

(12) SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACIÓN  
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)

(19) Organización Mundial de la Propiedad  
Intelectual  
Oficina internacional



(43) Fecha de publicación internacional  
18 de Junio de 2009 (18.06.2009)

PCT

(10) Número de Publicación Internacional  
**WO 2009/074706 A1**

(51) Clasificación Internacional de Patentes:  
C07C 237/22 (2006.01) A61K 31/197 (2006.01)

(21) Número de la solicitud internacional:  
PCT/ES2008/070221

(22) Fecha de presentación internacional:  
27 de Noviembre de 2008 (27.11.2008)

(25) Idioma de presentación: español

(26) Idioma de publicación: español

(30) Datos relativos a la prioridad:  
P200703264  
10 de Diciembre de 2007 (10.12.2007) ES

(71) Solicitantes (para todos los Estados designados salvo US):  
**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CI-  
ENTIFICAS** [ES/ES]; C/ Serrano 117, E-28006 Madrid  
(ES). **UNIVERSIDAD AUTONOMA DE MADRID**  
[ES/ES]; Ciudad Universitaria de Cantoblanco, C/ Einstein  
nº 3, E-28049 Cantoblanco (Madrid) (ES).

(71) Solicitante e

(72) Inventor: **CONDE RUZAFÁ, Santiago** [ES/ES]; In-  
stituto De Química Médica (IQM), Juan de la Cierva 3,  
E-28006 Madrid (ES).

(72) Inventores; e

(75) Inventores/Solicitantes (para US solamente): **RO-  
DRIGUEZ FRANCO, María Isabel** [ES/ES]; Instituto  
De Química Médica (IQM), Juan de la Cierva 3, E-28006  
Madrid (ES). **ARCE GARCIA, Mariana Paula** [ES/ES];  
Instituto De Química Médica (IQM), Juan de la Cierva  
3, E-28006 Madrid (ES). **GONZALEZ MUÑOZ, Gema  
Cristina** [ES/ES]; Instituto De Química Médica (IQM),

Juan de la Cierva 3, E-28006 Madrid (ES). **VILLAR-  
ROYA SÁNCHEZ, Mercedes** [ES/ES]; Universidad  
Autonoma De Madrid, C/ Einstein nº 13, pabellon C,  
planta 2, E-28049 Cantoblanco (madrid) (ES). **GARCÍA  
LÓPEZ, Manuela** [ES/ES]; Universidad Autonoma De  
Madrid, C/ Einstein nº 13, pabellon C, planta 2, E-28049  
Cantoblanco (Madrid) (ES). **GARCIA GARCIA, An-  
tonio** [ES/ES]; Universidad Autonoma De Madrid, C/  
Einstein nº 13, pabellon C, planta 2, E-28049 Cantoblanco  
(madrid) (ES).

(74) Mandatario: **PONS ARIÑO, Angel**; Glorieta Ruben  
Dario 4, E-28010 Madrid (ES).

(81) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,  
para toda clase de protección nacional admisible): AE,  
AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR,  
BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK,  
DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP,  
KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME,  
MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ,  
OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK,  
SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG,  
US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Estados designados (a menos que se indique otra cosa,  
para toda clase de protección regional admisible): ARIPO  
(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ,  
UG, ZM, ZW), euroasiática (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD,  
RU, TJ, TM), europea (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK,  
EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV,  
MC, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF,  
BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN,  
TD, TG).

Publicada:  
— con informe de búsqueda internacional

(54) Title: NOVEL DICARBOXYLIC AMINO ACID DERIVATIVES AND THE USE THEREOF IN THE TREATMENT OF  
NEURODEGENERATIVE DISEASES

(54) Título: NUEVOS DERIVADOS DE AMINOACIDOS DICARBOXILICOS Y SU APLICACIÓN EN EL TRATAMIENTO  
DE ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS

(57) Abstract: The invention relates to products of general formula (I) and the use thereof for producing useful medicaments for  
treating neurodegenerative diseases such as Alzheimer's disease or, more generally, any disease or pathology caused by the alteration  
of the biological functions on which said products act.

(57) Resumen: Productos de fórmula general (I) y su uso en la manufactura de medicamentos útiles para el tratamiento de en-  
fermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer o, en general, cualquier enfermedad o patología producidas por  
alteración de las funciones biológicas sobre las que actúan dichos productos.

WO 2009/074706 A1

**NUEVOS DERIVADOS DE AMINOÁCIDOS DICARBOXÍLICOS Y SU APLICACIÓN EN EL TRATAMIENTO DE ENFERMEDADES NEURODEGENERATIVAS**

5

**SECTOR DE LA TÉCNICA**

La presente invención se incluye en el campo de la investigación e industria farmacéutica. En particular, se centra en la síntesis de nuevos derivados de aminoácidos dicarboxílicos y su aplicación para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas.

10

**ESTADO DE LA TÉCNICA**

El término demencia describe una alteración crónica o progresiva de funciones corticales o subcorticales del cerebro, con el resultado de fallos cognitivos más o menos complejos, normalmente acompañados de perturbaciones del estado general, comportamiento y personalidad. Muchas de las variaciones de las funciones cerebrales son procesos patológicos conocidos como enfermedades neurodegenerativas, EN en lo sucesivo, cuya característica común principal es la pérdida de neuronas en ciertas áreas del sistema nervioso central que varían según la EN de que se trate y están, en gran medida, relacionadas con la edad. En los últimos años, como consecuencia de la mejora en las condiciones higiénicas y sanitarias, la esperanza de vida ha aumentado de manera espectacular (Eurostat Pocketbooks. Living conditions in Europe. Data 2002-2005. 2007 edition.), trayendo consigo la indeseada consecuencia de un aumento de las EN y demencias seniles. Entre estas, la enfermedad de Alzheimer, EA en lo sucesivo, es la EN más común, responsable de aproximadamente dos tercios del total de casos de demencia (variando entre 42 y 81% según distintos estudios), con una prevalencia muy relacionada con la edad, que se aproxima al 50% en la población mayor de 85 años (*N. Engl. J. Med.* **2003**, 348, 1356-1364).

15

20

25

30

Hasta la fecha, y pese a la gran cantidad de esfuerzo y dinero invertidos, aun no se conoce que mecanismo o mecanismos son los desencadenantes de los distintos procesos (progresiva desaparición de tejido neuronal, agregación del péptido beta amiloide, hiperfosforilación de la proteína tau, procesos oxidativos e inflamatorios, mutación de ciertos genes, etc.) que componen la patología de EA, existiendo varias hipótesis que relacionan varios de estos procesos entre si. Lo que sí parece probado es que la EA es consecuencia de la combinación de mas de uno de estos procesos patológicos, y que la formación aberrante de agregados del péptido amiloide (oligómeros y protofibrillas hasta las placas seniles) junto con procesos oxidativos incontrolados se encuentra muy en el origen de la patología de la EA (*Pharmacol. Sci.* **1991**, *12*, 383-388).

Igualmente, en la EA y otras EN se producen una serie de fallos cognitivos debidos a la disminución de niveles de los neurotransmisores que dan lugar a la transmisión sináptica. En el caso de la EA es especialmente significativo el fallo de la neurotransmisión colinérgica, con niveles de acetilcolina (ACh en lo sucesivo) fuertemente disminuidos (*Clin. Neuropharmacol.* **2004**, *27*, 141-149).

Se conoce además que la acetilcolinesterasa (AChE en lo sucesivo) ejerce una doble función biológica pues, además de ser responsable de la hidrólisis de ACh en su centro catalítico, favorece la agregación del péptido amiloide hacia especies neurotóxicas mediante actividad centrada en un sitio aniónico periférico situado a la entrada de la garganta que conduce al centro catalítico (*FEBS Lett.* **2005**, *579*, 5260-5264).

Ante esta situación, y sabiendo que la pérdida masiva de neuronas es prácticamente irreversible, resulta obvia la conveniencia de disponer de fármacos capaces de actuar en las primeras fases de la enfermedad o, mejor aun, que produzcan una actividad neuroprotectora capaz de detener el avance de la enfermedad al aparecer los primeros síntomas e incluso antes, en un caso ideal, si se dispusiera de un sistema de diagnóstico precoz adecuado. Asimismo, y teniendo en cuenta los diferentes procesos

que componen la patología de la EA, sería muy deseable que esas moléculas fueran capaces de actuar sobre más de una diana terapéutica como, por ejemplo, inhibir la AChE con la consiguiente mejora de la neurotransmisión colinérgica y por tanto, alivio de los fallos cognitivos; 5 inhibir la agregación de péptido amiloide que tendría el efecto de hacer mas lento el progreso de la enfermedad, o reducir el llamado estrés oxidativo que se produce como consecuencia de la pérdida del equilibrio entre las especies oxidantes generadas por el metabolismo cerebral y los mecanismos protectores antioxidantes. Son los llamados fármacos o 10 drogas de acción multifuncional.

## DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

### Descripción breve

El objeto de esta invención se refiere a nuevos compuestos, 15 derivados de aminoácidos dicarboxílicos hasta ahora no descritos en la literatura científica, que presentan en una sola molécula una o mas actividades biológicas que los convierten en productos potencialmente útiles para el tratamiento de EN, y en particular de la EA.

### 20 Descripción detallada

La presente invención se basa en que los inventores han sintetizado una familia de nuevos compuestos, de fórmula general I, hasta ahora no descritos. Estos nuevos compuestos, sometidos a evaluación farmacológica, han presentado interesantes actividades biológicas:

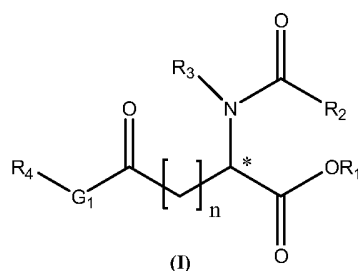
- 25 • Antioxidación y neuroprotección.
- Inhibición de AChE.
- Desplazamiento de yoduro de propidio del sitio aniónico periférico de la enzima acetilcolinesterasa
- Penetración en el sistema nervioso central.

30 Así pues, son productos potencialmente útiles como agentes terapéuticos. Los resultados obtenidos muestran que nos hallamos ante

una familia de productos con acción multifuncional, tal como han sido descritos anteriormente.

Por lo tanto, en un primer aspecto, la presente invención se refiere a los mismos productos de fórmula general (I):

5



donde:

10  $R_1$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo arilo o heteroarilo, alquilo, haloalquilo, aminoalquilo, amonioalquilo y, en general, grupos alquilo lineales o ramificados, sustituidos por cualquier grupo químico.

15  $R_2, R_3$  representa un átomo de hidrógeno o grupos arilo o heteroarilo, alquilo lineales o ramificados, insustituidos o sustituidos con cualquier grupo químico, carbamatos en los que  $R_2$  representa –O-arilos u –O-alquilo, lineales o ramificados, insustituidos o sustituidos por cualquier grupo químico, derivados de urea en los que  $R_2$  representa –NH-arilos o –NH-alquilo, lineales o ramificados, insustituidos o sustituidos por cualquier grupo químico, imidas. En general, cualquier grupo químico capaz de generar la molécula representada en la fórmula general I.

20  $n$  tiene el valor 1 o 2.

25 \* señala el carbono quiral del aminoácido, y puede ser el enantiómero *R*, el enantiómero *S*, o la mezcla en cualquier proporción de ambos enantiómeros.

G<sub>1</sub> representa O, N mono o disustituido, CH<sub>2</sub>, S o, en general, cualquier grupo o estructura química que pueda utilizarse como unión entre el aminoácido y R<sub>4</sub>.

