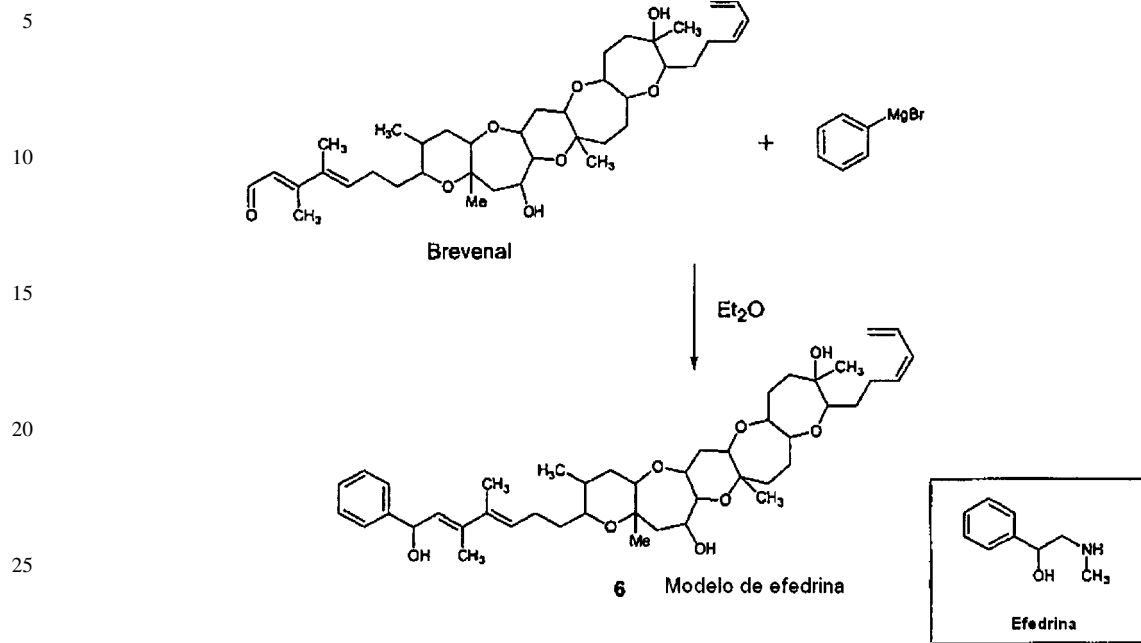
Ejemplo 3

Brevenal aromático

A. La introducción del resto hidroxibencilo se logra a través de una reacción de Grignard entre bromuro de fenilmagnesio y brevenal (esquema 4). La extracción seguida por purificación proporciona un aducto de efedrina del brevenal 6.

Esquema 4

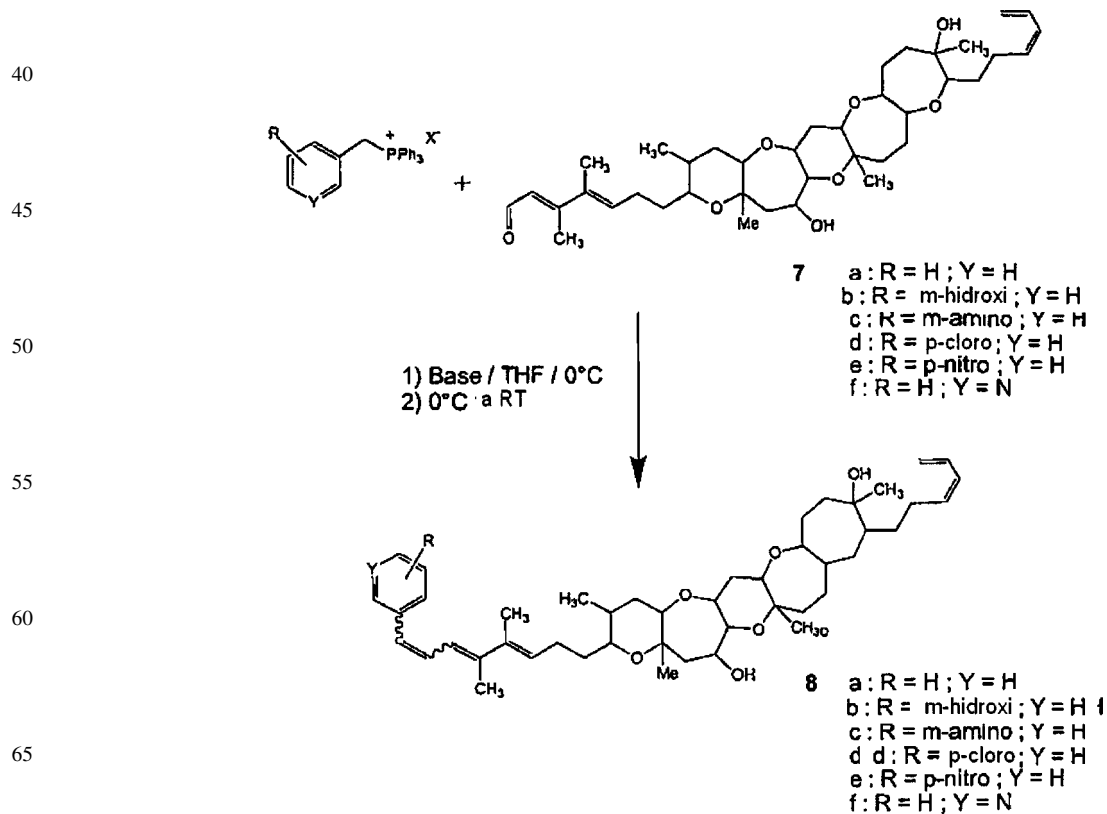
Síntesis de un modelo de efedrina de brevenal



30 B. Se puede usar una síntesis de un paso para preparar varios compuestos bencénicos. Usando una reacción de Wittig y fosforanos disponibles en el comercio, se pueden obtener varios derivados que involucran un grupo fenilo. En consecuencia, el tratamiento de los fosforanos 7a-7f con base seguida de la adición de brevenal suministra los correspondientes compuestos etilénicos 8a-8f (esquema 5). Los compuestos se pueden purificar adicionalmente por HPLC.

Esquema 5

Síntesis de derivados bencénicos



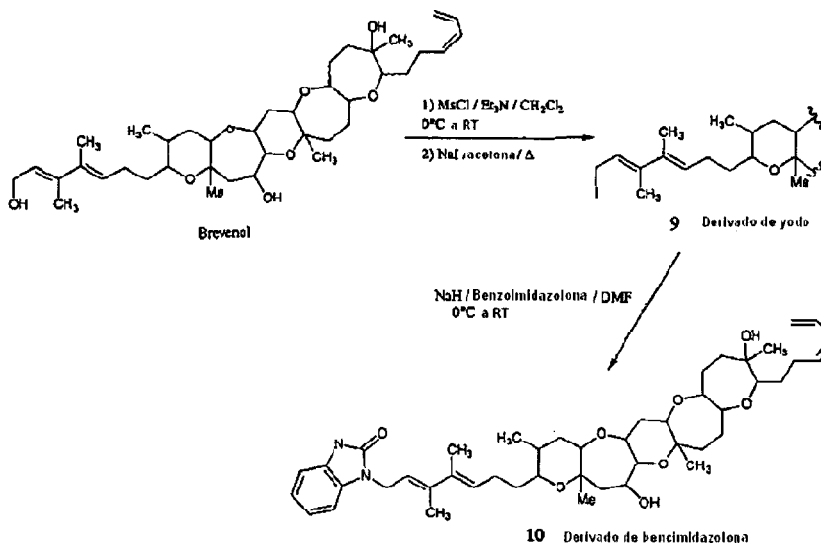
Ejemplo 4

Derivados de bencimidazolona

La síntesis comienza por la activación del brevenol a un mesilato intermediario seguido por el desplazamiento del mesilato por yoduro para dar el derivado yodo-brevenal 9 (esquema 6). El posterior tratamiento de la 1,3-dihidrobenzimidazol-2-ona disponible en el comercio con hidruro de sodio en DMF seguido por la adición del yodo-brevenal 9 suministra, después de la extracción y purificación, el derivado bencimidazolona-brevenal 10.

