

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 343 347**

21 Número de solicitud: 200900224

51 Int. Cl.:

**C07D 311/08** (2006.01)

**C07D 311/12** (2006.01)

**C07D 311/14** (2006.01)

**A61K 31/37** (2006.01)

**A61P 25/16** (2006.01)

**A61P 25/18** (2006.01)

**A61P 25/28** (2006.01)

**A61P 3/04** (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación: **27.01.2009**

43 Fecha de publicación de la solicitud: **28.07.2010**

43 Fecha de publicación del folleto de la solicitud:  
**28.07.2010**

71 Solicitante/s:  
**Universidade de Santiago de Compostela  
Edificio CACTUS - Campus Sur  
15782 Santiago de Compostela, A Coruña, ES**

72 Inventor/es: **Santana Penín, Lourdes;  
Orallo Cambeiro, Francisco;  
Viña Castelao, Dolores;  
Correia Pinto Carvalho de Matos, Maria Joao;  
Quezada González, Elias Neftalí;  
Yáñez Jato, Matilde;  
Vilar Varela, Santiago y  
Uriarte Vilares, Eugenio**

74 Agente: **No consta**

54 Título: **Uso de derivados de 3-fenilcumarinas 6-sustituidas y preparación de nuevos derivados.**

57 Resumen:

Uso de derivados de 3-fenilcumarinas 6-sustituidas y preparación de nuevos derivados.

La presente invención se dirige al uso de compuestos de fórmula I, que son derivados de 3-fenilcumarinas con, sustitución en la posición 6, para la preparación de medicamentos para tratar trastornos derivados de la hiperactividad de la isoforma de la MAO-B, como trastornos degenerativos del sistema nervioso central o la obesidad. También se dirige a la preparación de ciertos compuestos de fórmula I que presentan elevada actividad y su uso.

ES 2 343 347 A1

## DESCRIPCIÓN

Uso de derivados de 3-fenilcumarinas 6-sustituidas y preparación de nuevos derivados.

## 5 Sector de la técnica

La presente invención se dirige al uso de compuestos de fórmula I, que son derivados de 3-fenilcumarinas con sustitución en la posición 6, para la preparación de medicamentos para tratar trastornos derivados de la hiperactividad de la isoforma de la MAO-B, como trastornos degenerativos del sistema nervioso central o la obesidad. También se dirige a la preparación de ciertos compuestos de fórmula I que presentan elevada actividad y su uso.

## Estado de la técnica

En cuanto a aspectos biológicos, las monoamino oxidasas (MAO) son una superfamilia heterogénea de flavoenzimas que catalizan la desaminación de neurotransmisores y aminas exógenas. Las dos isoformas denominadas MAO-A y MAO-B han sido identificadas en base a su secuencia de aminoácidos, su estructura tridimensional y la preferencia por determinados sustratos e inhibidores específicos [*Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 102, 12684-9, (2005); *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 100, 9750-5, (2003)]. Así, la MAO-A tiene mayor afinidad por la serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT), adrenalina (A) y noradrenalina (NA) mientras que la MAO-B desamina preferentemente la  $\beta$ -feniletilamina y la bencilamina.

Estas propiedades determinan la importancia clínica de los inhibidores de la MAO [*Curr. Med. Chem.* 11, 2033-43, (2004)]. Los inhibidores MAO-A selectivos (iMAO-A) como la clorgilina o la moclobemida son utilizados en el tratamiento de desórdenes neurológicos tales como la depresión, mientras que los iMAO-B selectivos, tales como el R(-)-deprenilo (en adelante selegilina) y la rasagilina, son de utilidad y están autorizados en España para el tratamiento de la enfermedad del Parkinson.

La enfermedad de Alzheimer (EA), neurodegenerativa y progresiva, supone la causa más común de demencia senil. Aunque tiene una etiología múltiple, parece ser fundamentalmente debida a la acumulación de placas  $\beta$ -amiloides ( $\beta$ A) en el cerebro, lo cual puede promover la degeneración o atrofia de las neuronas colinérgicas, fundamentalmente en la corteza cerebral y en el hipocampo. En consecuencia, clásicamente se ha recurrido al uso de los inhibidores de la acetilcolinesterasa [*CNS Drugs*, 12, 307-23, (1999)] para su tratamiento farmacológico. En la actualidad, sin embargo, se están generando nuevas expectativas al tener en cuenta otros aspectos relacionados con la etiología de la enfermedad tales como la disminución en los niveles de dopamina, noradrenalina y 5-HT, o bien el aumento de la actividad MAO-B cerebral lo que origina un incremento de radicales libres, responsables del estrés oxidativo y muerte celular, así como del desarrollo de las placas  $\beta$ -amiloides en los enfermos de Alzheimer. Aunque se requieren más estudios para su clarificación, se cree que el efecto beneficioso de los inhibidores selectivos de la MAO-B como la selegilina es debido a un doble efecto de reducción en la formación de radicales libres [*Neurotoxicology* 25, 271-7, (2004)] y de incremento en los niveles de monoaminas en el cerebro de dichos enfermos. Sin embargo, la principal aplicación terapéutica de los iMAO-B es el tratamiento de la enfermedad de Parkinson (EP), un trastorno también neurodegenerativo crónico y progresivo, caracterizado por una sintomatología predominantemente motora acompañada casi siempre de síntomas no motores como depresión y ansiedad, y que es debido a una disminución de los niveles de dopamina en el estriado por muerte progresiva de neuronas nigroestriadas. Y si bien la terapia clásica de dicha enfermedad ha recurrido predominantemente a la administración de L-dopa (asociada con un inhibidor de la DOPA descarboxilasa periférica) y a los agonistas dopaminérgicos, más recientemente han aparecido nuevas alternativas terapéuticas como la de los inhibidores de la COMT (entacapona) y la de los inhibidores selectivos de la MAO-B, de los cuales están comercializados en nuestro país la selegilina [*Neurology* 66, 1200-6, (2006)] y la rasagilina [*Am. J. Geriatr. Pharmacother.* 4, 330-6, (2006)].

En cuanto a aspectos químicos, durante las últimas décadas se han sintetizado un elevado número de derivados de la 2H-1-benzopirano-2-ona (en adelante cumarina) cuyas actividades biológicas dependen de la naturaleza y posición de los sustituyentes sobre dicho anillo.