R<sub>4</sub> representa cualquier estructura química combinación de grupos alquilo, arilo o heteroarilo, sustituidos o insustituidos.

o un isómero, sal farmacéuticamente aceptable y/o solvato del mismo.

En un segundo aspecto, la presente invención se refiere al uso de los compuestos representados con la fórmula general (I) en la elaboración de un medicamento o composición farmacéutica con actividad neuroprotectora, útiles para el tratamiento de patologías o enfermedades neurodegenerativas o, en general, de enfermedades susceptibles de beneficiarse de las actividades biológicas mostradas por los productos descritos en la presente invención, o bien de una sal, derivado, profármacos o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

Los compuestos de la invención pueden estar en forma cristalina como compuestos libres o como solvatos y se pretende que ambas formas están dentro del alcance de la presente invención. En este sentido, el término "solvato", tal como aquí se utiliza, incluye tanto solvatos farmacéuticamente aceptables, es decir, solvatos del compuesto de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como solvatos farmacéuticamente no aceptables, los cuales pueden ser útiles en la preparación de solvatos o sales farmacéuticamente aceptables. La naturaleza del solvato farmacéuticamente aceptable no es crítica, siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable. En una realización particular, el solvato es un hidrato. Los solvatos pueden obtenerse por métodos convencionales de solvatación bien conocidos por los técnicos en la materia.

Para su aplicación en terapia, los compuestos de fórmula (I), sus isómeros, sales, profármacos o solvatos, se encontrarán, preferentemente, en una forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura, es decir, que tiene un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable

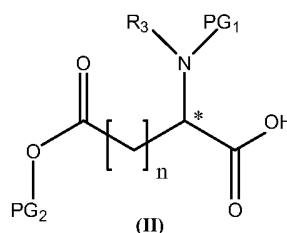
excluyendo los aditivos farmacéuticos habituales tales como diluyentes y portadores, y no incluyendo materiales considerados tóxicos a niveles de dosificación normales. Los niveles de pureza para el principio activo son preferiblemente superiores al 50%, más preferiblemente superiores al 70%, más preferiblemente superiores al 90%. En una realización preferida, son superiores al 95% del compuesto de fórmula (I), o de sus sales, solvatos o profármacos.

A menos que se indique lo contrario, los compuestos de la invención también incluyen compuestos que difieren sólo en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, compuestos que tienen dicha estructura, a excepción de la sustitución de un hidrógeno por un deuterio o por tritio, o la sustitución de un carbono por un carbono enriquecido en  $^{13}\text{C}$  o  $^{14}\text{C}$  o un nitrógeno enriquecido en  $^{15}\text{N}$ , están dentro del alcance de esta invención.

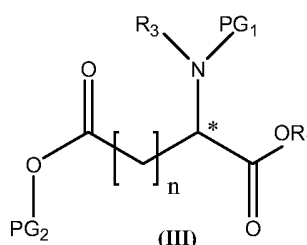
Los compuestos descritos en la presente invención, sus sales farmacéuticamente aceptables, profármacos y/o solvatos así como las composiciones farmacéuticas que los contienen pueden ser utilizados junto con otros fármacos adicionales para proporcionar una terapia de combinación. Dichos fármacos adicionales pueden formar parte de la misma composición farmacéutica o, alternativamente, pueden ser proporcionados en forma de una composición separada para su administración simultánea o no a la de la composición farmacéutica que incluye un compuesto de fórmula (I), o un profármaco, solvato, derivado o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

Los compuestos de la presente invención de fórmula (I) pueden ser obtenidos o producidos mediante una vía sintética química u obtenidos a partir de una materia natural de distinto origen. En otro aspecto de la presente invención se describe un procedimiento de obtención de los compuestos de la invención de fórmula (I) o un isómero, sal farmacéuticamente aceptable y/o solvato del mismo caracterizado por las siguientes etapas:

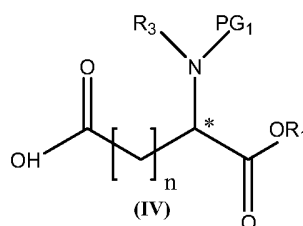
a) reacción de un producto de fórmula (II)



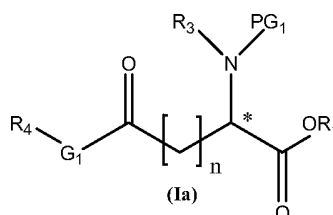
5 en el que PG<sub>1</sub> representa un grupo protector de grupos hidroxilos y PG<sub>2</sub> representa un grupo protector de grupos amino y un alcohol de fórmula R<sub>1</sub>-OH en un disolvente anhidro para obtener los compuestos de fórmula (III)



10 b) desprotección del grupo hidroxilo en los compuestos de fórmula (III) mediante la eliminación del grupo protector de grupos hidroxilos PG<sub>2</sub> para dar el compuesto de fórmula (IV)



15 c) reacción del compuesto de fórmula (IV) con un compuesto de fórmula H-G<sub>1</sub>-R<sub>4</sub> en presencia de un agente de condensación para dar los compuestos de fórmula (Ia)



opcionalmente la hidrólisis del compuesto (Ia) en el que R<sub>2</sub> es un grupo *tert*-butiloxicarbonilo por tratamiento con un ácido fuerte y posterior



acilación del producto resultante por reacción con un cloruro de ácido de fórmula  $R_2COCl$  o con un anhídrido de fórmula  $(R_2CO)_2O$  en un disolvente apolar anhídrido.

5 En una ejecución particular de la presente invención en los compuestos de fórmula (I)  $R_1$  es un grupo alquilo  $C_2-C_8$  lineal o ramificado, preferiblemente un grupo alquilo  $C_5-C_7$  lineal, más preferiblemente un grupo n-hexilo.

10 En otra ejecución de la presente invención en los compuestos de fórmula (I)  $R_3$  es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo  $C_1-C_3$ , más preferiblemente un átomo de hidrógeno.

15 En otra ejecución de la presente invención en los compuestos de fórmula (I) el grupo  $G_1$  es un grupo amino opcionalmente sustituido con 1 o 2 grupos alquilo  $C_1-C_3$ , más preferiblemente un grupo  $-NH-$ .

En todavía otra ejecución de la presente invención en los compuestos de fórmula (I)  $n$  tiene el valor de 2.

20

Es asimismo una ejecución de la presente invención aquella en que en los compuestos de fórmula (I)  $R_4$  representa un grupo piperidin-4-il-etilo opcionalmente sustituido, preferiblemente un grupo piperidin-4-il-etilo que está sustituido en su átomo de nitrógeno con un grupo arilalquilo, 25 preferiblemente un grupo bencilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 grupos seleccionados de  $C_1-C_3$  alquilo,  $C_1-C_3$  alcoxi, ciano, nitro y átomos de halógeno, más preferiblemente un grupo bencilo no sustituido.

Los siguientes compuestos son ejemplos de compuestos según la presente invención:

30 • Ester n-hexílico del ácido 2-Benciloxicarbonilamino-4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-butírico

- Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-Bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-*terc*-butoxicarbonilamino-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 2-Benzoilamino-4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-butírico
- 5 • Ester n-hexílico del ácido 2-[(Benzo[b]tiofen-2-carbonil)-amino]-4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[2-(6-cloro-benzo[b]thiophen-2-il)-acetilamino]-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(tieno[2,3-b]piridin-2-carbonil)-amino]-butírico
- 10 • Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(tieno[2,3-b]tiofen-2-carbonil)-amino]-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(tiofen-2-carbonil)-amino]-butírico
- 15 • Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(4-bromo-tiofen-2-carbonil)-amino]-butírico

donde Gln significa glutamina, es decir, la 5-amida del ácido glutámico (2-aminopentanodioico) y Hex significa el grupo hexilo, siendo todos los demás nombres de grupos habituales en química orgánica.

20 Otro objeto adicional de la presente invención lo constituye una composición farmacéutica útil para el tratamiento de patologías o enfermedades neurodegenerativas o, en general, de enfermedades susceptibles de beneficiarse de las actividades biológicas mostradas por los productos descritos en la presente invención, en adelante composición

25 farmacéutica de la invención, que comprende un compuesto, en cantidad terapéuticamente efectiva, de fórmula (I), o mezclas de los mismos, una sal, profármaco, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable, para la administración a un paciente.

30 Otro objeto particular de la invención lo constituye el uso de la composición farmacéutica de la invención para el tratamiento o prevención

de una enfermedad neurodegenerativa tal como : enfermedad de Alzheimer, Creutzfeldt-Jakob, Parkinson o Huntington, la demencia con cuerpos de Lewy o, en general, las enfermedades susceptibles de beneficiarse de las actividades biológicas mostradas por los productos descritos en la presente invención.

Otro objeto particular de la invención lo constituye la composición farmacéutica de la invención en la que el compuesto de fórmula (I) es un compuesto, o mezcla de compuestos, perteneciente, a título ilustrativo y sin que limite el alcance de la invención, al siguiente grupo:

- 10 • Ester n-hexílico del ácido 2-Benciloxycarbonilamino-4-[2-(1-bencilpiperidin-4-il)-etilcarbamoil]-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-Bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-*terc*-butoxicarbonilamino-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 2-Benzoilamino-4-[2-(1-bencilpiperidin-4-il)-etilcarbamoil]-butírico
- 15 • Ester n-hexílico del ácido 2-[(Benzo[b]tiofen-2-carbonil)-amino]-4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[2-(6-cloro-benzo[b]thiophen-2-il)-acetilamino]-butírico
- 20 • Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(tieno[2,3-b]piridin-2-carbonil)-amino]-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(tieno[2,3-b]tiofen-2-carbonil)-amino]-butírico
- 25 • Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(tiofen-2-carbonil)-amino]-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(4-bromo-tiofen-2-carbonil)-amino]-butírico

30 Los adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden ser utilizados en dichas composiciones son los adyuvantes y

vehículos conocidos por los técnicos en la materia y utilizados habitualmente en la elaboración de composiciones terapéuticas.

En el sentido utilizado en esta descripción, la expresión “cantidad terapéuticamente efectiva” se refiere a la cantidad del agente o compuesto capaz de desarrollar la acción terapéutica determinada por sus propiedades farmacológicas, calculada para producir el efecto deseado y, en general, vendrá determinada, entre otras causas, por las características propias de los compuestos, incluyendo la edad, estado del paciente, la severidad de la alteración o trastorno, y de la ruta y frecuencia de administración.