Esquema 6

Síntesis de un modelo de bencimidazolona de brevenal



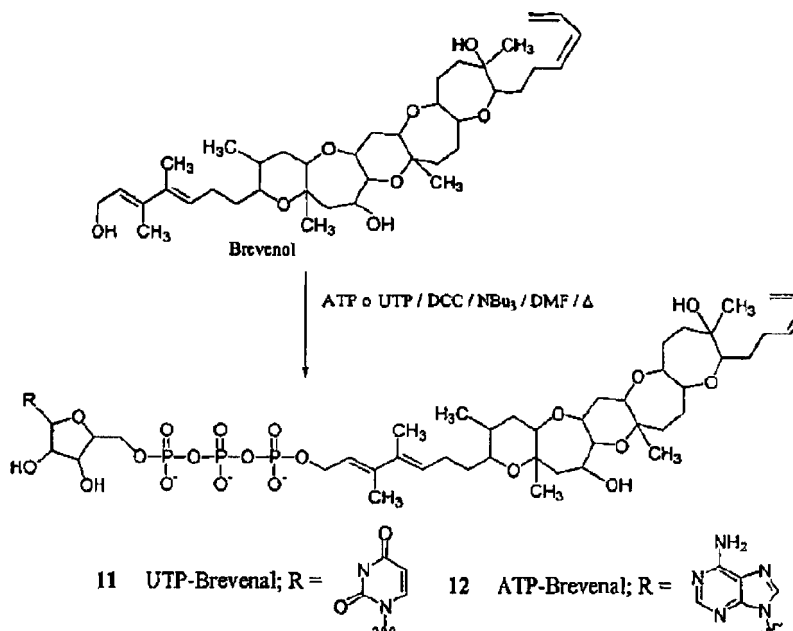
Ejemplo 5

Modelo nucleosídico del brevenal

Se tratan ATP o UTP con diciclohexilcarbodiimida en DMF para generar el resto reactivo que luego se adiciona al brevenol. La mezcla de reacción se calienta a reflujo y se extrae. La purificación del extracto bruto suministra los derivados nucleotídicos 11 y 12 (esquema 7).

Esquema 7

Síntesis de UTP- y ATP-brevenal



Ejemplo 6

Protocolos experimentales de mecánica respiratoria

5 *Medición de mecánica respiratoria* - Ovejas no sedadas se retienen en un carro en posición boca abajo con sus cabezas inmovilizadas. Después de la anestesia tópica de los conductos nasales con solución 2% de lidocaína, se hace avanzar un catéter de balón a través de una fosa nasal hasta el esófago inferior. Los animales se intuban con un tubo endotraqueal con manguito a través de la otra fosa nasal usando un broncoscopio de fibra óptica flexible. La presión pleural se estima con el catéter de balón esofágico (cargado con un ml de aire) que se ubica a 5-10 cm de la unión gastroesofágica. En esta posición la presión pleural espiratoria final varía entre -2 y -5 cm H₂O. Una vez que se coloca el balón, se sujeta de modo que se mantiene en posición durante el experimento. La presión lateral en la tráquea se mide con un catéter con orificio lateral (dimensión interna, 2,5 mm) que se hace avanzar a través de esta y se ubica en forma distal a la punta del tubo endotraqueal. Se mide la presión transpulmonar, la diferencia entre la presión traqueal y pleural, con un sistema de catéter transductor de presión diferencial que no muestra desplazamiento de fase entre la presión y el flujo hasta una frecuencia de 9 Hz. Para la medición de la resistencia pulmonar (R_L), el extremo proximal del tubo endotraqueal se conecta a un neumotacógrafo (Fleisch, Dyna Sciences, Blue Bell, PA). Las señales de flujo y de la presión transpulmonar se registran en un registrador de osciloscopio que está conectado a un ordenador para el cálculo en línea de R_L a partir de la presión transpulmonar, el volumen respiratorio (obtenido por integración digital) y el flujo por la técnica de iso-volumen. El análisis de 5-10 respiraciones se usa para la determinación de R_L (Abraham *et al.*, 1994).

20 *Sistemas de Administración en Aerosol* - Todos los aerosoles se generan usando un nebulizador médico desechable (Raindrop^o, Puritan Bennett, Lenexa, KS) que proporciona un aerosol con un diámetro aerodinámico medio de masa de 3,2 μm (SD geométrica 1,9) determinado por un impactador de cascada de Andersen. El nebulizador se conecta a un sistema de dosímetro, que consiste en una válvula solenoide y una fuente de aire comprimido (137,8 kPa). La salida del nebulizador se dirigió a un tubo en T de plástico, un extremo del cual se conecta al puerto inspiratorio de un respirador de Harvard. La válvula solenoide se activa durante un segundo en el comienzo del ciclo inspiratorio del respirador. Los aerosoles se administraron con un volumen de corriente de 500 ml y a un ritmo de 20 respiraciones por minuto (Abraham *et al.*, 1994).

30 *Respuesta de las vías respiratorias* - Para evaluar la respuesta de las vías respiratorias, realizamos curvas de dosis-respuesta acumulativas al carbacol midiendo la R_L inmediatamente después de la inhalación del tampón y después de cada administración consecutiva de 10 inspiraciones de concentraciones crecientes de carbacol (0,25, 0,5, 1,0, 2,0 y 4,0% p/v en solución salina tamponada). La prueba de provocación se interrumpe cuando la R_L aumenta por encima del 400% del valor pos-salina o después que se ha administrado la máxima concentración de carbacol. La respuesta de las vías respiratorias se estima determinando la dosis de carbacol acumulativa en unidades de aspiración (BU) que aumentan la R_L en 400% (PC400) por interpolación de la curva de dosis-respuesta. Una unidad de aspiración (BU) se define como 1 aspiración de una solución de aerosol que contiene 1% p/v de carbacol (Abraham *et al.*, 1994).

40 *Resistencia Respiratoria Nasal* - La resistencia respiratoria nasal (NAR) se mide con una técnica de rinomanometría con máscara modificada. La cabeza de la oveja se coloca en una campana de plexiglás con acoplamientos para una placa frontal que contiene un neumotacógrafo para medir el flujo y dos puertos de catéter para medir la presión diferencial entre la presión nasal y bucal (Abraham *et al.*, 1998).