Diversos derivados de la cumarina han sido identificados como inhibidores de diferentes enzimas con potencial aplicación en las enfermedades neurodegenerativas. Así, en 2006, se describió la actividad inhibitoria de diversas 3-carboxamido cumarinas sobre la  $\alpha$ -secretasa y su potencial uso en la terapia de la EA [*J. Med. Chem.* 49, 4275-85, (2006)]. En el mismo año, se sintetizaron diversas sulfoxicumarinas que parecen ser útiles en el tratamiento de diversas patologías relacionadas con el estrés oxidativo y/o reacciones inflamatorias [WO2006002918].

Sin embargo, la actividad farmacológica de las cumarinas más directamente relacionada con la presente invención es su aplicación en la enfermedad del Parkinson derivada de su acción inhibitoria de la MAO-B. En WO2006138475, WO2001012176 se describe la preparación de análogos de cumarina inhibidores de la MAO-B de utilidad en el tratamiento de la obesidad o diabetes, así como en desórdenes cardiometabólicos tales como la hipertensión. Sin embargo además de estos usos terapéuticos, se ha estudiado la potencial aplicación de la actividad iMAO-B de determinadas cumarinas en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas, estudio cuyos resultados en muchos casos han sido objeto de solicitudes de patente. Así, en *J. Med. Chem.* 49, 4912-25, (2006), EP594036, DE 3834860 o DE 3834861 las estructuras de las cumarinas estudiadas poseen grupos aril- o heteroarilalkoxi sobre la posición 7 de dicho anillo. En WO2006102958 se preparan 4-amino y amido-alquil cumarinas 7-sustituidas.

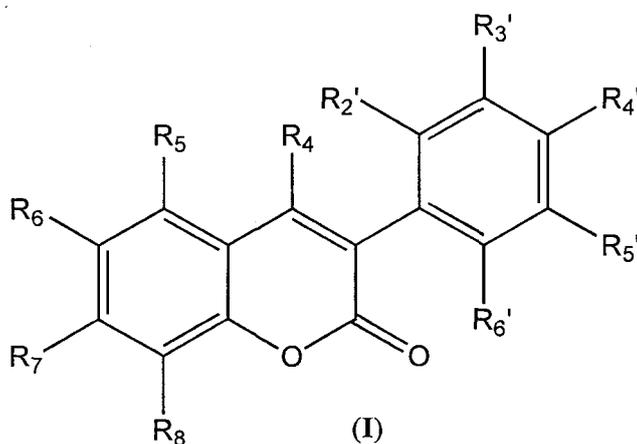
Debido a que tanto la naturaleza como la posición de los sustituyentes sobre el anillo cumarínico influye directamente en la actividad biológica de este tipo de compuestos, se estudió el efecto de un sustituyente fenilo en la posición 3. En este sentido, los investigadores han demostrado la interesante actividad vasodilatadora y antiagregante plaquetaria que tienen diversas 3-fenilcumarinas polihidroxiladas relacionadas con el resveratrol [*Biorg. Med. Chem. Lett.* 16, 257-61, (2006), *QSAR Comb. Sci.* 26, 317-32, (2007)]. También se ha descrito la interacción selectiva de algunos 3-fenil derivados con receptores  $\beta$ -estrogénicos y su efecto beneficioso en el tratamiento de trastornos relacionados con la terapia denominada de re-emplazamiento de estrógeno (ERT) tales como ansiedad, depresión, osteoporosis, cáncer de próstata o la mejora de la función cognitiva en los enfermos de Alzheimer [WO2002030407].

Por otra parte, en *J. Med. Chem.* 46, 2279-82, (2003) se describe una cumarina 3-arisubstituida, primer compuesto con una actividad dual inhibitoria de la acetilcolina humana y a su vez inhibitoria de la agregación de las placas  $\beta$ -amiloides, motivo por el cual se ha revelado como un compuesto beneficioso en la terapia de la EA.

La presente invención proporciona estudios de actividad frente al enzima MAO-B de derivados con una estructura 3-fenilcumarínica sustituida en la posición 6, características que les confiere mayor actividad inhibitoria y una elevada selectividad en comparación a otros derivados descritos.

### Descripción de la invención

La presente invención se dirige al uso de un compuesto de fórmula I, para la preparación de un medicamento para tratar trastornos derivados de la hiperactividad de la isoforma de la MAO-B,



donde,

R2', R3', R4', R5' y R6' son idénticos o diferentes, cada uno independientemente seleccionado entre hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo, alquiloxi, aciloxi, acilo o nitro,

R4 es hidrógeno,

R5, R7 y R8 son idénticos o diferentes, cada uno independientemente seleccionado entre hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo, haloalquilo, alquiloxi, aciloxi, acilo, acilmetoxi, alquilsulfoniloxi, arilsulfoniloxi o nitro,

R6 se selecciona entre halógeno, alquilo, haloalquilo, alquiloxi, aciloxi, acilo, acilmetoxi, alquilsulfoniloxi, arilsulfoniloxi o nitro.

En un aspecto particular los compuestos de fórmula I se seleccionan entre aquellos donde R2', R3', R4', R5' y R6' son idénticos o diferentes, cada uno independientemente seleccionado preferentemente entre hidrógeno, halógeno, hidroxilo, o alquiloxi.

En otro aspecto particular los compuestos de fórmula I se seleccionan entre aquellos donde R6 es preferentemente halógeno, alquilo o haloalquilo.

En un aspecto aún más particular los compuestos de fórmula I son seleccionados entre:

- (1) 3-fenil-6-metilcumarina
- (2) 6-metil-3-(4'-metoxi)fenilcumarina

## ES 2 343 347 A1

- (3) *6-metil-3-(3',5'-dimetoxi)fenilcumarina*  
(4) *6-metil-3-(3',4',5'-trimetoxi)fenilcumarina*  
5 (5) *3-(4'-hidroxi)fenil-6-metilcumarina*  
(6) *6-cloro-3-(2'-hidroxi)fenilcumarina*  
(7) *6-cloro-3-(3'-hidroxi)fenilcumarina*  
10 (8) *6-cloro-3-(4'-hidroxi)fenilcumarina*  
(9) *6-bromo-3-(2'-hidroxi)fenilcumarina*  
15 (10) *6-bromo-3-(3'-hidroxi)fenilcumarina*  
(11) *6-bromo-3-(4'-hidroxi)fenilcumarina*  
(12) *6-bromometil-3-fenilcumarina*  
20 (13) *3-(3'-bromo-4'-metoxi)fenil-6-metilcumarina*  
(14) *8-bromo-3-fenil-6-metilcumarina*  
25 (15) *8-bromo-6-metil-3-(4'-metoxi)fenilcumarina*  
(16) *8-bromo-6-metil-3-(3',5'-dimetoxi)fenilcumarina*

30 En un aspecto particular, los trastornos derivados de la hiperactividad de la isoforma de la MAO-B son trastornos degenerativos del sistema nervioso central u obesidad. Estos trastornos degenerativos son preferentemente Parkinson, Alzheimer, esquizofrenia, demencia senil o ataxia.