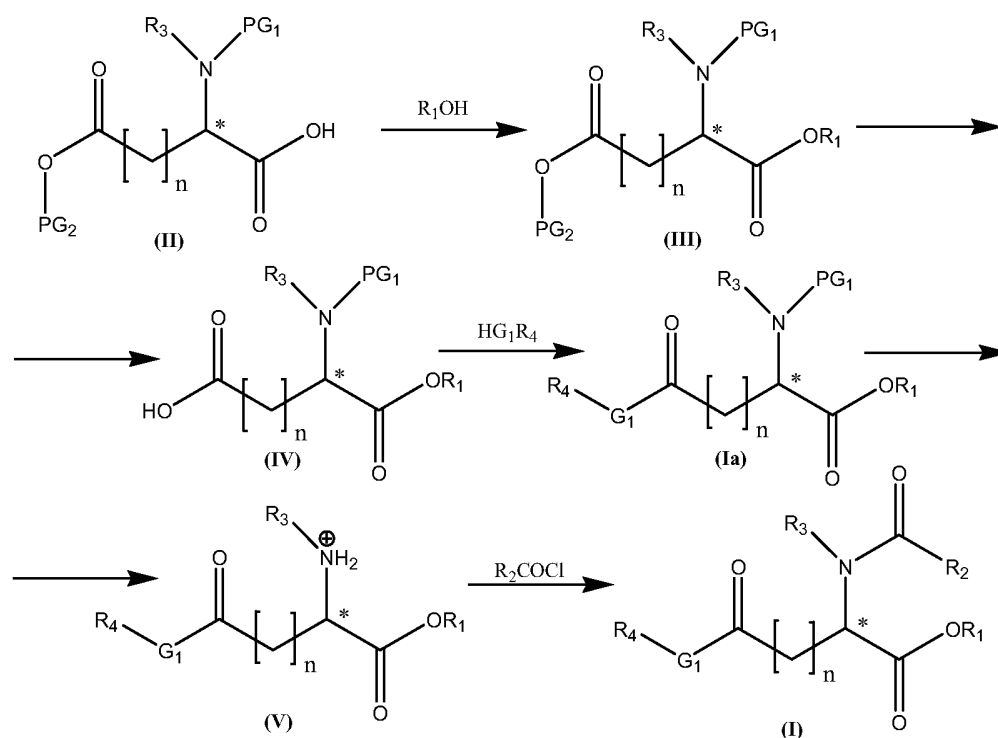
En otra realización particular, dicha composición terapéutica se prepara en forma de una forma sólida o suspensión acuosa, en un diluyente farmacéuticamente aceptable. La composición terapéutica proporcionada por esta invención puede ser administrada por cualquier vía de administración apropiada, para lo cual dicha composición se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida. En una realización particular, la administración de la composición terapéutica proporcionada por esta invención se efectúa por vía oral, tópica, rectal o parenteral (incluyendo subcutánea, intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, intravenosa, etc.). Una revisión de las distintas formas farmacéuticas de administración de medicamentos y de los excipientes necesarios para la obtención de las mismas puede encontrarse, por ejemplo, en el “Tratado de Farmacia Galénica”, C. Faulí i Trillo, 1993, Luzán 5, S.A. Ediciones, Madrid, u en otros habituales o similares de la Farmacopeas Española y en Estados Unidos.

El uso de los compuestos de la invención es compatible con su uso en protocolos en que los compuestos de la fórmula (I), o sus mezclas se usan por sí mismos o en combinaciones con otros tratamientos o cualquier procedimiento médico.

En otro aspecto, esta patente presenta un método para el tratamiento de pacientes afectados por enfermedades neurodegenerativas,



todos ellos grupos, reactivos o disolventes habituales en síntesis orgánica, especialmente en el campo de la síntesis de los aminoácidos.



5

En una primera etapa los aminoácidos dicarboxílicos de fórmula (II), en los que PG<sub>1</sub> representa un grupo protector de grupos hidroxilos tal como benciloxicarbonilo (Cbz) y *terc*-butiloxicarbonilo (Boc), PG<sub>2</sub> representa un grupo protector de grupos amino tal como *terc*-butilo (t-Bu) o bencilo (Bn), se esterifican por reacción con un alcohol de fórmula R<sub>1</sub>-OH en un disolvente anhidro tal como cloruro de metileno y en presencia de una base tal como trietilamina y un catalizador tal como PyBOP para obtener los compuestos de fórmula (III). La reacción se realiza en atmósfera inerte a preferiblemente a 0°C durante el tiempo que requiera la reacción, habitualmente entre 15 y 20 horas según indique el control por cromatografía en capa fina. Una vez finalizada la reacción se evapora el disolvente y el residuo se purifica por cromatografía a presión en gel de

10

15

sílice empleando como eluyente , por ejemplo, mezclas de hexano/acetato de etilo.

A continuación se elimina el grupo protector de grupos hidroxilos PG<sub>2</sub> siguiendo procedimientos conocidos por el experto en la materia para  
5 obtener los productos de fórmula (IV). Así por ejemplo cuando el grupo protector es un grupo benciloxicarbonilo se tratan los compuestos de fórmula (III) con ácido fuerte tal como el ácido trifluoroacético en presencia de un disolvente tal como cloruro de metileno. Cuando el grupo protector es un grupo *terc*-butiloxicarbonilo se someten los compuestos de fórmula  
10 (III) a hidrogenación catalizada, por ejemplo, por paladio sobre carbón activo.

Seguidamente se condensa a temperatura ambiente con agitación el compuesto de fórmula (IV) en solución de dimetilformamida anhidra con un compuesto de fórmula H-G<sub>1</sub>-R<sub>4</sub> en presencia de un agente de  
15 condensación tal como EDC, HOB, trietilamina y cantidades catalíticas de DMAP para dar los compuestos de fórmula (Ia). Se deja reaccionar con agitación a temperatura ambiente controlando la reacción mediante cromatografía en capa fina. Una vez concluida la reacción se evapora el disolvente y el producto se purifica pasando el residuo resultante por una  
20 columna de cromatografía de gel de sílice, por ejemplo, empleando una mezcla 95:5 de cloruro de metileno:metanol como eluyente. Este último paso puede no ser necesario cuando se desea continuar con el procedimiento de síntesis tal como se indica en el siguiente párrafo.

Los compuestos de fórmula (Ia), además de ser intermedios de  
25 reacción para la obtención de compuestos de fórmula (I), son asimismo compuestos particulares de fórmula (I) en los que el grupo R<sub>2</sub> es benciloxi o *terc*-butiloxi.

En el caso en que se desee obtener un compuesto de fórmula (I) en el que el grupo R<sub>2</sub> sea distinto de benciloxi o *terc*-butiloxi la síntesis prosigue mediante la hidrólisis del compuesto (Ia) en el que R<sub>2</sub> es un grupo  
30 *terc*-butiloxicarbonilo por tratamiento con un con ácido fuerte tal como el

ácido trifluoroacético en presencia de un disolvente tal como cloruro de metileno para dar los compuestos de fórmula (V).

Finalmente los compuestos de fórmula (V) se acilan mediante su tratamiento con un cloruro de ácido de fórmula  $R_2COCl$  o un anhídrido de fórmula  $(R_2CO)_2O$  en un disolvente apolar anhídrido tal como el cloruro de metileno y en presencia de la menos dos equivalentes de una base tal como trietilamina, en frío y con agitación.

### EJEMPLOS DE REALIZACIÓN

#### 10 Ejemplo 1.- Síntesis de los compuestos de la invención

**Ejemplo 1.1.- Síntesis del ester n-hexílico del ácido 2-Benciloxycarbonilamino-4-[2-(1-bencilpiperidin-4-il)-etilcarbamoil]-butírico.** Este compuesto fue sintetizado según el método descrito en el apartado anterior, Ejemplo 1, siguiendo el esquema de síntesis representado en la Figura 1. Sólido incoloro. **Punto de fusión:** 88-90 °C. **EM (ES):**  $m/z = 566 [M+H]^+$ .  **$^1H$ -RMN** (300 MHz, MeOD)  $\delta$ : 7.43 (s, 10H,  $H_{3''}$ - $H_{7''}$ ,  $H_{10'}$ - $H_{14'}$ ), 5.10 (s, 2H,  $H_{1''}$ ) 4.50 (m, 1H,  $H_\alpha$ ), 4.14 (m, 2H,  $H_1$ ), 4.13 (s, 2H,  $H_{8'}$ ), 3.34-3.29 (m, 3H,  $H_{6'ecu}$ ,  $H_{5'ecu}$ ,  $H_{3'}$ ), 3.16 (m, 2H,  $H_{1'}$ ), 2.74 (m, 2H,  $H_{6'ax}$ ,  $H_{5'ax}$ ), 2.35 (m, 2H,  $H_\gamma$ ), 2.28 (m, 1H,  $H_\beta$ ), 2.06 (m, 1H,  $H_\beta$ ) 1.87 (m, 2H,  $H_{7'ecu}$ ,  $H_{4'ecu}$ ), 1.64 (m, 2H,  $H_2$ ), 1.42 (m, 2H,  $H_{2'}$ ), 1.34-1.26 (m, 8H,  $H_{7'ax}$ ,  $H_{4'ax}$ ,  $H_3$ ,  $H_4$ ,  $H_5$ ), 0.86 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz,  $H_6$ ) ppm.  **$^{13}C$ -RMN** (75 MHz, MeOD)  $\delta$ : 174.6 ( $COC_\gamma$ ), 173.3 ( $COC_\alpha$ ), 164.5 ( $CONHC_\alpha$ ), 139.6 ( $C_{2''}$ ,  $C_{9'}$ ), 132.2 ( $C_{3''}$ ,  $C_{7''}$ ), 132.0 ( $C_{10'}$ ,  $C_{14'}$ ), 130.5 ( $C_{5''}$ ), 130.2 ( $C_{12'}$ ), 130.1 ( $C_{11'}$ ,  $C_{13'}$ ), 128.9 ( $C_{4''}$ ,  $C_{6''}$ ), 66.5 ( $C_{1''}$ ), 65.3 ( $C_1$ ), 62.2 ( $C_8$ ), 54.0 ( $C_\alpha$ ,  $C_3$ ), 53.7 ( $C_5$ ,  $C_6$ ), 37.4 ( $C_{1'}$ ), 36.2 ( $C_{2'}$ ), 33.2 ( $C_\gamma$ ), 32.5 ( $C_{4'}$ ,  $C_{7'}$ ), 30.7 ( $C_3$ ), 29.6 ( $C_2$ ), 27.8 ( $C_\beta$ ), 26.7 ( $C_4$ ), 23.6 ( $C_5$ ), 14.3 ( $C_6$ ) ppm. **HPLC:** Pureza (97%).

**Ejemplo 1.2.- Síntesis del ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-Bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-terc-butoxicarbonilamino-butírico.** Este compuesto, igual que los otros ejemplos que le siguen, fue sintetizado según el método descrito en el apartado anterior, Ejemplo 1, siguiendo el esquema de síntesis representado en la Figura 2. Aceite



incoloro. **EM** (ES):  $m/z = 532 [M+H]^+$ .  **$^1\text{H-RMN}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.40 (m, 5H,  $\text{H}_{10'}$ - $\text{H}_{14'}$ ), 6.46 (m, 1H,  $\text{NHCO}_\gamma$ ), 4.18-4.07 (m, 3H,  $\text{H}_\alpha$ ,  $\text{H}_1$ ), 5.37 (m, 1H,  $\text{NHC}_\alpha$ ), 3.37 (s, 2H,  $\text{H}_8$ ), 3.22 (m, 2H,  $\text{H}_{1'}$ ), 2.85 (m, 2H,  $\text{H}_{6'ecu}$ ,  $\text{H}_{5'ecu}$ ), 2.40-2.22 (m, 4H,  $\text{H}_\beta$ ,  $\text{H}_\gamma$ ), 1.90 (m, 2H,  $\text{H}_{6'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1.61-1.52 (m, 4H,  $\text{H}_{7'ecu}$ ,  $\text{H}_{4'ecu}$ ,  $\text{H}_2$ ), 1.40 (s, 9H, Boc), 1.34-1.27 (m, 11H,  $\text{H}_{7'ax}$ ,  $\text{H}_{4'ax}$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_3$ ,  $\text{H}_3$ ,  $\text{H}_4$ ,  $\text{H}_5$ ), 0.87 (t, 3H,  $J = 6.8$  Hz,  $\text{H}_6$ ) ppm.  **$^{13}\text{C-RMN}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 172.6 ( $\text{COC}_\gamma$ ), 172.3 ( $\text{COC}_\alpha$ ), 155.9 ( $\text{CONHC}_\alpha$ ), 131.8 ( $\text{C}_9$ ), 130.8 ( $\text{C}_{14'}$ ,  $\text{C}_{10'}$ ), 129.8 ( $\text{C}_{13'}$ ,  $\text{C}_{11'}$ ), 129.2 ( $\text{C}_{12'}$ ), 80.0 (C-Boc), 65.7 ( $\text{C}_1$ ), 61.3 ( $\text{C}_8$ ), 53.1 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 52.6 ( $\text{C}_\alpha$ ), 37.5 ( $\text{C}_{1'}$ ), 36.6 ( $\text{C}_2$ ), 34.7 ( $\text{C}_3$ ), 32.2 ( $\text{C}_\gamma$ ), 31.3 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_7$ ), 30.7 ( $\text{C}_3$ ), 28.6 ( $\text{C}_\beta$ ), 28.4 ( $\text{C}_2$ ), 28.2 (3 $\text{CH}_3$ -Boc), 25.4 ( $\text{C}_4$ ), 22.4 ( $\text{C}_5$ ), 14.0 ( $\text{C}_6$ ) ppm. **HPLC**: Pureza (96%).