45 *Velocidad del Moco Traqueal* - Las ovejas se intuban por vía nasal con un tubo endotraqueal de 7,5 cm de diámetro acortado a 6 cm, después de la anestesia tópica de los conductos nasales con solución 2% de lidocaína. El manguito del tubo se coloca exactamente debajo de las cuerdas vocales (verificado por fluoroscopia) a fin de permitir la máxima exposición del área de superficie traqueal. Se mide la TMV *in vivo* por una técnica roentgenográfica. Entre 10 y 20 discos radioopacos de Teflon/trióxido de bismuto, de 1 mm de diámetro, 0,8 mm de espesor y 1,8 mg de peso, se insuflan en la tráquea por medio del tubo endotraqueal. Las velocidades hacia adelante-axial de los discos individuales se registran en la videgrabadora de una unidad intensificadora de imagen portátil. Las velocidades de los discos individuales se calculan midiendo la distancia recorrida por cada disco durante un período de observación de 1 minuto. Para cada corrida, se calcula el valor medio de todas las velocidades individuales. Un collar que contiene marcadores de referencia radioopacos de longitud conocida es usado por la oveja, y se emplea como estándar para corregir los efectos de magnificación inherentes de la unidad de fluoroscopia (O'Riordan *et al.*, 1997).

55 *Análisis Estadístico* - Si los datos se distribuyen normalmente, entonces se usan parámetros estadísticos; si los datos no se ajustan a una distribución normal, se usa estadística no paramétrica. Las pruebas estadísticas básicas incluyen análisis de varianza (ANOVA), es decir ANOVA de una vía o ANOVA de dos vías con medidas repetidas para análisis multipunto, y prueba t no apareada o apareada para el análisis de punto único apropiado. Las homólogas no paramétricas de estas pruebas son: a) la prueba de Mann-Whitney, que es la homóloga de la prueba t no apareada; b) prueba de rangos con firma de Wilcoxon, la homóloga de la prueba t apareada; c) análisis de varianza de Friedman para muestras relacionadas, es decir diseño de bloque aleatorizado; d) la prueba de Quade, también una prueba de diseño en bloque aleatorizado pero para usar con bloques pequeños (n<4); e) la prueba de Kruskal-Wallis, ANOVA para muestras no relacionadas; y f) una comparación de pares no paramétricos, análoga a la prueba de pares paramétricos de Newman-Kuels.

ES 2 338 429 T3

Cuando corresponda, se realiza el análisis de regresión lineal por el procedimiento de cuadrados mínimos, y se analizarán las correlaciones con la prueba rho de Spearman. En todos los estudios, se acepta una significación con $p < 0,05$ en un análisis de dos colas (Conover, 1980).

5 Ejemplo 7

Bioensayo en peces

10 Se usaron peces mosquito machos ($n = 104$) en este ensayo. Los peces se colocaron en forma individual en vasos de precipitados de 50 ml que contenían 20 ml de agua. Los compuestos de ensayo (PbTx-2 y brevenal) se disolvieron en EtOH a una concentración de 0,1 mg/ml y se añadieron a los peces en un total de 200 μ l de EtOH. El pez control recibió 200 μ l de EtOH. Los peces se expusieron a la toxina sola (1 μ g/ml de agua), brevenal solo (1 o 2 μ g/ml de agua), o brevenal (1,0 μ g/ml de agua) y toxina (1,0 μ g/ml de agua), añadiéndose el brevenal 3 minutos antes de la toxina. Después de la adición de los diferentes compuestos se controlaron durante 24 horas o hasta el momento de la muerte. Se determinaron diferencias significativas usando una prueba de Student de dos vías.

15 Los peces expuestos a PbTx-2 sólo murieron dentro de aproximadamente 7,5 min., mientras que los peces expuestos al control o al brevenal a la dosis de 1 o 2 μ g/ml no murieron después de 24 horas. El brevenal protegió eficazmente a los peces desde una concentración igual de PbTx-2, prolongando la vida en ~2,5 veces (los peces murieron aproximadamente 17 minutos después de la exposición). Esto sugiere que el brevenal no es tóxico a las concentraciones efectivas para la actividad antagonista de la brevetoxina.

20 Ejemplo 8

25 Se realizaron ensayos competitivos de sinaptosoma de cerebro de rata como se describe en Poll *et al.*, 1986. Los datos muestran que la brevetoxina PbTx-2 tritiada fue efectivamente desplazada (~80%) por el brevenal y el di-O-Me brevenal cuando los compuestos se añadieron a aproximadamente 1000 veces la concentración de la PbTx-2 tritiada. Las EC_{50} aproximadas para cada uno son: 3,53 nM ($K_i = 1,76$ nM) para PbTx-2; 3,69 μ M ($K_i = 1,86$ μ M) para brevenal; 1,35 μ M ($K_i = 0,68$ μ M) para di-O-Me brevenal.

30 La invención se ha descrito con referencia a varias realizaciones y técnicas específicas y preferidas. Sin embargo, se debe entender que se pueden realizar muchas variaciones y modificaciones mientras que permanezcan dentro de las reivindicaciones.

35

40

45

50

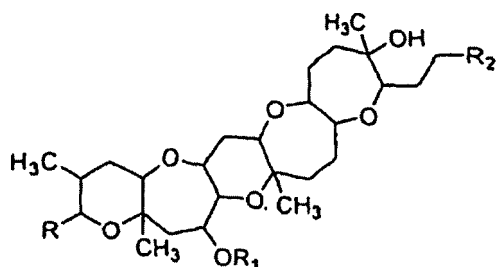
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la Fórmula:



en la que

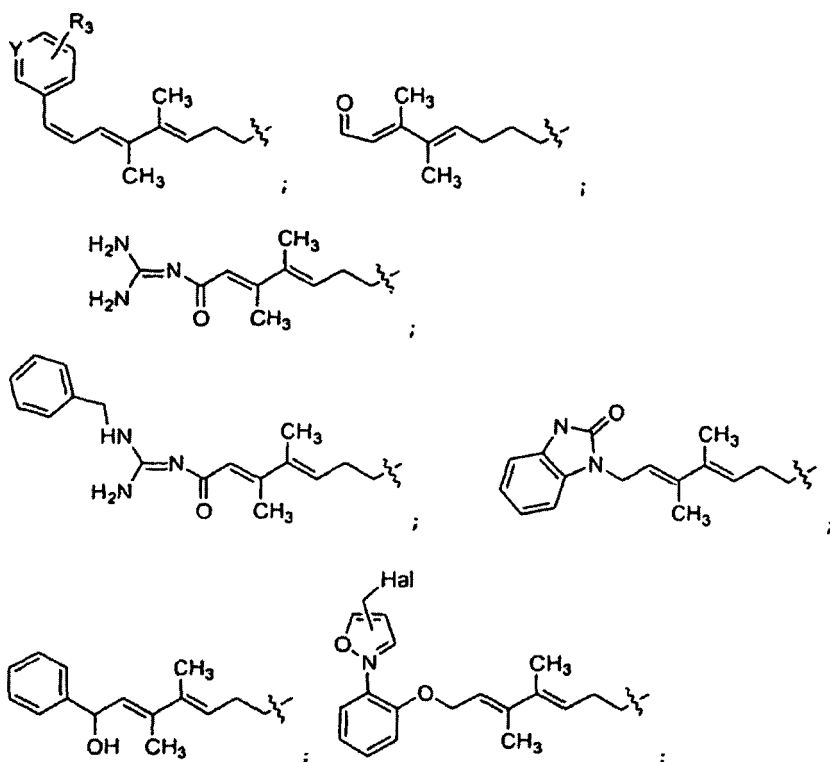
R es alquilo C₁-C₁₂, alqueno C₂-C₁₂, ésteres de alquilo C₁-C₁₂, alquil C₁-C₁₂ amidas, ésteres de alqueno C₉-C₁₂, ésteres de alquilarilo C₁-C₁₂, ésteres de alquenoarilo C₄-C₁₂, alqueno C₉-C₁₂ amidas, alcoxi C₁-C₁₂, formilalquilo C₁-C₁₂, formilalqueno C₂-C₁₂, alcanoilalquilo C₁-C₁₂, alcanoilalqueno C₂-C₁₂, carboxialquilo C₁-C₁₂, carboxialqueno C₂-C₁₂, en los que los grupos alquilo y alqueno están opcionalmente sustituidos con 1-6 grupos sustituyentes seleccionados del grupo que consiste en: cicloalquilo C₃-C₁₂ opcionalmente sustituido, heterociclilo C₃-C₁₂ opcionalmente sustituido, arilo opcionalmente sustituido, heteroarilo opcionalmente sustituido, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halógeno, alqueno C₂-C₆, OH, nucleósidos, nucleótidos, purinas, pirimidinas, ésteres aromáticos, ésteres de arilo, ésteres de cicloalquilo, ésteres de cicloalqueno, purinas o pirimidinas;