35 La presente invención también proporciona procedimientos sintéticos para la obtención de los compuestos de fórmula I, y sus composiciones farmacéuticas.

En otro aspecto se dirige a los compuestos de fórmula I seleccionados preferentemente entre:

- 40 (1) *6-metil-3-(3',5'-dimetoxi)fenilcumarina*  
(2) *6-metil-3-(3',4',5'-trimetoxi)fenilcumarina*  
(3) *3-(4'-hidroxi)fenil-6-metilcumarina*  
45 (4) *6-cloro-3-(3'-hidroxi)fenilcumarina*  
(5) *6-bromo-3-(3'-hidroxi)fenilcumarina*  
(6) *6-bromo-3-(4'-hidroxi)fenilcumarina*  
50 (7) *6-bromometil-3-fenilcumarina*  
(8) *3-(3'-bromo-4'-metoxi)fenil-6-metilcumarina*  
55 (9) *8-bromo-3-fenil-6-metilcumarina*  
(10) *8-bromo-6-metil-3-(4'-metoxi)fenilcumarina*  
60 (11) *8-bromo-6-metil-3-(3',5'-dimetoxi)fenilcumarina*

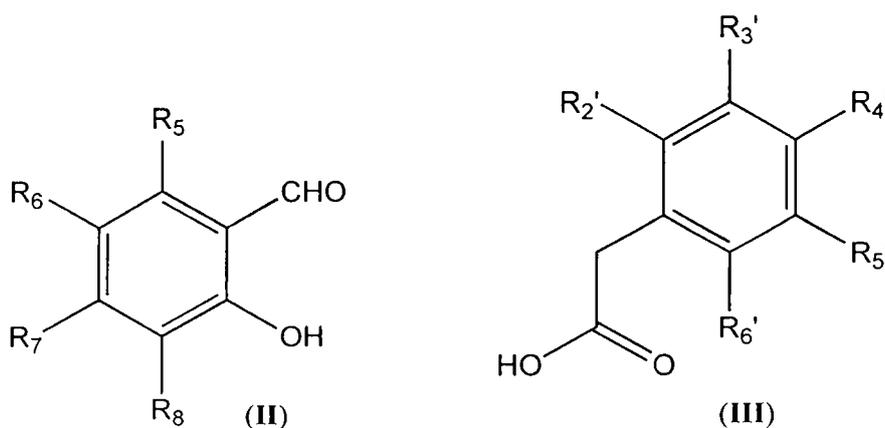
En un aspecto más preferido se dirige a una composición farmacéutica que comprende un compuesto de los recogidos en la lista anterior.

### 65 Descripción detallada de la invención

Como ya se comentó anteriormente, la invención se dirige al uso de los compuestos de fórmula I para la preparación de un medicamento para tratar trastornos derivados de la hiperactividad de la isoforma de la MAO-B.

La invención también proporciona nuevos compuestos de fórmula I, que presentan un alto grado de efectividad en ensayos *in vitro* inhibiendo la isoforma MAO-B en el rango nanomolar-picomolar. Además, estos compuestos presentan a su vez un alto grado de selectividad no modificando la actividad enzimática de la MAO-A. Esta actividad inhibidora hace que estos compuestos sean muy útiles para la preparación de un medicamento para tratar trastornos derivados de la hiperactividad de la isoforma de la MAO-B, como pueden ser trastornos degenerativos del sistema nervioso central, como por ejemplo, Parkinson, Alzheimer, esquizofrenia, demencia senil o ataxia; u obesidad.

Los compuestos de fórmula I pueden prepararse mediante una reacción de Perkin entre los compuestos de fórmula II (salicilaldehídos) y de fórmula III (ácidos fenilacéticos), donde R5, R6, R7, R8, R2', R3', R4' y R5' son como se describieron anteriormente para los compuestos de fórmula I. Preferentemente la reacción se lleva a cabo en presencia de un agente que favorezca el acoplamiento como por ejemplo diciclohexilcarbodiimida (DCC), hidroxibenzotriazol, reactivo de Bates, 1-etiloxicarbonil-2-etiloxi-1,2-dihidroquinolina, carbonildiimidazol o 1-isobutoxicarbonil-2-isobutoxi-1,2-dihidroquinolina.



Los salicilaldehídos de fórmula II y los ácidos 3-fenilacéticos de fórmula III son compuestos comercialmente disponibles o bien pueden obtenerse mediante transformaciones sencillas y de conocimiento general en química.

Para la preparación de los compuestos de fórmula I donde R8 es halógeno es posible realizar una reacción de halogenación en presencia de un agente halogenante como por ejemplo, bromo, yodo, N-bromosuccinimida, N-yodosuccinimida, POCl3, tetrabromociclohexadienona, tribromuro de tetralquilamonio, tribromuro de hexametilentetramina sobre el salicilaldehído de partida. Sin embargo para la obtención de los derivados halogenados sobre el fenilo en la posición 3 o bien presentando haloalquilo en posición 6, la halogenación se lleva a cabo sobre el correspondiente compuesto de fórmula I no halogenado.

#### Preparaciones farmacéuticas

Los compuestos de fórmula general (I) incluidos en la presente invención pueden estar contenidos en formas farmacéuticas para la administración por medio de procesos usuales utilizando sustancias auxiliares tales como materiales líquidos o sólidos. Las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser administradas oral o parenteralmente (por vía intramuscular o intravenosa) en forma de soluciones, polvos, tabletas, comprimidos, cápsulas (incluyendo microcápsulas), etc. Excipientes farmacéuticamente aceptables para tales formulaciones son líquidos o sólidos de relleno y diluyentes, solventes, lubricantes, emulsionantes, condimentos, sustancias colorantes y/o reguladoras del pH. Opcionalmente, es posible emplear sustancias auxiliares, como por ejemplo, el carbonato o estearato de magnesio, dióxido de titanio, polivinilpirrolidona, lactosa, manitol y otros azúcares o alcoholes derivados de azúcares, talco, lactoproteínas, gelatinas, almidón, celulosa y sus derivados, aceites vegetales y animales tales como aceite de hígado de pescado, girasol, aceites de nuez o sésamo, polietilenglicol y solventes tales como, por ejemplo, agua destilada y alcoholes mono- o polihídricos como el glicerol.