**Ejemplo 1.3.- Síntesis del ester n-hexílico del ácido 2-Benzoilamino-4-[2-(1-bencilpiperidin-4-il)-etilcarbamoil]-butírico.**

Sólido incoloro. **Punto de fusión**: 89-91 °C. **EM** (ES):  $m/z = 536 [M+H]^+$ .  **$^1\text{H-RMN}$**  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.85 (m, 3H,  $\text{H}_{3''}$ ,  $\text{H}_{5''}$ ,  $\text{NHC}_\alpha$ ), 7.46 (m, 3H,  $\text{H}_{2''}$ ,  $\text{H}_{6''}$ ,  $\text{H}_{4''}$ ), 7.30 (m, 5H,  $\text{H}_{10'}$ - $\text{H}_{14'}$ ), 6.09 (m, 1H,  $\text{NHCO}_\gamma$ ), 4.69 (m, 1H,  $\text{H}_\alpha$ ), 4.16 (td, 2H,  $J = 6.33$ , 1.93 Hz,  $\text{H}_1$ ), 3.54 (s, 2H,  $\text{H}_8$ ), 3.26-3.19 (m, 2H,  $\text{H}_{1'}$ ), 2.90 (m, 2H,  $\text{H}_{6'ecu}$ ,  $\text{H}_{5'ecu}$ ), 2.38-2.17 (m, 4H,  $\text{H}_\beta$ ,  $\text{H}_\gamma$ ), 2.12-1.98 (m, 2H,  $\text{H}_{6'ax}$ ,  $\text{H}_{5'ax}$ ), 1.66-1.60 (m, 4H,  $\text{H}_{7'ecu}$ ,  $\text{H}_{4'ecu}$ ,  $\text{H}_2$ ), 1.40-1.25 (m, 11H,  $\text{H}_{7'ax}$ ,  $\text{H}_{4'ax}$ ,  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_3$ ,  $\text{H}_3$ ,  $\text{H}_4$ ,  $\text{H}_5$ ), 0.87 (t, 3H,  $J = 7.02$  Hz,  $\text{H}_6$ ) ppm.  **$^{13}\text{C-RMN}$**  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 172.2 ( $\text{COC}_\gamma$ ), 172.0 ( $\text{COC}_\alpha$ ), 167.4 ( $\text{CONHC}_\alpha$ ), 133.5 ( $\text{C}_{1''}$ ), 131.9 ( $\text{C}_{4''}$ ), 129.5 ( $\text{C}_9$ ), 128.6 ( $\text{C}_{14'}$ ,  $\text{C}_{10'}$ ), 128.3 ( $\text{C}_{2''}$ ,  $\text{C}_{6''}$ ,  $\text{C}_{12'}$ ), 127.3 ( $\text{C}_{13'}$ ,  $\text{C}_{11'}$ ), 127.1 ( $\text{C}_{3''}$ ,  $\text{C}_{5''}$ ), 65.9 ( $\text{C}_1$ ), 63.0 ( $\text{C}_8$ ), 53.4 ( $\text{C}_5$ ,  $\text{C}_6$ ), 52.7 ( $\text{C}_\alpha$ ), 37.3 ( $\text{C}_{1'}$ ), 35.9 ( $\text{C}_2$ ), 33.1 ( $\text{C}_3$ ), 32.8 ( $\text{C}_\gamma$ ), 31.6 ( $\text{C}_4$ ,  $\text{C}_7$ ), 31.3 ( $\text{C}_3$ ), 28.5 ( $\text{C}_2$ ), 28.1 ( $\text{C}_\beta$ ), 25.4 ( $\text{C}_4$ ), 22.5 ( $\text{C}_5$ ), 14.0 ( $\text{C}_6$ ). **HPLC**: Pureza (96%).

**Ejemplo 1.4.- Síntesis del ester n-hexílico del ácido 2-[(Benzo[b]tiofen-2-carbonil)-amino]-4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-butírico.** Sólido amarillo. **Punto de fusión**: 101-103 °C.

**EM** (ES):  $m/z = 592 [M+H]^+$ . **H-RMN** (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ : 7.84-7.81 (m, 2H,  $\text{H}_{3''}$ ,  $\text{H}_{7''}$ ), 7.76 (d,  $J = 7.1$ ,  $\text{NCH}_\alpha$ ), 7.39-7.35 (m, 3H,  $\text{H}_{4''}$ ,  $\text{H}_{5''}$ ,  $\text{H}_{6''}$ ), 7.27 (m, 5H,  $\text{H}_{10'}$ - $\text{H}_{14'}$ ), 5.96 (m, 1H,  $\text{NHCO}_\gamma$ ), 4.66-4.64 (m, 1H,  $\text{H}_\alpha$ ), 4.14 (m,

2H, H<sub>1</sub>), 3.5 (s, 2H, H<sub>8</sub>'), 3.25-3.17 (m, 2H, H<sub>1</sub>'), 2.83 (m, 2H, H<sub>5'ecu</sub>, H<sub>6'ecu</sub>), 2.40-2.14 (m, 4H, H<sub>β</sub>, H<sub>γ</sub>), 1.92 (m, 2H, H<sub>5'ax</sub>, H<sub>6'ax</sub>), 1.64-1.53 (m, 4H, H<sub>4'ecu</sub>, H<sub>7'ecu</sub>, H<sub>2</sub>), 1.39-1.22 (m, 11H, H<sub>4'ax</sub>, H<sub>7'ax</sub>, H<sub>2</sub>', H<sub>3</sub>', H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>), 0.85 (t, 3H, *J* = 6.78 Hz, H<sub>6</sub>) ppm. <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 172.6 (COC<sub>γ</sub>), 171.0 (COC<sub>α</sub>), 162 (CONHC<sub>α</sub>), 141.4 (C<sub>2</sub>'', C<sub>9</sub>''), 139.4 (C<sub>8</sub>''), 138.3 (C<sub>9</sub>''), 129.6 (C<sub>10</sub>'', C<sub>14</sub>''), 128.5 (C<sub>11</sub>'', C<sub>13</sub>''), 127.5 (C<sub>12</sub>''), 126.6 (C<sub>4</sub>''), 125.7 (C<sub>6</sub>''), 125.4 (C<sub>5</sub>''), 125.1 (C<sub>7</sub>''), 123.0 (C<sub>3</sub>''), 66.1 (C<sub>1</sub>), 63.4 (C<sub>8</sub>'), 53.7 (C<sub>α</sub>), 53.2 (C<sub>5</sub>', C<sub>6</sub>'), 37.6 (C<sub>1</sub>'), 36.2 (C<sub>2</sub>'), 33.3 (C<sub>3</sub>'), 33.0 (C<sub>γ</sub>'), 31.9 (C<sub>4</sub>', C<sub>7</sub>'), 31.6 (C<sub>3</sub>), 28.7 (C<sub>2</sub>), 27.7 (C<sub>β</sub>), 25.7 (C<sub>4</sub>), 22.7 (C<sub>5</sub>), 14.2 (C<sub>6</sub>) ppm. **HPLC:** Pureza (94%).

**Ejemplo 1.5.- Síntesis del ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencilpiperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[2-(6-cloro-benzo[b]thiophen-2-il)-acetilamino]-butírico.** Sólido amarillo. **Punto de fusión:** 84-86 °C. **EM (ES):** *m/z* = 641 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-RMN (300 MHz, MeOD) δ: 7.80 (m, 3H, H<sub>4</sub>''), 7.55 (s, 1H, H<sub>3</sub>''), 7.34 (m, 5H, H<sub>10</sub>'-H<sub>14</sub>'), 4.39 (m, 1H, H<sub>α</sub>), 4.08 (m, 2H, H<sub>1</sub>), 3.81 (s, 2H, H<sub>10</sub>''), 3.72 (s, 2H, H<sub>8</sub>'), 3.18 (m, 2H, H<sub>1</sub>'), 3.00 (m, 2H, H<sub>6'ecu</sub>, H<sub>5'ecu</sub>), 2.31 (m, 3H, H<sub>γ</sub>, H<sub>β</sub>), 2.17 (m, 2H, H<sub>5'ax</sub>, H<sub>6'ax</sub>), 1.93 (m, 1H, H<sub>β</sub>) 1.73 (m, 2H, H<sub>4'ecu</sub>, H<sub>7'ecu</sub>), 1.54 (m, 1H, H<sub>2</sub>), 1.39 (m, 2H, H<sub>2</sub>'), 1.33-1.25 (m, 9H, H<sub>5</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>3</sub>', H<sub>4'ax</sub>, H<sub>7'ax</sub>), 0.84 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, H<sub>6</sub>) ppm. <sup>13</sup>C-RMN (75 MHz, MeOD) δ: 174.3 (COC<sub>γ</sub>), 173.2 (COC<sub>α</sub>), 172.7 (CONHC<sub>α</sub>), 141.5 (C<sub>2</sub>''), 140.0 (C<sub>9</sub>''), 135.2 (C<sub>8</sub>''), 131.6 (C<sub>6</sub>''), 131.4 (C<sub>9</sub>''), 130.0 (C<sub>14</sub>'', C<sub>10</sub>''), 129.6 (C<sub>13</sub>'', C<sub>11</sub>''), 129.5 (C<sub>12</sub>''), 128.0 (C<sub>5</sub>''), 125.8 (C<sub>4</sub>''), 125.1 (C<sub>7</sub>''), 122.8 (C<sub>3</sub>''), 66.4 (C<sub>1</sub>), 63.1 (C<sub>8</sub>'), 54.0 (C<sub>α</sub>), 53.0 (C<sub>5</sub>', C<sub>6</sub>'), 37.6 (C<sub>1</sub>'), 36.3 (C<sub>3</sub>'), 33.0 (C<sub>γ</sub>'), 32.5 (C<sub>2</sub>'), 31.6 (C<sub>4</sub>', C<sub>7</sub>'), 29.6 (C<sub>5</sub>), 28.3 (C<sub>β</sub>), 26.7 (C<sub>4</sub>), 26.5 (C<sub>3</sub>), 23.6 (C<sub>2</sub>), 14.4 (C<sub>6</sub>) ppm. **HPLC:** Pureza (98%).