OR₁ es OH u -O(CO)CH₃;

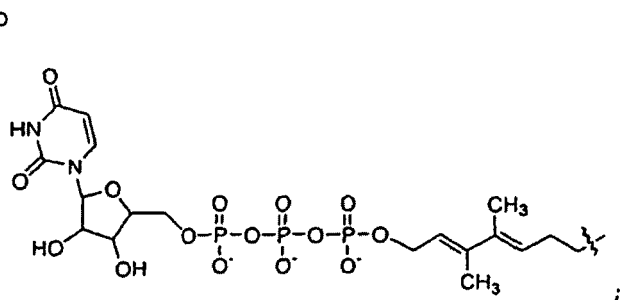
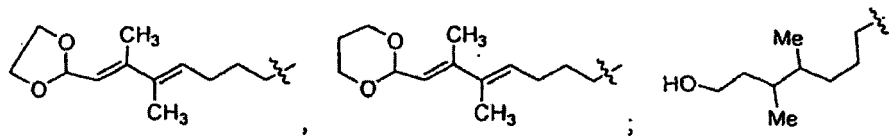
R₂ es -CH=CHCH=CH₂, -CH₂-fenilo o -CH₂-piridilo, en los que los grupos fenilo y piridilo está opcionalmente sustituidos en cada posición sustituible con un grupo que es de modo independiente alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, haloalquilo, haloalcoxi, hidroxilo, hidroxialquilo, halógeno, -CO₂H, alcoxi C₁-C₆-carbonilo, -C(O)NH₂, -C(O)NH(alquilo C₁-C₆) o -C(O)N(alquilo C₁-C₆)(alquilo C₁-C₆) o sus sales, solvatos, ésteres, amidas, hidratos farmacéuticamente aceptables, o sus combinaciones.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que

R es



ES 2 338 429 T3



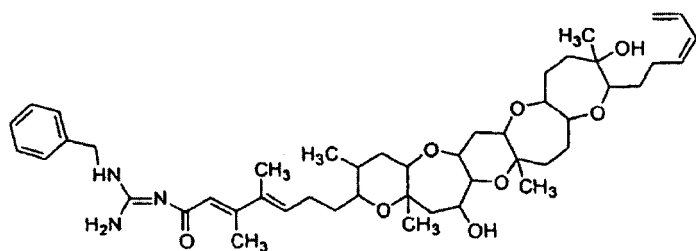
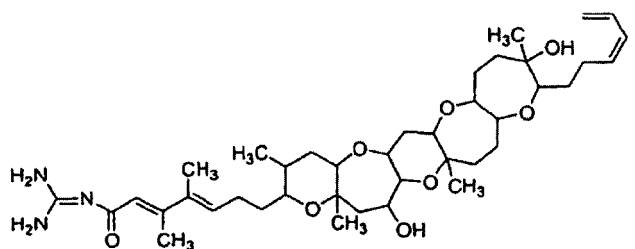
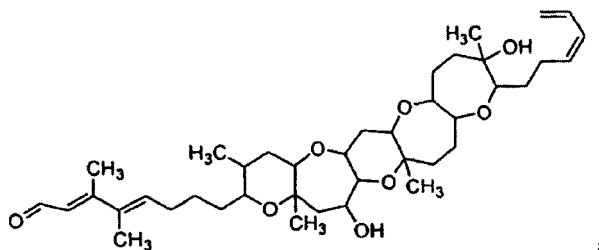
en el que

25 Hal es cloro, fluoro, yodo o bromo;

R₃ se selecciona de H, OH, NH₂, halógeno y NO₂, e

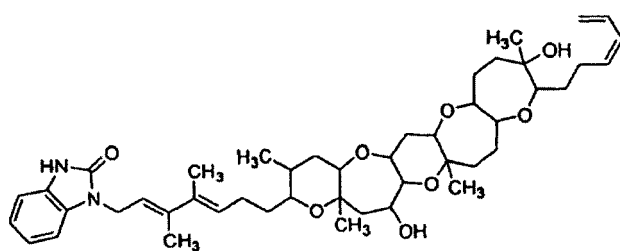
Y se selecciona de CH, N, O y S.

30 3. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:



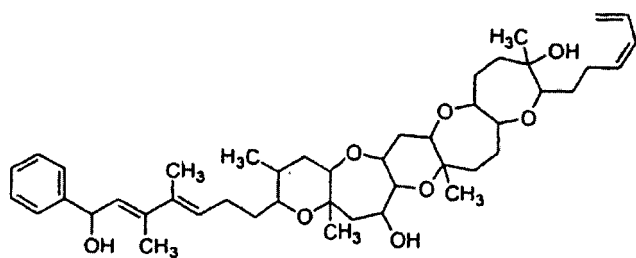
65

5



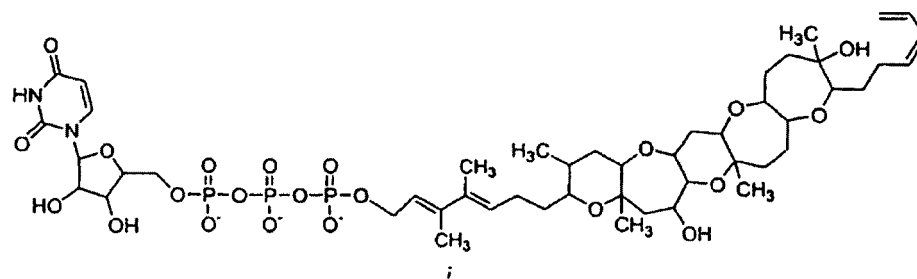
10

15



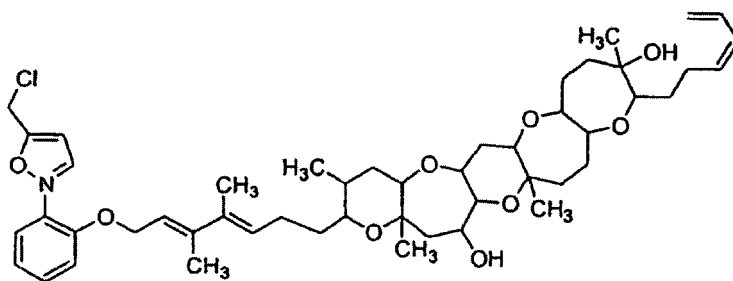
20

25



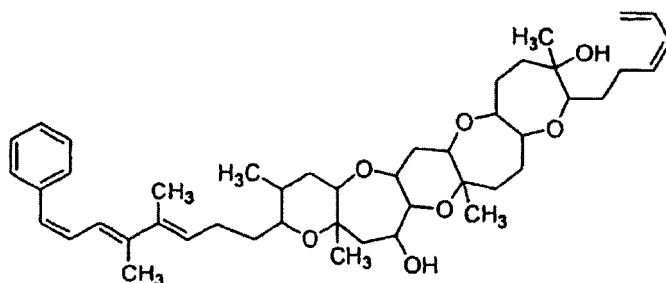
30

35



45

50

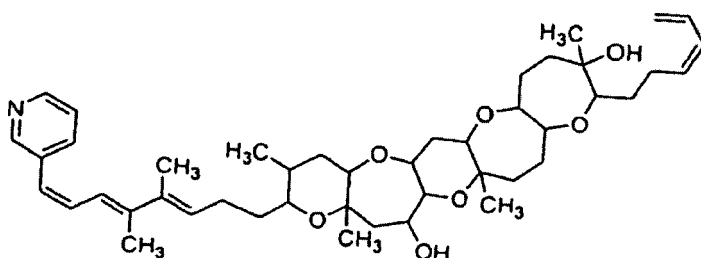
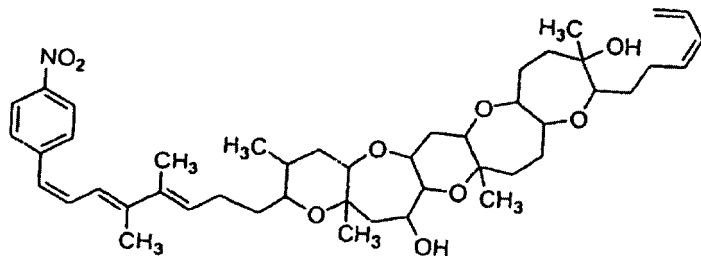
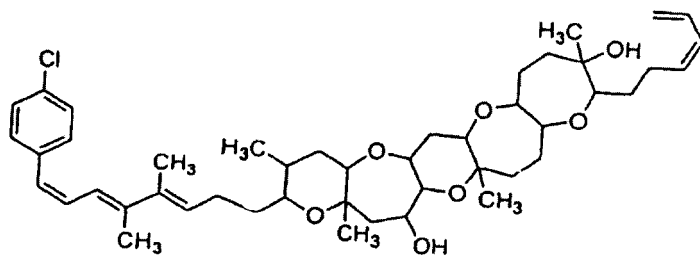
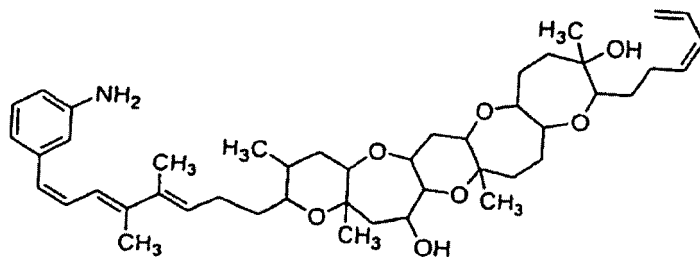
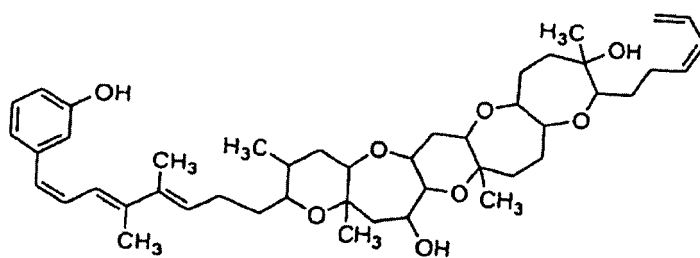


55

60

65

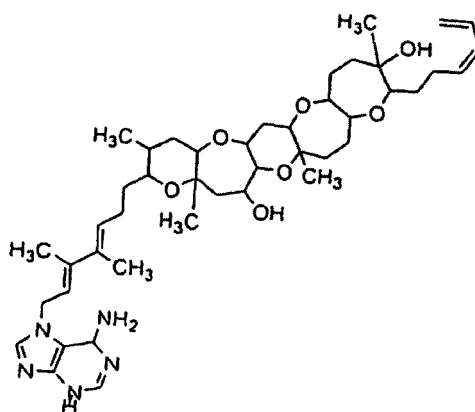
5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65