#### Métodos farmacológicos

##### Determinación de la actividad de las isoformas de la MAO

Los efectos de los compuestos de fórmula I sobre la actividad de la monoaminoxidasa se determinaron midiendo la producción de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) y, por consiguiente, de resorufina a partir de *p*-tiramina, utilizando el reactivo Amplex<sup>®</sup> Red (Molecular Probes, Eugene, Oregon, EE.UU.) y las isoformas de la MAO presentes en la fracción microsomal preparada a partir de células de insectos (BTI-TN-5B1-4) infectadas con baculovirus recombinantes que contienen insertos de ADNc de MAO-A o MAO-B humana (Sigma-Aldrich Química S.A., Alcobendas, España).

## ES 2 343 347 A1

La MAO tiene dos isoenzimas diferentes, la MAO-A y la MAO-B, que catalizan la oxidación de varios sustratos que contienen restos amino para originar los aldehídos correspondientes, amoníaco y  $H_2O_2$ . La *p*-tiramina, que es oxidada a hidroxifenilacetaldehído, es un sustrato común para la MAO-A y para la MAO-B. La 5-HT y la NA, sin embargo, son oxidadas preferentemente por la MAO-A mientras que la bencilamina y la  $\beta$ -feniletilamina son preferentemente transformadas por la MAO-B [Curr. Med. Chem. 5, 137-62 (1998), Prog. Nucleic Acid Res. Mol. Biol. 65, 129-38, (2001), Curr. Med. Chem. 11, 1983-93 (2004)] (ver también el estado de la técnica, 1., aspectos biológicos).

La producción de  $H_2O_2$  catalizada por las isoformas de la MAO se puede detectar al utilizar el reactivo Amplex<sup>®</sup> Red (10-acetil-3,7-dihidroxifenoxazina), una sustancia no fluorescente, altamente sensible, que reacciona con el  $H_2O_2$  en presencia de la peroxidasa del rábano picante para producir un producto fluorescente, la resorruфина.

En nuestros experimentos, la actividad de la MAO fue evaluada con el método mencionado anteriormente, siguiendo el procedimiento general previamente descrito en Biochem. Biophys. Res. Comm. 344, 688-695, (2006) con algunas modificaciones.

En primer lugar, se incubaron 0,1 ml de tampón fosfato sódico (0,05 M, pH 7,4) conteniendo distintas concentraciones de los nuevos compuestos en estudio (o los inhibidores de referencia) y la cantidad de MAO-A o MAO-B recombinante humana requerida para obtener en nuestras condiciones experimentales la misma velocidad de reacción en presencia de ambas isoenzimas, es decir, para oxidar (en ausencia de fármacos: grupo control) la misma concentración de sustrato: 165 pmoles de *p*-tiramina por minuto (MAO-A: 1,1  $\mu$ g; actividad específica: 150 nmoles de *p*-tiramina oxidados a *p*-hidroxifenilacetaldehído por minuto por mg de proteína; MAO-B: 7,5  $\mu$ g; actividad específica: 22 nmoles de *p*-tiramina transformados por minuto por mg de proteína). Dicha incubación se realizó durante 15 minutos a 37°C en placas de 96 pocillos de fondo negro y plano (Microtest<sup>™</sup> plate, BD, Franklin Lakes, NJ, EE.UU.), ya colocadas en la cámara oscura del lector de fluorescencia (ver el modelo más abajo). Después del período de incubación, la reacción se inició añadiendo (concentraciones finales) 200  $\mu$ M de reactivo Amplex<sup>®</sup> Red, 1 unidad (U)/ml de peroxidasa de rábano picante y 1 mM de *p*-tiramina como sustrato, tanto para los estudios realizados con la MAO-A como para los realizados con la MAO-B.

La producción de  $H_2O_2$  y, por consiguiente, de resorruфина fue cuantificada a 37°C en un lector de fluorescencia de placa (FLX800<sup>™</sup>, Bio-Tek<sup>®</sup> Instruments, Inc., Winooski, VT, EE.UU.) determinando la fluorescencia generada (excitación 545 nm, emisión 590 nm) durante 15 minutos, un período en el cual el incremento de la fluorescencia fue lineal desde el principio.

Simultáneamente se llevaron a cabo experimentos control sustituyendo los compuestos de fórmula I por las diluciones apropiadas de los vehículos. Además, la posible: capacidad de los fármacos para modificar la fluorescencia generada en la mezcla de reacción por una inhibición no enzimática (por ejemplo, por reacción directa con el reactivo Amplex<sup>®</sup> Red), fue evaluada añadiendo estos compuestos de fórmula I y los inhibidores de referencia a soluciones que contenían solamente el reactivo Amplex<sup>®</sup> Red en tampón fosfato sódico.

La emisión de fluorescencia específica (utilizada para obtener los resultados finales) se calculó después de sustraer la actividad de fondo, determinada en viales en los que las soluciones con las isoformas de la MAO se sustituyeron por solución de tampón fosfato sódico.

### Presentación de los datos y análisis estadístico

Salvo indicación contraria, los resultados mostrados en el texto y en las tablas están expresados como la media  $\pm$  error estándar de la media (e.e.m.) de cinco experimentos. La diferencia estadísticamente significativa entre dos medias ( $P < 0,05$  o  $P < 0,01$ ) fue determinada por análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguida del test de comparación múltiple de Dunnett.

Para estudiar los posibles efectos de los compuestos de fórmula I y de los inhibidores de referencia sobre la actividad enzimática de las isoformas de la MAO, se evaluó la variación de fluorescencia por unidad de tiempo [cuantificada como unidades arbitrarias de fluorescencia/minuto] e, indirectamente, la producción de  $H_2O_2$  y, por consiguiente, los pmoles/min de resorruфина producidos en la reacción entre el  $H_2O_2$  y el reactivo Amplex<sup>®</sup> Red. Para ello, se utilizaron varias concentraciones de resorruфина para hacer una curva estándar, siendo X = pmoles de resorruфина e Y = unidades arbitrarias de fluorescencia. Los pmoles de resorruфина producidos son equivalentes a los pmoles de *p*-tiramina oxidados, puesto que la estequiometría de la reacción es 1:1.