**Ejemplo 1.6.- Síntesis del ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencilpiperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(tieno[2,3-b]piridin-2-carbonil)-amino]-butírico.** Aceite amarillo. **EM (ES):** *m/z* = 593 [M+H]<sup>+</sup>, 616 [M+Na]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 8.61 (dd, 1H, *J* = 4.6, 1.6 Hz, H<sub>6</sub>''), 8.09 (dd, 1H, *J* = 8.2, 1.6 Hz, H<sub>4</sub>''), 8.00 (d, 1H, *J* = 6.8 Hz, NHC<sub>α</sub>), 7.78 (s, 1H, H<sub>3</sub>''), 7.32-7.22 (m, 6H, H<sub>10</sub>'-H<sub>14</sub>', H<sub>5</sub>''), 5.88 (m, 1H, NHCOC<sub>γ</sub>), 4.65 (m, 1H,

CH<sub>α</sub>), 4.15 (m, 2H, H<sub>1</sub>), 3.46 (s, 2H, H<sub>8</sub>'), 3.23 (m, 2H, H<sub>1</sub>''), 2.81 (m, 2H, H<sub>5</sub>'<sub>ecu</sub>, H<sub>6</sub>'<sub>ecu</sub>), 2.41-2.17 (m, 4H, H<sub>β</sub>, H<sub>γ</sub>), 1.89 (m, 2H, H<sub>5</sub>'<sub>ax</sub>, H<sub>6</sub>'<sub>ax</sub>), 1.65-1.55 (m, 4H, H<sub>4</sub>'<sub>ecu</sub>, H<sub>7</sub>'<sub>ecu</sub>, H<sub>2</sub>), 1.39-1.24 (m, 11H, H<sub>4</sub>'<sub>ax</sub>, H<sub>7</sub>'<sub>ax</sub>, H<sub>2</sub>', H<sub>3</sub>', H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>), 0.85 (t, 3H, *J* = 6.8 Hz, H<sub>6</sub>) ppm. <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 172.5 (COC<sub>γ</sub>), 171.6 (COC<sub>α</sub>), 162.2 (CONHC<sub>α</sub>), 162.1 (C<sub>7</sub>''), 148.7 (C<sub>6</sub>''), 138.4 (C<sub>2</sub>''), 132.7 (C<sub>4</sub>'', C<sub>9</sub>'), 129.3 (C<sub>14</sub>', C<sub>10</sub>'), 128.2 (C<sub>13</sub>', C<sub>11</sub>'), 127.1 (C<sub>12</sub>'), 123.0 (C<sub>8</sub>'', C<sub>3</sub>''), 120.1 (C<sub>4</sub>'', C<sub>5</sub>''), 65.9 (C<sub>1</sub>), 63.2 (C<sub>8</sub>'), 53.5 (C<sub>5</sub>', C<sub>6</sub>'), 53.1 (C<sub>α</sub>), 37.5 (C<sub>1</sub>'), 36.0 (C<sub>2</sub>'), 33.3 (C<sub>3</sub>'), 32.7 (C<sub>γ</sub>), 31.9 (C<sub>4</sub>', C<sub>7</sub>'), 31.3 (C<sub>3</sub>), 28.4 (C<sub>5</sub>), 27.2 (C<sub>β</sub>), 25.4 (C<sub>4</sub>), 22.5 (C<sub>2</sub>), 14.0 (C<sub>6</sub>) ppm. **HPLC:** Pureza (95%).

**Ejemplo 1.7.- Síntesis del ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(tieno[2,3-b]tiofen-2-carbonil)-amino]-butírico.** Sólido amarillo. **Punto de fusión:** 100-102 °C. **EM (ES):** *m/z* = 598 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 7.74 (s, 1H, H<sub>3</sub>''), 7.68 (d, 1H, *J* = 7.1 Hz, NHC<sub>α</sub>), 7.36 (d, 1H, *J* = 5.5 Hz, H<sub>5</sub>''), 7.29 (m, 5H, H<sub>10</sub>'-H<sub>14</sub>'), 7.23 (d, 1H, *J* = 5.5 Hz, H<sub>4</sub>''), 5.99 (m, 1H, NHCOC<sub>γ</sub>), 4.65 (m, 1H, H<sub>α</sub>), 4.14 (m, 2H, H<sub>1</sub>), 3.5 (s, 2H, H<sub>8</sub>'), 3.23 (m, 2H, H<sub>1</sub>''), 2.90 (m, 2H, H<sub>5</sub>'<sub>ecu</sub>, H<sub>6</sub>'<sub>ecu</sub>), 2.39-2.16 (m, 4H, H<sub>β</sub>, H<sub>γ</sub>), 2.00 (m, 2H, H<sub>5</sub>'<sub>ax</sub>, H<sub>6</sub>'<sub>ax</sub>), 1.65-1.59 (m, 4H, H<sub>4</sub>'<sub>ecu</sub>, H<sub>7</sub>'<sub>ecu</sub>, H<sub>2</sub>), 1.39-1.24 (m, 11H, H<sub>4</sub>'<sub>ax</sub>, H<sub>7</sub>'<sub>ax</sub>, H<sub>2</sub>', H<sub>3</sub>', H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>), 0.85 (t, 3H, *J* = 7.0 Hz, H<sub>6</sub>) ppm. <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ: 172.5 (COC<sub>γ</sub>), 171.8 (COC<sub>α</sub>), 162.3 (CONHC<sub>α</sub>), 146.3 (C<sub>2</sub>''), 141.6 (C<sub>7</sub>''), 141.3 (C<sub>9</sub>'), 129.5 (C<sub>3</sub>''), 129.0 (C<sub>10</sub>', C<sub>14</sub>'), 128.3 (C<sub>8</sub>'', C<sub>11</sub>', C<sub>13</sub>'), 127.4 (C<sub>12</sub>'), 120.9 (C<sub>5</sub>''), 125.5 (C<sub>4</sub>''), 65.9 (C<sub>1</sub>), 63.0 (C<sub>8</sub>'), 53.4 (C<sub>5</sub>', C<sub>6</sub>'), 53.0 (C<sub>α</sub>), 37.4 (C<sub>1</sub>'), 36.0 (C<sub>2</sub>'), 33.1 (C<sub>3</sub>'), 32.8 (C<sub>γ</sub>), 31.5 (C<sub>4</sub>', C<sub>7</sub>'), 31.3 (C<sub>3</sub>), 28.4 (C<sub>5</sub>), 27.5 (C<sub>β</sub>), 25.4 (C<sub>4</sub>), 22.5 (C<sub>2</sub>), 14.0 (C<sub>6</sub>) ppm. **HPLC:** Pureza (98%).

**Ejemplo 1.8.- Síntesis del ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(tiofen-2-carbonil)-amino]-butírico.** Sólido amarillo. **Punto de fusión:** 48-50 °C. **EM (ES):** *m/z* = 542 [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, MeOD) δ: 7.85 (dd, 1H, *J* = 3.9, 1.2 Hz, H<sub>3</sub>''), 7.67 (dd, 1H, *J* = 5.1, 1.2 Hz, H<sub>5</sub>''), 7.43 (s, 5H, H<sub>10</sub>'-H<sub>14</sub>'), 7.13 (dd, *J* = 5.1, 3.9 Hz, H<sub>4</sub>''), 4.50 (m, 1H, H<sub>α</sub>), 4.14 (m, 2H, H<sub>1</sub>), 4.13 (s, 2H, H<sub>8</sub>'), 3.34-3.29 (m, 3H,

H<sub>6'ecu</sub>, H<sub>5'ecu</sub>, H<sub>3'</sub>), 3.16 (m, H, H<sub>1'</sub>), 2.74 (m, 2H, H<sub>6'ax</sub>, H<sub>5'ax</sub>), 2.35 (m, 2H, H<sub>γ</sub>), 2.28 (m, 1H, H<sub>β</sub>), 2.06 (m, 1H, H<sub>β</sub>) 1.87 (m, 2H, H<sub>7'ecu</sub>, H<sub>4'ecu</sub>), 1.64 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 1.42 (m, 2H, H<sub>2'</sub>), 1.34-1.26 (m, 8H, H<sub>7'ax</sub>, H<sub>4'ax</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>), 0.86 (t, 3H,  $J = 7.0$  Hz, H<sub>6</sub>) ppm. <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, MeOD) δ: 174.6 (COC<sub>γ</sub>),  
 5 173.3 (COC<sub>α</sub>), 164.5 (CONHC<sub>α</sub>), 139.6 (C<sub>2''</sub>, C<sub>9'</sub>), 132.2 (C<sub>3''</sub>), 132.0 (C<sub>10'</sub>, C<sub>14'</sub>), 130.5 (C<sub>5''</sub>), 130.2 (C<sub>12'</sub>), 130.1 (C<sub>11'</sub>, C<sub>13'</sub>), 128.9 (C<sub>4''</sub>), 66.5 (C<sub>1</sub>), 62.2 (C<sub>8'</sub>), 54.0 (C<sub>α</sub>, C<sub>3'</sub>), 53.7 (C<sub>5'</sub>, C<sub>6'</sub>), 37.4 (C<sub>1'</sub>), 36.2 (C<sub>2'</sub>), 33.2 (C<sub>γ</sub>), 32.5 (C<sub>4'</sub>, C<sub>7'</sub>), 30.7 (C<sub>3</sub>), 29.6 (C<sub>2</sub>), 27.8 (C<sub>β</sub>), 26.7 (C<sub>4</sub>), 23.6 (C<sub>5</sub>), 14.3 (C<sub>6</sub>) ppm. **HPLC:** Pureza (96%).

10 **Ejemplo 1.9.- Síntesis del ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(4-bromo-tiofen-2-carbonil)-amino]-butírico.** Aceite amarillento. **EM (ES):**  $m/z = 622, 620$  [M+H]<sup>+</sup>. <sup>1</sup>H-RMN (400 MHz, MeOD) δ: 7.74 (d, 1H,  $J = 1.4$  Hz, H<sub>5''</sub>), 7.68 (d,  $J = 1.4$  Hz, H<sub>3''</sub>), 7.36 (s, 5H, H<sub>10'</sub>-H<sub>14'</sub>), 4.48 (m, 1H, H<sub>α</sub>), 4.14 (m, 2H, H<sub>1</sub>), 3.73 (s, 2H, H<sub>8'</sub>),  
 15 3.30 (m, 2H, H<sub>6'ecu</sub>, H<sub>5'ecu</sub>), 3.13 (m, 2H, H<sub>1'</sub>), 2.40-2.36 (m, 3H, H<sub>6'ax</sub>, H<sub>5'ax</sub>, H<sub>3'</sub>), 2.32 (m, 1H, H<sub>β</sub>), 2.07 (m, 1H, H<sub>β</sub>), 1.77-1.74 (m, 2H, H<sub>7'ecu</sub>, H<sub>4'ecu</sub>), 1.40 (m, 2H, H<sub>2</sub>), 1.32 (m, 2H, H<sub>2'</sub>), 1.31-1.27 (m, 8H, H<sub>7'ax</sub>, H<sub>4'ax</sub>, H<sub>3</sub>, H<sub>4</sub>, H<sub>5</sub>), 0.87 (t, 3H,  $J = 7.02$  Hz, H<sub>6</sub>) ppm. <sup>13</sup>C-RMN (100 MHz, MeOD) δ:  
 20 174.6 (COC<sub>γ</sub>), 173.1 (COC<sub>α</sub>), 164.5 (CONHC<sub>α</sub>), 141.0 (C<sub>2''</sub>, C<sub>9'</sub>), 132.2 (C<sub>3''</sub>), 131.4 (C<sub>10'</sub>, C<sub>14'</sub>), 129.9 (C<sub>5''</sub>), 129.6 (C<sub>12'</sub>), 129.3 (C<sub>11'</sub>, C<sub>13'</sub>), 111.0 (C<sub>4''</sub>), 66.6 (C<sub>1</sub>), 63.5 (C<sub>8'</sub>), 54.2, (C<sub>α</sub>), 54.1 (C<sub>3'</sub>), 53.8 (C<sub>5'</sub>, C<sub>6'</sub>), 37.7 (C<sub>1'</sub>), 36.6 (C<sub>2'</sub>), 33.5 (C<sub>γ</sub>), 32.5 (C<sub>4'</sub>, C<sub>7'</sub>), 31.8 (C<sub>3</sub>), 29.6 (C<sub>2</sub>), 27.8 (C<sub>β</sub>), 26.7 (C<sub>4</sub>), 23.6 (C<sub>5</sub>), 14.3 (C<sub>6</sub>) ppm. **HPLC:** Pureza (97%).