5

10

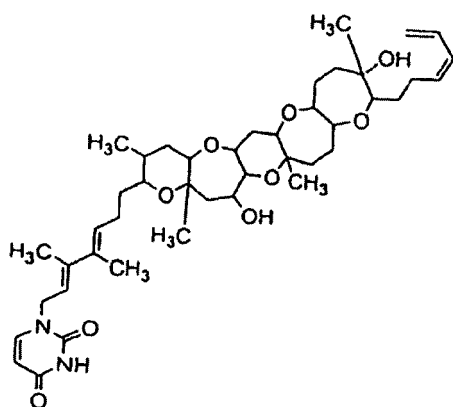
15



20

25

30



35

40

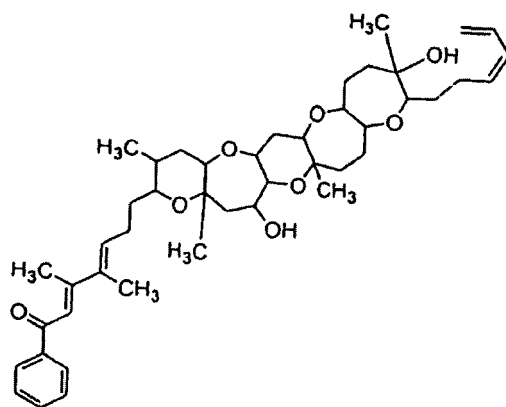
45

50

55

60

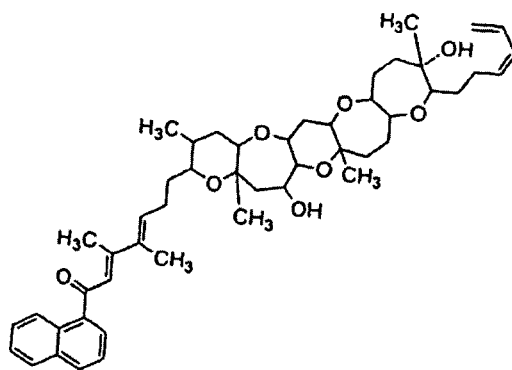
65



5

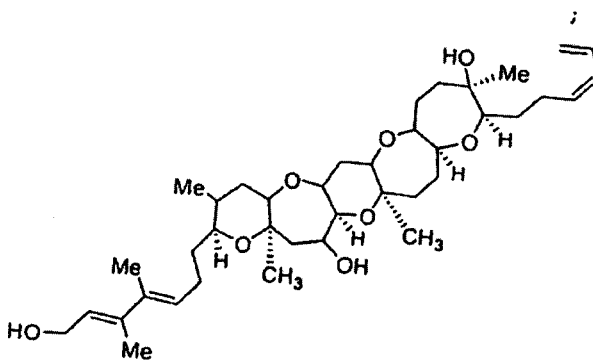
10

15



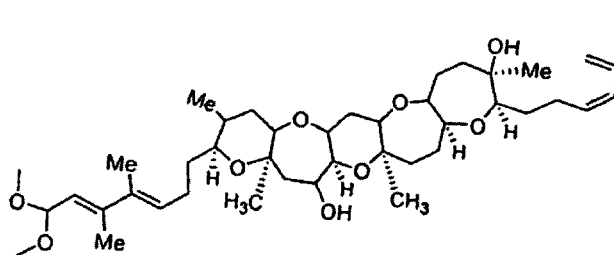
20

25



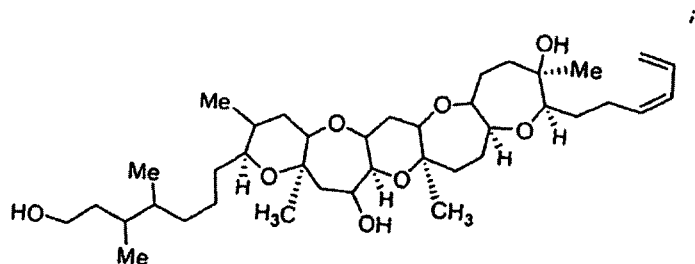
30

35



40

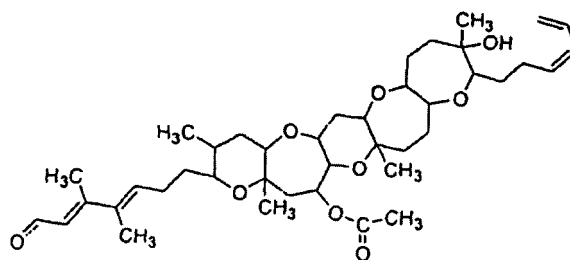
45



50

y

55



60

4. Una composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto, sal, solvato, hidrato, éster, amida o isómero farmacéuticamente aceptable de la reivindicación 1, y

al menos un vehículo, excipiente, disolvente, adyuvante, diluyente farmacéuticamente aceptable o mezclas de los mismos.

5. Una composición farmacéutica de la reivindicación 4, en la que la composición farmacéutica está en forma de dosificación unitaria y la forma de dosificación comprende de aproximadamente 1 pg a aproximadamente 100 mg de un compuesto de la reivindicación 1.

6. Uso de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la reivindicación 1 o una de sus sales, solvatos, hidratos, ésteres, amidas o isómeros farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para tratar la disfunción mucociliar en un individuo.

7. Uso de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la reivindicación 1 o una de sus sales, solvatos, hidratos, ésteres, amidas o isómeros farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para tratar, prevenir o tratar y prevenir enfermedades asociadas con la reducción de la depuración de moco en un mamífero.

8. Uso de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la reivindicación 1 o una de sus sales, solvatos, hidratos, ésteres, amidas o isómeros farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para tratar enfermedades asociadas con la reducción de la depuración de moco en un mamífero.

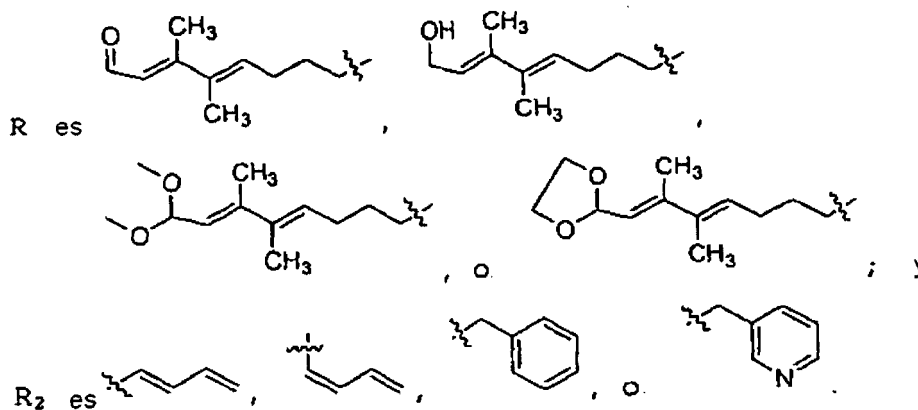
9. El uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la cantidad terapéuticamente efectiva se administra en una dosis entre aproximadamente 0,1 pg y aproximadamente 100 mg por día.

10. El uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el que la cantidad terapéuticamente efectiva comprende una dosis entre aproximadamente 0,1 mg y aproximadamente 10 mg por día.

11. Uso de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la reivindicación 1 o una de sus sales, solvatos, hidratos, ésteres, amidas o isómeros farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para tratar a un individuo que padece, o tiene riesgo aumentado de desarrollar enfermedad pulmonar obstructiva crónica, asma, enfermedad pulmonar, infección pulmonar o fibrosis quística.

12. Uso de una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto de la reivindicación 1 o una de sus sales, solvatos, hidratos, ésteres, amidas o isómeros farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para regular la depuración de moco en una célula.

13. Un compuesto de la reivindicación 1, en el que



14. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 13, en el que R₁ es H.

15. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, en el que R₂ es -CH=CHCH=CH₂.

16. Uso de una cantidad farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la reivindicación 1 o una de sus sales, solvatos, hidratos, ésteres, amidas o isómeros farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad industrial.

17. Uso de acuerdo con la reivindicación 16, en el que la enfermedad industrial está causada o agravada por la inhalación de gases, partículas de productos textiles, polvo u otras partículas o vapores industriales.

18. Uso de una cantidad farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la reivindicación 1 o una de sus sales, solvatos, hidratos, ésteres, amidas o isómeros farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para tratar una enfermedad o afección que resulta de la inhalación de partículas bacterianas u otras partículas patogénicas.