En estos experimentos, la actividad IMAO de los compuestos de fórmula I y de los inhibidores de referencia se expresó como  $CI_{50}$ , es decir, como la concentración de cada compuesto necesaria para producir una disminución del valor control de la actividad enzimática de las isoformas de la MAO de un 50%. Los correspondientes valores de las  $CI_{50}$  para cada compuesto fueron calculados, utilizando el programa informático Origin<sup>™</sup> 5.0 (Microcal Software, Inc., Northampton, MA, EE.UU.), a partir de las ecuaciones de las rectas obtenidas por regresión lineal (método de los mínimos cuadrados) de los puntos resultantes al representar el log de la concentración molar del compuesto estudiado (eje de abscisas) frente al porcentaje de inhibición de la actividad MAO control conseguido con las correspondientes concentraciones de cada compuesto (eje de ordenadas). Esta regresión lineal se realizó utilizando los datos obtenidos con 4-6 concentraciones de cada compuesto evaluado capaces de inhibir la actividad enzimática control de los isoenzimas de la MAO entre el 20% y el 80%. Además, se calculó el cociente [ $CI_{50}$  (MAO-A)]/[ $CI_{50}$  (MAO-B)] como indicador de la selectividad en la inhibición mostrada sobre ambas isoformas.

*Fármacos y compuestos químicos evaluados*

Los fármacos y sustancias químicas utilizadas en los experimentos fueron los compuestos de fórmula I, la moclobemida (gentilmente suministrada por los laboratorios Hoffman-La Roche, Basilea, Suiza), la selegilina y el fosfato de iproniazida (adquiridos en Sigma-Aldrich, España), la sal sódica de resorufina, el hidrocloreto de clorgilina, el hidrocloreto de *p*-tiramina, el fosfato sódico y la peroxidasa de rábano picante (suministrados en el *kit* para el ensayo de la MAO Amplex<sup>®</sup> Red de Molecular Probes).

Las diluciones apropiadas de los compuestos mencionados anteriormente se prepararon en agua Milli-Q<sup>®</sup> (Millipore Ibérica S.A., Madrid, España) todos los días antes de su uso a partir de las siguientes soluciones stock concentradas mantenidas a -20°C: los compuestos de fórmula I (0,1 M) en dimetilsulfóxido (DMSO, Sigma-Aldrich); la selegilina, la moclobemida, la iproniazida, la resorufina, la clorgilina, la *p*-tiramina y la peroxidasa de rábano picante (0,1 M) en agua Milli-Q<sup>®</sup>.

Debido a la fotosensibilidad de algunas sustancias utilizadas (por ejemplo, el reactivo Amplex<sup>®</sup> Red), todos los experimentos fueron realizados en la oscuridad. En ninguno de los ensayos, ni el agua Milli-Q<sup>®</sup> ni el vehículo utilizado (DMSO) tuvieron un efecto farmacológico significativo.

Los compuestos de fórmula I evaluados son:

- (1) 3-fenil-6-metilcumarina
- (2) 6-metil-3-(4'-metoxi)fenilcumarina
- (3) 6-metil-3-(3',5'-dimetoxi)fenilcumarina
- (4) 6-metil-3-(3',4',5'-trimetoxi)fenilcumarina
- (5) 3-(4'-hidroxi)fenil-6-metilcumarina
- (6) 6-cloro-3-(2'-hidroxi)fenilcumarina
- (7) 6-cloro-3-(3'-hidroxi)fenilcumarina
- (8) 6-cloro-3-(4'-hidroxi)fenilcumarina
- (9) 6-bromo-3-(2'-hidroxi)fenilcumarina
- (10) 6-bromo-3-(3'-hidroxi)fenilcumarina
- (11) 6-bromo-3-(4'-hidroxi)fenilcumarina
- (12) 6-bromometil-3-fenilcumarina
- (13) 3-(3'-bromo-4'-metoxi)fenil-6-metilcumarina
- (14) 8-bromo-3-fenil-6-metilcumarina
- (15) 8-bromo-6-metil-3-(4'-metoxi)fenilcumarina
- (16) 8-bromo-6-metil-3-(3',5'-dimetoxi)fenilcumarina

*Resultados farmacológicos y formulación del compuesto*

Los valores de  $CI_{50}$  de los compuestos de fórmula general (I), detallados anteriormente, son mostrados en la tabla 1.

TABLA 1

Relación de selectividad para la MAO-B [ $CI_{50}$  (MAO-A)/ $CI_{50}$  (MAO-B)] y valores de  $CI_{50}$  del efecto inhibitor de los fármacos estudiados (incluyendo inhibidores de referencia) sobre la actividad enzimática de las isoformas de la MAO recombinante humana

Compuesto	MAO-A ( $CI_{50}$ )	MAO-B ( $CI_{50}$ )	Relación de selectividad
1	**	283,75 ± 12,67 nM <sup>a</sup>	>352
2	**	13,05 ± 0,58 nM <sup>a</sup>	>7.663

ES 2 343 347 A1

3	**	$8,98 \pm 0,40 \text{ nM}^a$	>11.136	
5				
4	**	$160,64 \pm 7,17 \text{ nM}^a$	>623	
10				
5	**	$155,59 \pm 6,94 \text{ nM}^a$	>643	
15				
6	**	$443,66 \pm 19,81 \text{ nM}^a$	>225	
20				
7	**	$212,00 \pm 9,46 \text{ nM}^a$	>472	
25				
8	**	$133,06 \pm 5,94 \text{ nM}^a$	>752	
30				
9	**	$475,74 \pm 21,23 \text{ nM}^a$	>211	
35				
10	**	$284,91 \pm 12,72 \text{ nM}^a$	>351	
40				
11	***	$64,47 \pm 0,29 \text{ nM}^a$	<1.551	
45				
12	**	$42,67 \pm 1,90 \text{ nM}^a$	>2.344	
50				
13	**	$736,19 \pm 32,86 \text{ pM}^a$	>135.870	
55				
14	**	$11,05 \pm 0,49 \text{ nM}^a$	>9.050	
60				
15	**	$3,23 \pm 0,14 \text{ nM}^a$	>30.960	
65				
16	**	$7,12 \pm 0,32 \text{ nM}^a$	>14.045	
Clorgilina		$4,46 \pm 0,32 \text{ nM}^a$	$61,35 \pm 1,13 \text{ } \mu\text{M}$	0,000073
Selegilina		$67,25 \pm 1,02 \text{ } \mu\text{M}^a$	$19,60 \pm 0,86 \text{ nM}$	3.431
Iproniazida		$6,56 \pm 0,76 \text{ } \mu\text{M}$	$7,54 \pm 0,36 \text{ } \mu\text{M}$	0,87
Moclobemida		$361,38 \pm 19,37 \text{ } \mu\text{M}^a$	*	<0,36

## ES 2 343 347 A1

Los resultados son la media  $\pm$  e.e.m. de cinco experimentos. Nivel de significación estadística:

<sup>a</sup> $P < 0.01$  con respecto al valor correspondiente de  $CI_{50}$  obtenido frente a la MAO-B, determinado por el test ANOVA/Dunnett.