25 **Ejemplo 2.- Propiedades neuroprotectoras de los compuestos objeto de la invención.**

Las causas primarias o desencadenantes de la EA en particular y de muchas de las EN en general no están completamente aclaradas. Si existe un gran número de evidencias de que fenómenos de tipo oxidativo están  
 30 implicados en esta etiología, en particular el llamado estrés oxidativo, producido por cantidades superiores a las controlables de las llamadas

especies radicálicas de oxígeno. Estas especies pueden ser tanto de procedencia externa (fotooxidaciones, emisiones,...) como interna (metabolismo mitocondrial, activación neutrófila,...). Desde el punto de vista químico estas especies pueden ser radicales libres tipo superóxido o hidroxilo, oxígeno no radical como el agua oxigenada o el peroxinitrito o bien moléculas reactivas como los cetoaldehidos o el hidroxinonenal (*Mutat. Res.* **1999**, 428, 17-22). En estado normal el cerebro posee mecanismos capaces de eliminar estas especies oxidativas transformándolas en otras inocuas, pero en situaciones patológicas o simplemente ante factores de riesgo como el envejecimiento, estas especies pueden escapar a los sistemas de control y dar lugar a procesos bioquímicos aberrantes (*J. Neurosci.* **2001**, 21, 4183-4187). Esto indica que moléculas capaces de suplir o complementar los mecanismos cerebrales encargados de mantener a niveles aceptables las especies reactivas de oxígeno, incapaces de cumplir plenamente su función, tendrían un efecto neuroprotector al eliminar o reducir dichas especies radicálicas y los daños que puedan causar.

A tal fin, se evaluó el efecto citoprotector de los compuestos en células de neuroblastoma humano, concretamente el potencial neuroprotector de estos compuestos frente al estrés oxidativo producido en dos modelos de estudio diferentes, por una parte con peróxido de hidrógeno como generador exógeno de radicales libres, y por otra con rotenona y oligomicina A, bloqueantes de la cadena respiratoria de la mitocondria según se describe en *J. Neurochem.* **1992**, 59, 1609-1623 y en *Toxicological Sciences* **2004**, 79, 137-146, respectivamente. El parámetro de viabilidad que se midió en ambos modelos era la actividad catalítica de la enzima lactatodeshidrogenasa, LDH en lo sucesivo, una enzima que se libera al medio extracelular cuando muere la célula (*J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2005**, 315, 1346-1353).

El método experimental utilizado, siguiendo un procedimiento previamente descrito (*Neuropharmacology* **2004**, 46, 103-114) es el

siguiente: células SH-SY5Y de neuroblastoma humano fueron sembradas y cultivadas en un medio DMEM (Dulbecco's modified Eagle's médium) conteniendo 15 aminoácidos no esenciales y suplementada con un 10% de suero fetal de ternera, glutamina 1 milimolar, 50 unidades por mililitro de penicilina y 50 microgramos por mililitro de estreptomina, manteniéndolas a 37°C en aire humidificado conteniendo 5% de dióxido de carbono. En los ensayos, las células SH-SY5Y fueron subcultivadas en placas de 48 pocillos con una densidad de sembrado de  $5 \times 10^5$  células por pocillo, o bien en placas de 96 pocillos con una densidad de sembrado de  $2 \times 10^5$  células por pocillo. En los experimentos de citotoxicidad, las células así preparadas fueron tratadas con los compuestos a medir, en DMEM libre de suero.

Para estudiar la acción citoprotectora de los diferentes compuestos contra la muerte celular inducida por peróxido de hidrógeno 60 micromolar o una combinación de rotenona 30 micromolar con oligomicina A 10 micromolar, los compuestos fueron añadidos al medio y mantenidos durante 24 horas. Después, los medios fueron reemplazados por medios frescos que aún contenían el compuesto más el agente citotóxico, y fueron así mantenidos por un período adicional de 24 horas. La viabilidad celular fue comprobada midiendo la actividad de la enzima LDH, como se ha explicado anteriormente, mediante el kit "Cytotoxicity Cell Death" (Roche-Boehringer Mannheim) siguiendo las instrucciones del fabricante de dicho kit. La actividad LDH total fue definida como la suma de las actividades LDH intra y extracelular. La actividad LDH liberada por las células al morir fue definida como el porcentaje de la actividad LDH extracelular frente a la actividad LDH total.

En todos los ensayos farmacológicos se utiliza un control positivo como comparación y para evaluar la bondad del método empleado. En este caso se utilizó Trolox, un bien conocido captador de radicales libres, núcleo activo del antioxidante natural vitamina E (*New. Engl. J. Med.* **2005**, 352, 2379-2388). Los resultados obtenidos para los compuestos descritos

como Ejemplos 1.1 a 1.9 que se muestran a continuación, vienen expresados en porcentaje de la actividad neuroprotectora.

**2.1 Neuroprotección frente a un estímulo tóxico de peróxido de hidrógeno 60 micromolar**, referido a porcentaje de protección inducida por cada compuesto, a la concentración que se expresa, y que fue la que dio lugar a la máxima protección en cada caso:

- **Ejemplo 1.1:** 39,1% a 10 micromolar
- **Ejemplo 1.2:** 24,9% a 1 micromolar
- **Ejemplo 1.3:** 68,1% a 3 micromolar
- 10 • **Ejemplo 1.4:** 28,7% a 1 micromolar
- **Ejemplo 1.5:** 32,5% a 3 micromolar
- **Ejemplo 1.6:** 48,8% a 30 micromolar
- **Ejemplo 1.7:** 46,4% a 10 micromolar
- **Ejemplo 1.8:** 73% a 10 micromolar
- 15 • **Ejemplo 1.9:** 84,3% a 3 micromolar
- **Trolox:** 57,7% a 30 micromolar

**2.2 Neuroprotección frente a un estímulo tóxico de una combinación de rotenona 30 micromolar y oligomicina 10 micromolar**, referido a porcentaje de protección inducida por cada uno de los compuestos que se seleccionaron para esta prueba, a la concentración que se expresa, y que fue la que dio lugar a la máxima protección en cada caso:

- **Ejemplo 1.3:** 47,9% a 0,3 micromolar
- **Ejemplo 1.7:** 46,1% a 0,3 micromolar
- 25 • **Ejemplo 1.8:** 48,9% a 0,1 micromolar
- **Ejemplo 1.9:** 35,9% a 3 micromolar
- **Trolox:** 52,9% a 3 micromolar

Estos resultados indican que los productos objeto de la presente invención son capaces de reducir la presencia de especies radicálicas, tanto exógenas como endógenas, con el consiguiente efecto

neuroprotector, lo que las convierte en potenciales fármacos para el tratamiento de patologías generadas o favorecidas por estrés oxidativo o presencia de especies radicálicas en general.

5           **Ejemplo 3.- Propiedades como inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa de los compuestos objeto de la invención.**

La EA, como todas las EN, es un proceso muy lento con un tiempo medio de 8 años entre la aparición de los primeros síntomas y la muerte. Los primeros síntomas aparecen como pérdidas de memoria a corto plazo,  
10 que llegan hasta el no reconocimiento de familiares o el olvido de habilidades normales para el individuo, problemas del lenguaje, alteraciones cognitivas, pérdida de la capacidad de aprendizaje y dificultades de orientación, que se aumentan hasta la pérdida total de las capacidades cognitivas según avanza la enfermedad (Ann. Intern. Med.  
15 2004, 140, 501-509).

La causa inmediata de estos fallos cognitivos, al menos en las primeras etapas, es la disminución de los niveles de neurotransmisores que constituyen la comunicación sináptica. El cuadro clínico de la EA se correlaciona con la pérdida de neuronas colinérgicas en el núcleo basal de  
20 Meynert, siendo la sinapsis colinérgica, que utiliza acetilcolina como neurotransmisor, la más afectada en esta enfermedad. Teniendo en cuenta los efectos devastadores de la enfermedad, se entiende la importancia que han tenido y tienen los tratamientos sintomáticos capaces de reponer, aun temporalmente y con eficacia limitada, las capacidades  
25 cognitivas de los pacientes EA. De ahí que los inhibidores de la AChE, que previenen la degradación de la acetilcolina y elevan sus niveles sinápticos, hayan sido los únicos fármacos utilizados durante los últimos años en el tratamiento de la EA, e incluso en la actualidad sigan siendo casi los únicos fármacos existentes en mercado para el tratamiento de esta  
30 enfermedad.



Por ello, se consideró de interés evaluar la capacidad inhibidora de AChE de los compuestos objeto de la presente invención. Esta evaluación se llevó a cabo mediante el llamado método de Rappaport (*Clin. Chim. Acta* 1959, 4, 227), usando AChE purificada de *Electrophorus electricus* y cloruro de acetilcolina (29,5 milimolar) como sustrato. La reacción se llevó a cabo en un volumen final de 2,5 mililitros de una solución acuosa que contenía 0,78 unidades de AChE y m-nitrofenol a la concentración de 1,9 milimolar para producir un color amarillo, que se pierde en función de la actividad de la enzima. Se realizaron curvas de inhibición incubando con los compuestos de la invención durante 30 minutos y se preparó una muestra sin compuesto alguno para determinar el 100% de la actividad enzimática. Tras los 30 minutos de incubación, se evaluó la pérdida del color amarillo midiendo absorbancia a 405 nanómetros en un lector espectrofotométrico para placas (iEMS Reader MF, Labsystems). La concentración de compuesto que produce el 50% de inhibición de la actividad de AChE ( $CI_{50}$ ) se calculó transformando los valores de absorbancia a unidades de actividad enzimática Rappaport extrapolando a partir de una curva de calibración obtenida previamente.

Los resultados de inhibición de AChE, expresados como la concentración que inhibe el 50% de la actividad ( $CI_{50}$ ) para los compuestos de la invención, son los siguientes:

- **Ejemplo 1.1:** 1,4 micromolar
- **Ejemplo 1.2:** 5 micromolar
- **Ejemplo 1.3:** 1,9 micromolar
- **Ejemplo 1.4:** 2,5 micromolar
- **Ejemplo 1.5:** 2,3 micromolar
- **Ejemplo 1.6:** 3,25 micomolar
- **Ejemplo 1.7:** 3,5 micromolar
- **Ejemplo 1.8:** 3,5 micromolar
- **Ejemplo 1.9:** 1,2 micromolar

Estos resultados muestran que la familia de compuestos objeto de esta patente pueden también ser fármacos útiles para el tratamiento sintomático de la EA.

5           **Ejemplo 4.- Propiedades como desplazantes de yoduro de propidio del sitio periférico del la enzima acetilcolinesterasa de los compuestos objeto de la invención.**

Numerosas enfermedades neurodegenerativas tienen en común cambios conformacionales de determinadas proteínas que finalmente  
10 conducen a su aberrante polimerización y acumulación. La EA comparte esta característica, pues el péptido beta amiloide, soluble y fisiológicamente normal cambia de conformación y forma pequeños oligómeros lineales solubles que aumentan de tamaño a fibrillas y finalmente precipitan en agregados extracelulares de gran tamaño  
15 llamadas placas seniles. Tal vez por ser histológicamente tan llamativas, las placas seniles ocupaban el centro de la hipótesis amiloide original pero en la actualidad se plantea mas bien la capacidad neurotóxica de formas intermedias prefibrilares, oligómeros solubles y protofibrillas producidas durante la formación de las placas (*J. Neurochem.* **2007**, *101*, 1172-1184),  
20 por lo que resulta evidente que la inhibición de la polimerización y agregación de los monómeros del péptido amiloide pasa a ser un importante blanco terapéutico.