Efecto del Brevenal sobre la constricción inducida por PbTx-3

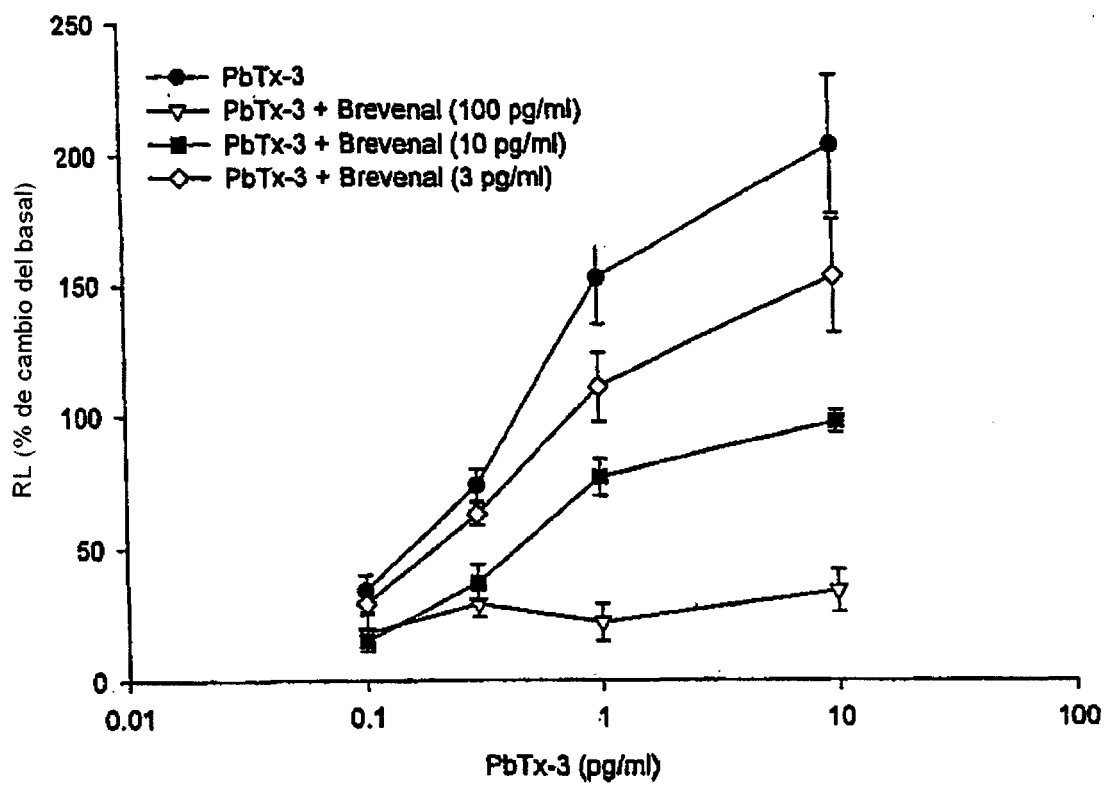


FIG 1

Efecto del Brevenal sobre la constricción inducida por PbTx-2

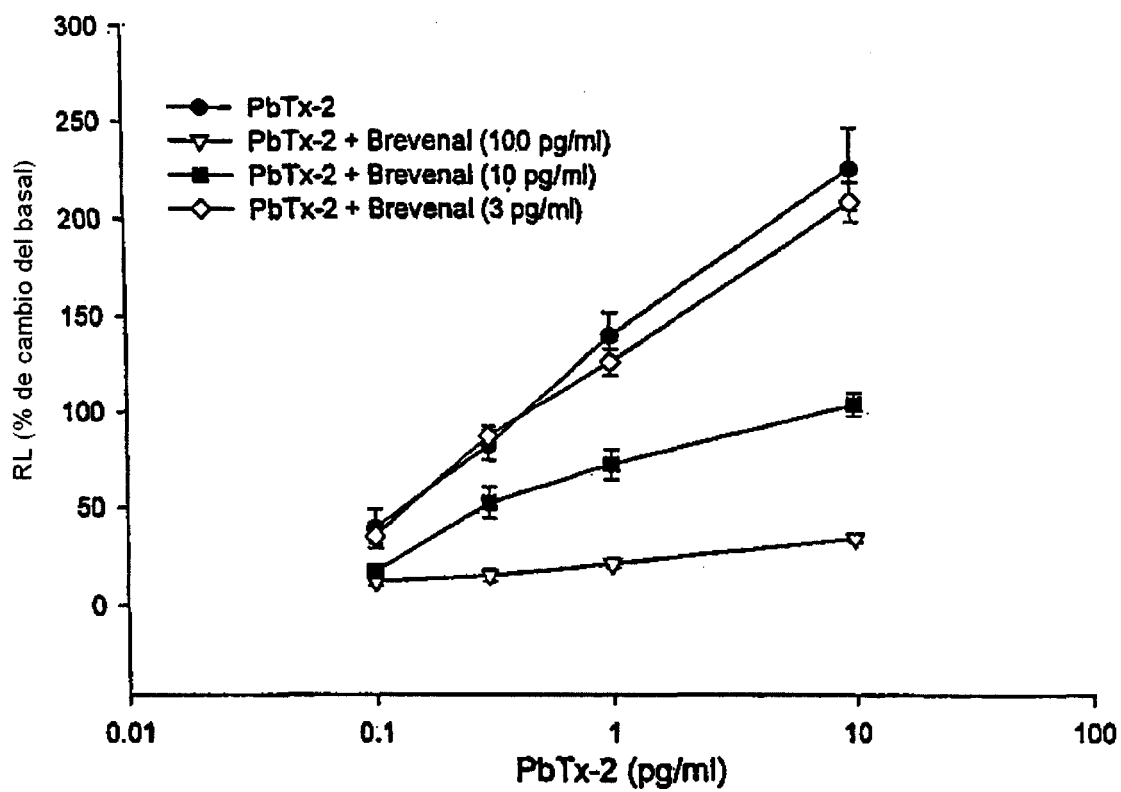


FIG 2

Efecto del Brevenal sobre la constricción inducida por hemi-Brevetoxina