\* Inactivo a 1 mM (mayor concentración estudiada). A concentraciones superiores, la moclobemida precipita.

\*\* Inactivos a 100 (mayor concentración estudiada). A concentraciones superiores, los compuestos precipitan.

\*\*\* A la concentración de 100  $\mu$ M el compuesto inhibe la MAO-A aproximadamente un 40-45%. A concentraciones superiores, el compuesto precipita.

<sup>b</sup>Valor calculado considerando como  $CI_{50}$  frente a la MAO-A la concentración más alta estudiada (100  $\mu$ M).

<sup>c</sup>Valor calculado considerando como  $CI_{50}$  frente a la MAO-B la concentración más alta estudiada (1 mM).

El compuesto 13 se mostró más eficaz que la selegilina para disminuir la actividad de la MAO-B puesto que el valor correspondiente de  $CI_{50}$  fue del orden de 30 veces menor (ver tabla 1). Además, la selectividad del compuesto 13 para inhibir la MAO-B fue notablemente superior a la exhibida por la selegilina (relación de selectividad para la MAO-B [ $CI_{50}$  (MAO-A)/ $CI_{50}$  (MAO-B)]: 135.870 y 3.431, respectivamente) (ver tabla 1).

Por otro lado, algunos de los demás compuestos estudiados (2, 3, 15 y 16) también fueron más activos y más selectivos que la selegilina como inhibidores de la MAO-B (tabla 1), lo que los hace útiles en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos, preferentemente en la enfermedad de Parkinson.

En otro aspecto, la presente invención proporciona formulaciones farmacéuticas para la preparación de un medicamento con los compuestos de fórmula I para la prevención y tratamiento de trastornos relacionados con el Parkinson.

Las dosis en las cuales los compuestos más activos podrían ser administrados varían dentro de un amplio límite, ajustándose a los requerimientos de cada caso en particular. En general, la dosis efectiva para la administración oral o parenteral puede estar comprendida entre 15 ng/kg/día y 150 mg/kg/día, siendo preferida para todas las indicaciones descritas una dosis de 150 ng/kg/día y 15 mg/kg/día. La dosis diaria para un adulto humano con peso de 70 kg varía entre 1,05  $\mu$ g y 10,50 g por día, siendo preferible entre 10,5  $\mu$ g/día y 1,05 g/día.

Las diferentes composiciones farmacéuticas de la invención pueden ser administradas por vía oral o parenteral de acuerdo a las diferentes formulaciones farmacéuticas descritas en las Tablas 2-5.

Ejemplo A

Tableta

TABLA 2

Formulación farmacéutica y peso del principio activo más los excipientes de una tableta

Componente	mg/Tableta
Principio activo	0,05
Lactosa en polvo	195
Almidón	30
Polivinilpirrolidona	20
Carbonato de magnesio	4,95
Peso de la tableta	250

Ejemplo B

*Tableta*

5  
10  
15  
20  
25

TABLA 3  
*Formulación farmacéutica y peso del principio activo más los excipientes de una tableta*

<b>Componente</b>	<b>mg/Tableta</b>
Principio activo	0,1
Lactosa en polvo	400
Almidón	50
Polivinilpirrolidona	40
Carbonato de magnesio	9,9
Peso de la tableta	500

30  
Ejemplo C

*Cápsula*

35  
40  
45  
50  
55

TABLA 4  
*Formulación farmacéutica y peso del principio activo más los excipientes de una cápsula*

<b>Componente</b>	<b>mg/Cápsula</b>
Principio activo	0,01
Lactosa cristalina	70
Microcristales de celulosa	15
Talco	10
Carbonato de magnesio	4,99
Peso de la cápsula	100

60

65

## Ejemplo D

*Solución inyectable*

TABLA 5

*Formulación farmacéutica y cantidad del principio activo más los excipientes de una solución inyectable*

Componente	Cantidad
Principio activo	10 mg
1M HCl	20 µl
NaCl	8 mg
Fenol	10 mg
1M NaOH	c.s.p. pH 5
H <sub>2</sub> O	c.s.p. 1 ml

*Descripción de la figura 1*

En la figura 1 se recogen las curvas concentración-respuesta de los efectos inhibidores producidos por el compuesto 13 y por la selegilina sobre la actividad enzimática de la MAO-B recombinante humana. Cada punto representa la media  $\pm$  e.e.m (indicado por líneas verticales) de cinco experimentos. Estos resultados obtenidos demuestran que el compuesto 13 y la selegilina inhibieron de forma dependiente de la concentración la actividad enzimática de la MAO-B recombinante humana.

Los ejemplos que se aportan a continuación, deberán ser considerados para una mejor comprensión de la presente invención, sin que supongan una limitación de la misma.

## Ejemplo 1

*Preparación de 6-metil-3-(3',5'-dimetoxi)fenilcumarina (3)*

Una solución de 2-hidroxi-5-metilbenzaldehído (1,0 g, 7,43 mmol), ácido 3,5-dimetoxifenilacético (1,80 g, 9,18 mmol) y DCC (2,36 g, 14,32 mmol) en DMSO (20 mL) se mantuvo en agitación y a reflujo durante 48 h. Finalizada la reacción, a la solución fría se añadió hielo y se acidificó con ácido acético manteniéndose en agitación durante 2 horas.

La solución se extrajo con éter (3x25 mL), se lavó con una solución de bicarbonato sódico al 5% y después con agua. La solución orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a vacío. El residuo sólido obtenido se purificó por cromatografía sobre gel de sílice utilizando como eluyente hexano/acetato de etilo (9:1) obteniéndose 3 con 60% de rendimiento.

P.f.: 110-111°C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 2,40 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3,82 (s, 6H, -OCH<sub>3</sub>), 6,50 (t, 1H, H-4', *J*=2,10 Hz), 6,83 (d, 2H, H-2' y H-6', *J*=2,10 Hz), 7,22-7,33 (m, 3H, H-5, H-7 y H-8), 7,74 (s, 1H, H-4).