Varios estudios han demostrado que la enzima acetilcolinesterasa se une a dicho péptido beta amiloide induciendo la formación de fibrillas  
25 (*Neurochem Res.* 1998, *23*, 135) y que el sitio aniónico periférico de la enzima está implicado en esa adhesión (*Biochem. Pharmacol.* **2003**, *65*, 407-416).

Es sabido que algunos ligandos como el yoduro de propidio, que se une al sitio periférico de la enzima, inhiben la agregación de beta amiloide  
30 (*Mol. Psychiatry* 1996, *1*, 359). Por lo tanto se consideró de interés conocer si alguno de los compuestos objeto de la invención sería capaz de

unirse al sitio periférico, lo cual podría ser indicativo de un posible efecto antiagregante de beta amiloide.

Se llevó a cabo un ensayo de competición por el sitio periférico de la acetilcolinesterasa con los compuestos a las concentraciones de 0,3 1 y 3  
5 micromolar. El propidio, ligando específico del sitio aniónico periférico, origina un aumento de fluorescencia al unirse a dicho sitio (*Mol. Pharmacol.* 1987, 31, 610). Una disminución en la fluorescencia debida a propidio en presencia de los compuestos objeto de la invención podría interpretarse como un desplazamiento de propidio del sitio periférico.

10 Se utilizó una solución de acetilcolinesterasa de eritrocito bovino a la concentración de 5 micromolar en tampón Tris 0,1 mM y pH 8. Se añadieron alícuotas de los compuestos objeto de la invención, Ejemplos 1.1 a 1.9, a una concentración final de 0,3 micromolar, y las soluciones se mantuvieron a temperatura ambiente durante 6 horas al menos. Tras este  
15 periodo de tiempo, se incubaron las muestras durante 15 minutos con propidio a una concentración final de 20 micromolar y se midió la fluorescencia en un lector de fluorescencia para microplacas (Fluostar Optima, BMG, Alemania) a las longitudes de onda de excitación y emisión de 485 y 620 nm respectivamente.

20 Los resultados obtenidos, que a continuación se exponen, se expresan como porcentaje de la disminución de fluorescencia inducida por cada compuesto a la concentración indicada, y que fue la que dio lugar a la máxima disminución en cada caso. Como control positivo para comparación y evaluación de la bondad del método empleado se utilizó el  
25 compuesto BW284c51 (Sigma-Aldrich, España) a la concentración de 1 milimolar.

- **Ejemplo 1.1:** 29,3% a 3 micromolar
- **Ejemplo 1.2:** 43,6% a 1 micromolar
- **Ejemplo 1.3:** 37,3% a 3 micromolar
- 30 • **Ejemplo 1.4:** 39,7% a 3 micromolar
- **Ejemplo 1.5:** 23,4% a 3 micromolar

- **Ejemplo 1.6:** 37,4% a 0,3 micromolar
- **Ejemplo 1.7:** 42,2% a 0,3 micromolar
- **Ejemplo 1.8:** 15% a 3 micromolar
- **Ejemplo 1.9:** 11,3% a 0,3 micromolar
- 5 • **BW284c51:** 24,5% a 1 milimolar

Los datos obtenidos muestran que los compuestos objeto de esta patente son capaces de unirse al sitio periférico de la enzima acetilcolinesterasa, lo que los convierte en potenciales fármacos con efecto antiagregante del péptido beta amiloide.

10

#### **Ejemplo 5.- Capacidad de penetración en el sistema nervioso central.**

Teniendo en cuenta el papel central que juega el cerebro en el organismo, cabe esperar que la propia evolución lo haya protegido de forma especial. En efecto todo el sistema nervioso central, pero en particular el cerebro, aparece como un órgano blindado, un sistema aparte dentro del conjunto del organismo, separado por una membrana de características especiales llamada barrera hematoencefálica (BHE en lo sucesivo) que selecciona el paso de determinadas moléculas en ambos sentidos. Es decir, de nada sirve obtener un producto que muestre una alta actividad *in vitro*, con un gran potencial para el tratamiento de, por ejemplo, enfermedades neurodegenerativas si *in vivo* no es capaz de alcanzar su diana terapéutica. Resulta entonces de gran importancia conocer si la molécula o familia de moléculas objeto de una investigación del tipo de la que se presenta en esta patente son capaces de atravesar la BHE antes de alcanzar fases posteriores del desarrollo del potencial fármaco, en orden a introducir nuevas modificaciones en la molécula o, incluso, detener la línea de investigación si se confirma la incapacidad de los productos para penetrar en el sistema nervioso central a través de la BHE, con el consiguiente ahorro de unas inversiones cada vez mas elevadas.

30

Existen algunos métodos *in vitro* para evaluar dicha capacidad de penetración, siendo la llamada metodología PAMPA (*Parallel Artificial Membrane Permeation Assay*, descrita en *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, 38, 223-232) la más empleada debido a la máxima precisión y verosimilitud que ofrecen sus resultados. En el caso de los productos objeto de esta invención, se eligieron tres compuestos representativos de esta familia de compuestos y se estudió su capacidad de atravesar la BHE utilizando dicha metodología PAMPA en la forma que se describe a continuación. Los experimentos se realizaron empleando dos microplacas de 96 pocillos en un montaje tipo *sandwich*. La microplaca superior (Millipore Ref. MAIPS4510) está provista de 96 filtros hidrófobos de PVDF, donde se deposita una disolución de extracto lipídico de cerebro de cerdo (Avanti Polar Lipids) en dodecano. La microplaca inferior posee 96 pocillos con forma de lágrima (Millipore Ref. MAMCS9610).

La microplaca receptora se rellenó con 180  $\mu\text{L}$  por pocillo de una mezcla compuesta por buffer fosfato salino de pH 7.4 (PBS) y EtOH en proporción 90:10. El filtro de la placa donadora se cubrió con 4  $\mu\text{L}$  de una disolución del extracto lipídico de cerebro de cerdo en dodecano (20 mg  $\text{mL}^{-1}$ ). A continuación, se añadieron 180  $\mu\text{L}$  de una disolución PBS:EtOH (90:10) de los compuestos a evaluar sobre la microplaca donadora, que se situó de forma cuidadosa sobre la placa receptora. Después de 120 minutos de incubación a 25 °C la placa donadora se separó cuidadosamente y se determinó la concentración de los compuestos en la placa receptora mediante espectroscopía UV. El método mide la permeabilidad, expresando como tal la velocidad de paso de una barrera de un grosor dado en millonésimas de centímetro ( $\text{cm} \times 10^{-6}$ ) por segundo. Los resultados se expresan como el valor medio más/menos la desviación estándar de tres ensayos independientes conteniendo cada uno de ellos cuatro repeticiones de cada compuesto a analizar. Previamente, el método fue validado con la evaluación de 15 fármacos comerciales: testosterona, verapamilo, imipramina, desipramina, progesterona, promazina,

clorpromazina, clonidina, piroxicam, cafeína, aldosterona, lomefloxazina, enoxazina, atenolol y ofloxazina, que ofrecieron valores comprendidos entre  $9,7 \pm 0,1$  (testosterona) y  $0,7 \pm 0,01$  (ofloxazina), coherentes con los valores de permeabilidad descritos para dichos compuestos.

5 Los resultados obtenidos fueron:

	<u>Permeabilidad<sup>a</sup></u>	<u>Clasificación<sup>b</sup></u>
<b>Ejemplo 1.2</b> .....	4,4 ± 0,1	SNC +
<b>Ejemplo 1.6</b> .....	3,2 ± 0,01	SNC +
<b>Ejemplo 1.8</b> .....	5,3 ± 0,01	SCN +

10

---

<sup>a</sup> Permeabilidad experimental, expresada en paso del producto por una membrana de un grosor dado en millonésimas de centímetro ( $\text{cm} \times 10^{-6}$ ) por segundo, siguiendo el método descrito en *Eur. J. Med. Chem.* **2003**, 38, 223-232. <sup>b</sup> SNC+ significa que penetra en el SNC y SNC- significa que no penetra en el SNC.

15

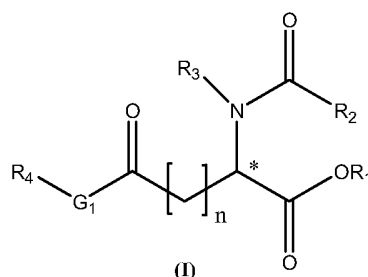
La conclusión que se extrae de estos resultados es que los productos objeto de la presente invención, al ser capaces de atravesar la barrera hematoencefálica, son también capaces de alcanzar sus dianas terapéuticas en el cerebro, una condición casi imprescindible para formar parte de fármacos útiles para el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso en general y neurodegenerativas en particular, tales como la enfermedad de Alzheimer.

20

## REIVINDICACIONES

1.- Compuesto de fórmula general (I):

5



donde:

10  $R_1$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo arilo o heteroarilo, alquilo, haloalquilo, aminoalquilo, amonioalquilo y, en general, grupos alquilo lineales o ramificados, sustituidos por cualquier grupo químico con expresa exclusión de grupos alquilo sustituidos por arilos, como por ejemplo bencilo.

15  $R_2, R_3$  representa un átomo de hidrógeno o grupos arilo o heteroarilo, alquilo lineales o ramificados, insustituidos o sustituidos con cualquier grupo químico, carbamatos en los que  $R_2$  representa –O-arilos u –O-alquilo, lineales o ramificados, insustituidos o sustituidos por cualquier grupo químico, derivados de urea en los que  $R_2$  representa –NH-arilos o –NH-alquilo, lineales o  
20 ramificados, insustituidos o sustituidos por cualquier grupo químico, imidas. En general, cualquier grupo químico capaz de generar la molécula representada en la fórmula general I.

$n$  tiene el valor 1 o 2.

25  $C^*$  representa el carbono quiral del aminoácido, y puede ser el enantiómero *R*, el enantiómero *S*, o la mezcla en cualquier proporción de ambos enantiómeros.

$G_1$  representa O, N mono o disustituido,  $CH_2$ , S o, en general, cualquier grupo o estructura química que pueda utilizarse como unión entre el aminoácido y  $R_4$ .

5  $R_4$  representa cualquier estructura química combinación de grupos alquilo, arilo o heteroarilo, sustituidos o insustituidos.  
o un isómero, sal farmacéuticamente aceptable y/o solvato del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1 en el que  $R_1$  es un grupo alquilo  $C_2-C_8$  lineal o ramificado.

10

3. Compuesto según la reivindicación 2 en el que  $R_1$  es un grupo alquilo  $C_5-C_7$  lineal.

15 4. Compuesto según la reivindicación 1 en el que  $R_3$  es un átomo de hidrógeno o un grupo alquilo  $C_1-C_3$ .

5. Compuesto según la reivindicación 1 en el que  $G_1$  es un grupo amino opcionalmente sustituido con 1 o 2 grupos alquilo  $C_1-C_3$ .

20 6. Compuesto según la reivindicación 1 en el que n tiene el valor de 2.

7. Compuesto según la reivindicación 1 en el que  $R_4$  representa un grupo piperidin-4-il-etilo opcionalmente sustituido.

25 8. Compuesto según la reivindicación 7 en el que el grupo piperidin-4-il-etilo está sustituido en su átomo de nitrógeno con un grupo arilalquilo.