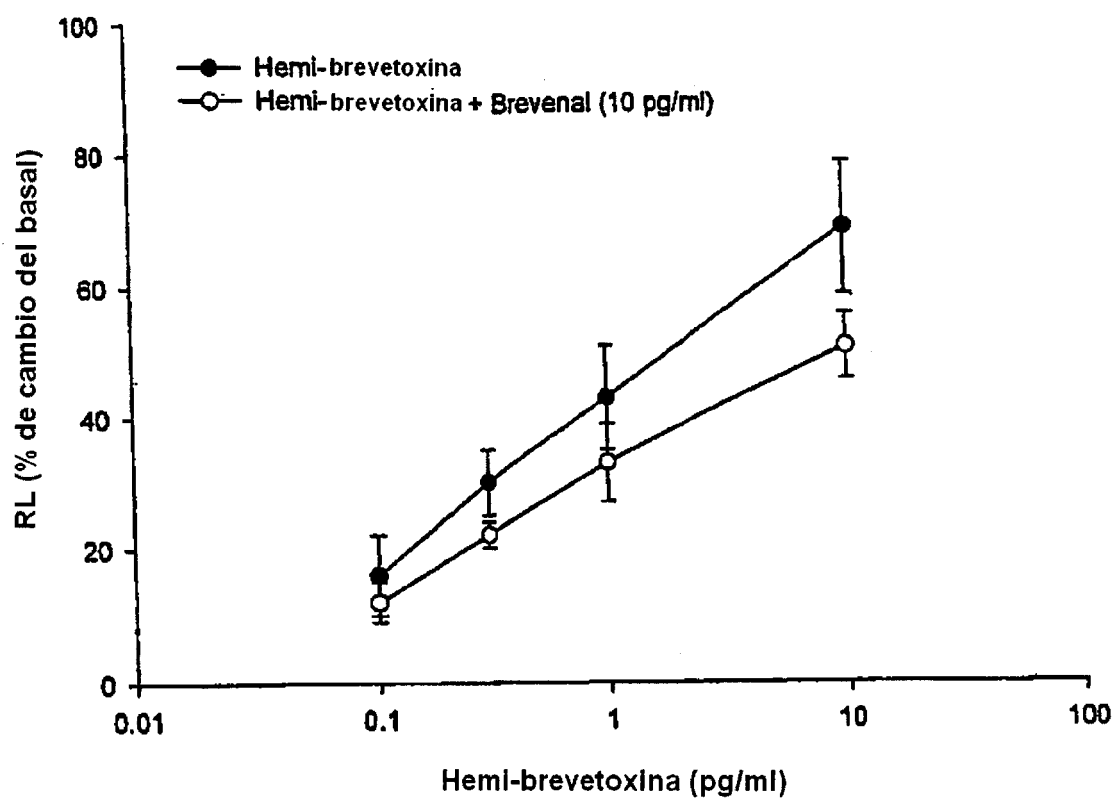


FIG 3

Efecto de antagonistas de toxina sobre la caída de TMV inducida por PbTx-3

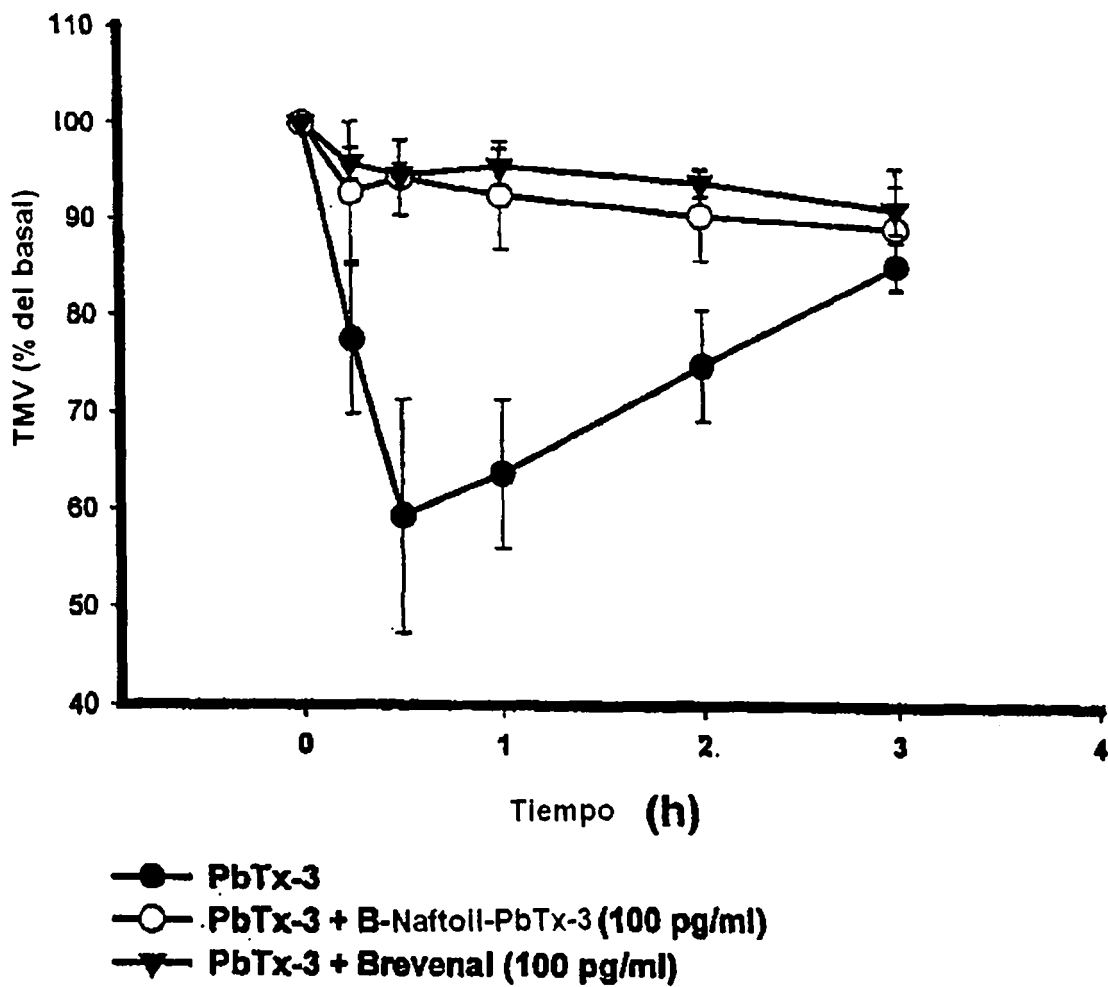


FIG 4

Efectos estimuladores de los antagonistas de toxina sobre TMV

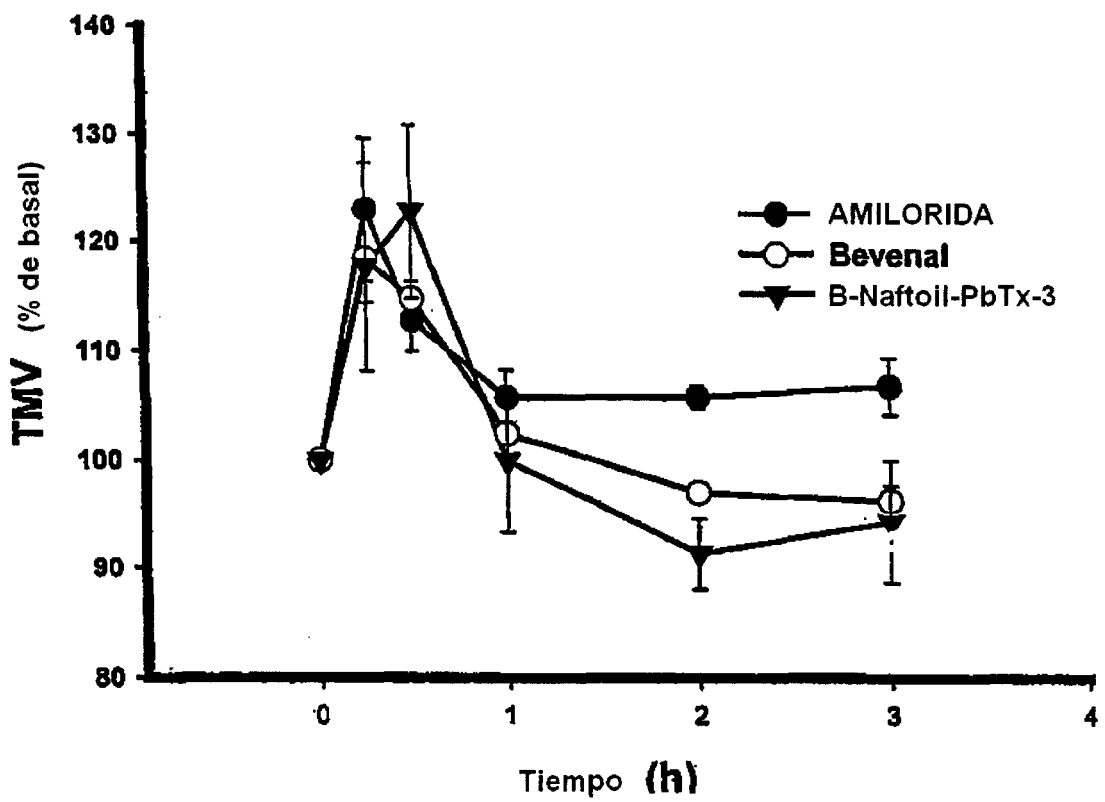


FIG 5