## Ejemplo 2

*Preparación de 6-metil-3-(3',4',5'-trimetoxi)fenilcumarina (4)*

Fue obtenido siguiendo el mismo procedimiento descrito para 3 y sustituyendo el ácido 3-5-dimetoxifenilacético por el correspondiente ácido 3,4,5-trimetoxifenilacético, obteniéndose 4 con 72% de rendimiento.

P.f.: 165-166°C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 2,43 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3,90 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 3,92 (s, 6H, -(OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 6,93 (d, 2H, H-2' y H-6', *J*=2,10 Hz), 7,24-7,35 (m, 3H, H-5, H-7 y H-8), 7,76 (s, 1H, H-4).

## ES 2 343 347 A1

### Ejemplo 3

#### Preparación de 3-(4'-hidroxi)fenil-6-metil-cumarina (5)

5 Fue obtenido a partir de 6-metil-3-(4'-metoxi)fenilcumarina (0,3 g, 1,13 mmol) [*Indian J. Chem., Sect. B*, 35, 1159-62 (1996)] la cual fue disuelta en una mezcla de ácido acético/anhídrido acético (1:1, 5 mL) enfriada a 0°C y a continuación se añadió lentamente ácido yodhídrico al 57% en disolución acuosa. Una vez finalizada la adición la mezcla de reacción se mantuvo a reflujo durante 24 h. Finalizada la reacción se elimina el disolvente y se purifica por cristalización en acetona/metanol, obteniéndose 5 con un 25% de rendimiento.

10 P.f.: 217-219°C. <sup>1</sup>H RMN (DMSO)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 2,37 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 6,84 (d, 2H, H-3' y H-5', *J*= 8,8 Hz), 7,31 (d, 1H, H-8, *J*= 8,4 Hz), 7,40 (dd, 1H, H-7, *J*= 1,9 y 8,4 Hz), 7,53-7,59 (m, 3H, H-2', H-4', H-5'), 8,06 (s, 1H, H-4).

### 15 Ejemplo 4

#### Preparación de 6-cloro-3-(2'-hidroxi)fenilcumarina (6)

20 Siguiendo el procedimiento descrito para la obtención de 5, a partir de 6-cloro-3-(2'-metoxi)fenilcumarina se obtuvo 6 con un 35% de rendimiento.

P.f.: 222-224°C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 7,06 (m, 2H), 7,30 (m, 3H), 7,71 (m, 1H), 7,80 (d, 1H, *J*= 2,2), 7,86 (s, 1H).

### 25 Ejemplo 5

#### Preparación de 6-cloro-3-(3'-hidroxi)fenilcumarina (7)

30 Siguiendo el procedimiento descrito para la obtención de 5, a partir de 6-cloro-3-(3'-metoxi)fenilcumarina se obtuvo 7 con un 38% de rendimiento.

35 P.f.: 220-222°C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 6,90 (dd, 1H, *J*= 2,4 y 7,7), 7,20 (m, 2H), 7,32 (m, 2H), 7,50 (dd, 1H, *J*= 2,4 y 8,8), 7,55 (d, 1H, *J*= 2,4), 7,78 (s, 1H).

### Ejemplo 6

#### Preparación de 6-cloro-3-(4'-hidroxi)fenilcumarina (8)

40 Siguiendo el procedimiento descrito para la obtención de 5, a partir de 6-cloro-3-(4'-metoxi)fenilcumarina se obtuvo 8 con un 41% de rendimiento.

45 P.f.: 240-242°C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 6,91 (d, 2H, *J*= 8,7), 7,30 (d, 1H, *J*= 8,6), 7,47 (m, 2H), 7,62 (d, 2H, *J*= 8,7), 7,67 (s, 1H).

### Ejemplo 7

#### 50 Preparación de 6-bromo-3-(2'-hidroxi)fenilcumarina (9)

Siguiendo el procedimiento descrito para la obtención de 5, a partir de 6-bromo-3-(2'-metoxi)fenilcumarina se obtuvo 9 con un 39% de rendimiento.

55 P.f.: 226-228°C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 7,07 (m, 2H), 7,35 (m, 3H), 7,69 (m, 1H), 7,76 (d, 1H, *J*= 2,3), 7,85 (s, 1H).

### Ejemplo 8

#### 60 Preparación de 6-bromo-3-(3'-hidroxi)fenilcumarina (10)

Siguiendo el procedimiento descrito para la obtención de 5, a partir de 6-bromo-3-(3'-metoxi)fenilcumarina se obtuvo 10 con un 32% de rendimiento.

65 P.f.: 217-219°C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 6,90 (dd, 1H, *J*= 2,4 y 8,1 Hz), 7,15 (m, 2H), 7,30 (m, 2H), 7,63 (dd, 1H, *J*= 2,3 y 8,8), 7,70 (d, 1H, *J*= 2,3), 7,77 (s, 1H).

## ES 2 343 347 A1

### Ejemplo 9

#### Preparación de 6-bromo-3-(4'-hidroxi)fenilcumarina (11)

5 Siguiendo el procedimiento descrito para la obtención de 5, a partir de 6-bromo-3-(4'-metoxi)fenilcumarina se obtuvo 11 con un 40% de rendimiento.

P.f.: 215-217°C. RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 6,92 (d, 2H, *J*= 8,8), 7,23 (d, 1H, *J*= 8,5), 7,57 (m, 1H), 7,62 (d, 2H, *J*= 8,8), 7,66 (m, 2H).

10

### Ejemplo 10

#### Preparación de 6-bromometil-3-fenilcumarina (12)

15

Una solución de 3-fenil-6-metilcumarina (1,64 g, 6,94 mmol), *N*-bromosuccinimida (1,482 g, 8,33 mmol) y una cantidad catalítica de AIBN en CCl<sub>4</sub> (30 mL) se mantuvo con agitación y reflujo durante 18 horas. Concluida la reacción, la solución se filtró y el filtrado se concentró a vacío y se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando como eluyente hexano/acetato de etilo (9:1) obteniéndose 12 con 46% de rendimiento.

20

P.f.: 174-176°C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 4,56 (s, 2H, -CH<sub>2</sub>), 7,35 (d, 2H, *J*= 8,21), 7,43 (m, 2H), 7,51 (dd, 2H, *J*= 2,18; 8,21), 7,65 (m, 2H), 7,79 (s, 1H).

### Ejemplo 11

#### Preparación de 3-(3'-bromo-4'-metoxi)fenil-6-metilcumarina (13)

30 Siguiendo el procedimiento descrito para la obtención de 12, a partir de 6-metil-3-(4'-metoxi)fenilcumarina (2,0 g, 12,5 mmol), *N*-bromosuccinimida (2,7 g, 15,0 mmol) y una cantidad catalítica de AIBN en CCl<sub>4</sub> se obtuvo 13 con 41% de rendimiento.