30 9. Compuesto según la reivindicación 8 en el que el grupo arilalquilo es un grupo bencilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 grupos seleccionados de  $C_1-C_3$  alquilo,  $C_1-C_3$  alcoxi, ciano, nitro y átomos de halógeno,



10. Compuesto según la reivindicación 9 en el que el grupo arilalquilo es un grupo bencilo no sustituido.

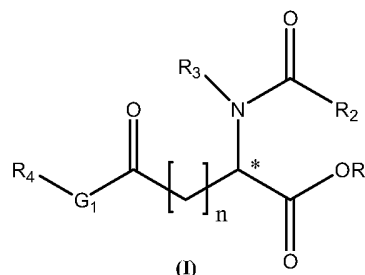
5 11.- Compuesto según la reivindicación 1 caracterizado porque pertenece al siguiente grupo:

- Ester n-hexílico del ácido 2-Benciloxicarbonilamino-4-[2-(1-bencilpiperidin-4-il)-etilcarbamoil]-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-Bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-terc-butoxicarbonilamino-butírico
- 10 • Ester n-hexílico del ácido 2-Benzoilamino-4-[2-(1-bencilpiperidin-4-il)-etilcarbamoil]-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 2-[(Benzo[b]tiofen-2-carbonil)-amino]-4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-butírico
- 15 • Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[2-(6-cloro-benzo[b]thiophen-2-il)-acetilamino]-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(tieno[2,3-b]piridin-2-carbonil)-amino]-butírico
- 20 • Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(tieno[2,3-b]tiofen-2-carbonil)-amino]-butírico
- Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(tiofen-2-carbonil)-amino]-butírico
- 25 • Ester n-hexílico del ácido 4-[2-(1-bencil-piperidin-4-il)-etilcarbamoil]-2-[(4-bromo-tiofen-2-carbonil)-amino]-butírico.

12.- Composición farmacéutica caracterizada porque comprende un compuesto de fórmula I según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11, junto con uno o mas excipientes farmacéuticamente aceptables.

30 13.- Composición según la reivindicación 12 caracterizada porque comprende, además, uno o mas agentes terapéuticos adicionales.

14.- Uso de un compuesto de fórmula general (I)



en el que  $R_1$ ,  $R_2$ ,  $R_3$ ,  $R_4$ ,  $G_1$  y  $n$  tienen los significados definidos en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 11 o un isómero, sal farmacéuticamente aceptable y/o solvato del mismo para la fabricación de un medicamento para la prevención y/o tratamiento de trastornos o enfermedades en los que estén implicados procesos oxidativos como etiología de dichos trastornos o enfermedades.

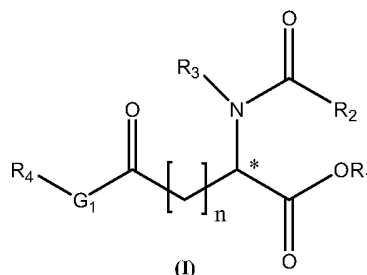
15 15.- Uso según la reivindicación 14 caracterizado porque los trastornos o enfermedades son aquellos en los que está implicado un déficit o disfunción de la neurotransmisión colinérgica.

16.- Uso según la reivindicación 14 caracterizado porque los trastornos o enfermedades son aquellos en los que esté implicada la agregación del péptido amiloide en sus diferentes grados: oligómeros, protofibrillas, fibrillas, agregados fibrilares, placas seniles, etc.

15 17.- Uso según cualquiera de las reivindicaciones 14 a 16 caracterizado porque el trastorno o enfermedad pertenece al grupo de las enfermedades neurodegenerativas.

18.- Uso según la reivindicación 17 caracterizado porque que dicha enfermedad neurodegenerativa es la enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington o cualquier otra que se caracterice por procesos neurodegenerativos tales como la pérdida neuronal, fallos en los procesos de neurotransmisión o aparición de agregados del péptido amiloide.

19.- Procedimiento para la obtención de un compuesto fórmula general (I)



donde:

$R_1$  representa un átomo de hidrógeno o un grupo arilo o heteroarilo, alquilo, haloalquilo, aminoalquilo, amonioalquilo y, en general, grupos alquilo lineales o ramificados, sustituidos por cualquier grupo químico con expresa exclusión de grupos alquilo sustituidos por arilos, como por ejemplo bencilo.

$R_2, R_3$  representa un átomo de hidrógeno o grupos arilo o heteroarilo, alquilo lineales o ramificados, insustituidos o sustituidos con cualquier grupo químico, carbamatos en los que  $R_2$  representa –O-arilos u –O-alquilo, lineales o ramificados, insustituidos o sustituidos por cualquier grupo químico, derivados de urea en los que  $R_2$  representa –NH-arilos o –NH-alquilo, lineales o ramificados, insustituidos o sustituidos por cualquier grupo químico, imidas. En general, cualquier grupo químico capaz de generar la molécula representada en la fórmula general I.

$n$  tiene el valor 1 o 2.

$C^*$  representa el carbono quiral del aminoácido, y puede ser el enantiómero  $R$ , el enantiómero  $S$ , o la mezcla en cualquier proporción de ambos enantiómeros.

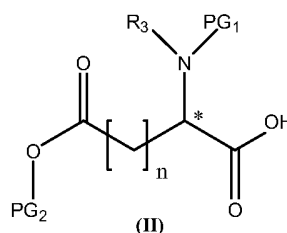
$G_1$  representa O, N mono o disustituido,  $CH_2$ , S o, en general, cualquier grupo o estructura química que pueda utilizarse como unión entre el aminoácido y  $R_4$ .

$R_4$  representa cualquier estructura química combinación de grupos alquilo, arilo o heteroarilo, sustituidos o insustituidos.

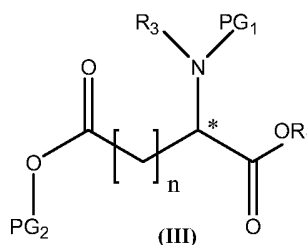
o un isómero, sal farmacéuticamente aceptable y/o solvato del mismo.

caracterizado por las siguientes etapas:

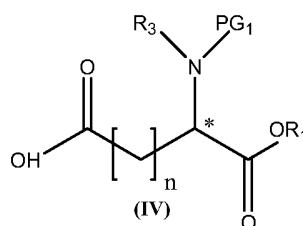
d) reacción de un producto de fórmula (II)



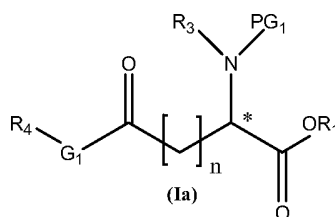
5 en el que PG<sub>1</sub> representa un grupo protector de grupos hidroxilos y PG<sub>2</sub> representa un grupo protector de grupos amino y un alcohol de fórmula R<sub>1</sub>-OH en un disolvente anhidro para obtener los compuestos de fórmula (III)



10 e) desprotección del grupo hidroxilo en los compuestos de fórmula (III) mediante la eliminación del grupo protector de grupos hidroxilos PG<sub>2</sub> para dar el compuesto de fórmula (IV)



15 f) reacción del compuesto de fórmula (IV) con un compuesto de fórmula H-G<sub>1</sub>-R<sub>4</sub> en presencia de un agente de condensación para dar los compuestos de fórmula (Ia)



opcionalmente la hidrólisis del compuesto (Ia) en el que R<sub>2</sub> es un grupo *tert*-butiloxicarbonilo por tratamiento con un ácido fuerte y posterior

acilación del producto resultante por reacción con un cloruro de ácido de fórmula  $R_2COCl$  o con un anhídrido de fórmula  $(R_2CO)_2O$  en un disolvente apolar anhidro.

5

10

15

20

25

30

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES 2008/070221

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

see extra sheet

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C07C,A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

INVENES,EPODOC,WPI,CAS,REGISTRY

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 2004022523 A2 (ELAN PHARMACEUTICALS, PHARMACIA&UPJHON), 18-03-2004 & Base of datos CAS in STN, número of acceso 2004:220301 (Chemical Abstracts 140:270550) abstract, claim 1	1-19

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

<p>* Special categories of cited documents:</p> <p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance.</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure use, exhibition, or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p>	<p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other documents, such combination being obvious to a person skilled in the art</p> <p>"&amp;" document member of the same patent family</p>
---	--

Date of the actual completion of the international search

23 February 2009 (23.02.2009)

Date of mailing of the international search report

(26/03/2009)

Name and mailing address of the ISA/

O.E.P.M.

Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España.

Facsimile No. 34 91 3495304

Authorized officer

P. Fernández Fernández

Telephone No. +34 91 349 53 52

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No.

PCT/ ES 2008/070221

Patent document cited in the search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2004022523 A	18.03.2004	CA 2497979 A	18.03.2004
		AU 2003268550 A	29.03.2004
		US 2004214890 A	28.10.2004
		US 7294642 B	13.11.2007
		NO 20051189 A	10.05.2005
		KR 20050049485 A	25.05.2005
		EP 1534693 A	01.06.2005
		MXPA 05002508 A	03.06.2005
		BR 0314071 A	05.07.2005
		PL 375747 A	12.12.2005
		JP 2005538162 T	15.12.2005
		RU 2005109933 A	20.01.2006
		CN 1732161 A	08.02.2006
		ZA 200502755 A	22.02.2006
		NZ 538625 A	30.05.2008
US 2008161325 A	03.07.2008		

---

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ ES 2008/070221

## CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

**C07C 237/22** (2006.01)

**A61K 31/197** (2006.01)



# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°  
PCT/ES 2008/070221

## A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

### Ver hoja adicional

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y CIP.

## B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)  
C07C,A61K

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES,EPODOC,WPI,CAS,REGISTRY

## C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de las partes relevantes	Relevante para las reivindicaciones N°
A	WO 2004022523 A2 (ELAN PHARMACEUTICALS, PHARMACIA&UPJHON), 18-03-2004 & Base de datos CAS en STN, número de acceso 2004:220301 (Chemical Abstracts 140:270550) resumen, reivindicación 1	1-19

En la continuación del Recuadro C se relacionan otros documentos  Los documentos de familias de patentes se indican en el Anexo

<p>* Categorías especiales de documentos citados:</p> <p>“A” documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.</p> <p>“E” solicitud de patente o patente anterior pero publicada en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.</p> <p>“L” documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).</p> <p>“O” documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.</p> <p>“P” documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.</p>	<p>“T” documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.</p> <p>“X” documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.</p> <p>“Y” documento particularmente relevante; la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.</p> <p>“&amp;” documento que forma parte de la misma familia de patentes.</p>
--	--

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.

23 Febrero 2009 (23.02.2009)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

**26 de Marzo de 2009 (26/03/2009)**

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional  
O.E.P.M.

Paseo de la Castellana, 75 28071 Madrid, España.

N° de fax 34 91 3495304

Funcionario autorizado

P. Fernández Fernández

N° de teléfono +34 91 349 5489

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional N°

PCT/ES 2008/070221

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de Publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de Publicación
WO 2004022523 A	18.03.2004	CA 2497979 A	18.03.2004
		AU 2003268550 A	29.03.2004
		US 2004214890 A	28.10.2004
		US 7294642 B	13.11.2007
		NO 20051189 A	10.05.2005
		KR 20050049485 A	25.05.2005
		EP 1534693 A	01.06.2005
		MXPA 05002508 A	03.06.2005
		BR 0314071 A	05.07.2005
		PL 375747 A	12.12.2005
		JP 2005538162 T	15.12.2005
		RU 2005109933 A	20.01.2006
		CN 1732161 A	08.02.2006
		ZA 200502755 A	22.02.2006
		NZ 538625 A	30.05.2008
		US 2008161325 A	03.07.2008

# INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional N°

PCT/ ES 2008/070221

## CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

**C07C 237/22** (2006.01)

**A61K 31/197** (2006.01)