P.f.: 206-207°C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 2,42 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3,94 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 6,97 (d, 1H, H-5', *J*= 8,7 Hz), 7,23-7,35 (m, 3H, H-2', H-6' y H-5), 7,71 (m, 2H, H-7 y H-8), 7,89 (d, 1H, H-4, *J*= 3,4 Hz).

35

### Ejemplo 12

#### Preparación de 8-bromo-3-fenil-6-metilcumarina (14)

40

Una solución de 2-hidroxi-5-metilbenzaldehído (0,2 g, 1,5 mmol), NBS (0,314 g, 1,8 mmol) y una cantidad catalítica de AIBN en CCl<sub>4</sub> (5 mL) se mantuvo a reflujo durante 24 horas. El exceso de NBS se elimina por filtración en caliente. Al enfriar la solución filtrada precipita un sólido que se purifica por cromatografía en columna sobre gel de sílice usando como eluyente hexano/acetato de etilo (9:1). El 3-bromo-2-hidroxi-5-metilbenzaldehído así obtenido se utiliza para la síntesis de 14 siguiendo el procedimiento descrito a continuación:

45

Una solución de 3-bromo-2-hidroxi-5-metilbenzaldehído (1,0 g, 7,43 mmol), ácido fenilacético (1,80 g, 9,18 mmol) y DCC (2,36 g, 14,32 mmol) en DMSO (20 mL) se mantuvo en agitación y a reflujo durante 48 h. Finalizada la reacción, a la solución fría se añadió hielo y se acidificó con ácido acético manteniéndose en agitación durante 2 horas. La solución se extrajo con éter (3x25 mL), se lavó con una solución de bicarbonato sódico al 5% y después con agua. La solución orgánica se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se concentró a vacío. El residuo sólido obtenido se purificó por cromatografía sobre gel de sílice utilizando como eluyente hexano/acetato de etilo (9:1) obteniéndose 14 con 45% de rendimiento.

50

P.f.: 158-160°C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 2,41 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 7,27 (d, 1H, *J*= 2,3 Hz, H-7), 7,43-7,47 (m, 3H, H-3', H-4', H-5'), 7,57 (m, 1H, H-5), 7,68-7,71 (m, 3H, H-4, H-2' y H-6').

55

### Ejemplo 13

60

#### Preparación de 8-bromo-6-metil-3-(4'-metoxi)fenilcumarina (15)

Siguiendo el procedimiento descrito para la obtención de 14, a partir de 3-bromo-2-hidroxi-5-metilbenzaldehído (0,25 g, 1,16 mmol), ácido 4-metoxifenilacético (0,241 g, 1,45 mmol) y DCC (0,374 g, 1,81 mmol) se obtuvo 15 con un 47% de rendimiento.

65

P.f.: 144-146°C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  (ppm), *J* (Hz) 2,41 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3,86 (s, 3H, -OCH<sub>3</sub>), 6,98 (d, 2H, H-3' y H-5', *J*= 7,1 Hz), 7,26 (s, 1H, H-7), 7,56 (s, 1H, H-5), 7,65-7,69 (m, 3H, H-2', H-6' y H-4).

## ES 2 343 347 A1

### Ejemplo 14

#### *Preparación de 8-bromo-6-metil-3-(3',5'-dimetoxi)fenilcumarina (16)*

5 Siguiendo el procedimiento descrito para la obtención de 14, a partir de 3-bromo-2-hidroxi-5-metilbenzaldehído (0,25 g, 1,16 mmol), ácido 3,5-dimetoxifenilacético (0,285 g, 1,45 mmol) y DCC (0,374 g, 1,81 mmol) se obtuvo 16 con un 46% de rendimiento.

10 P.f.: 165-167°C. <sup>1</sup>H RMN (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm), J (Hz) 2,40 (s, 3H, -CH<sub>3</sub>), 3,83 (s, 6H, (-OCH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>), 6,52 (t, 1H, H-4', J= 2,3 Hz), 6,83 (d, 2H, H-2' y H-6'), 7,26 (s, 1H, H-7), 7,57 (s, 1H, H-5), 7,70 (s, 1H, H-4).

15

20

25

30

35

40

45

50

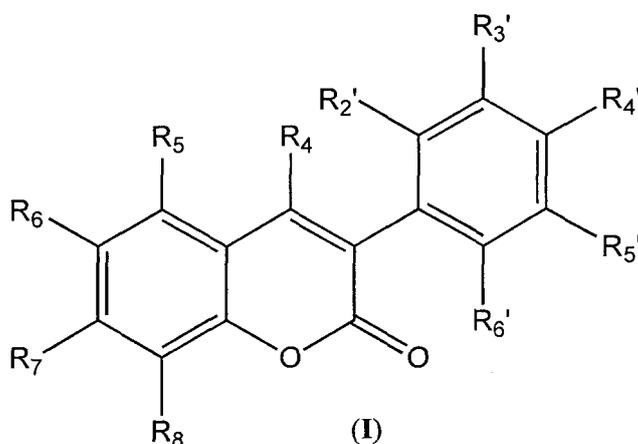
55

60

65

## REIVINDICACIONES

1. Uso de un compuesto de fórmula I, para la preparación de un medicamento para tratar trastornos derivados de la hiperactividad de la isoforma de la MAO-B,



donde,

R2', R3', R4', R5' y R6' son idénticos o diferentes, cada uno independientemente seleccionado entre hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo, alquiloxi, aciloxi, acilo o nitro,

R4 es hidrógeno,

R5, R7 y R8 son idénticos o diferentes, cada uno independientemente seleccionado entre hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo, haloalquilo, alquiloxi, aciloxi, acilo, acilmetoxi, alquilsulfoniloxi, arilsulfoniloxi o nitro,

R6 se selecciona entre halógeno, alquilo, haloalquilo, alquiloxi, aciloxi, acilo, acilmetoxi, alquilsulfoniloxi, arilsulfoniloxi o nitro.

2. Uso de un compuesto de fórmula I, según la reivindicación 1, donde R2', R3', R4', R5' y R6' son idénticos o diferentes, cada uno independientemente seleccionado preferentemente entre hidrógeno, halógeno, hidroxilo, o alquiloxi.

3. Uso de un compuesto de fórmula I, según la reivindicaciones anteriores, donde R6 es preferentemente halógeno, alquilo o haloalquilo.

4. Uso de un compuesto de fórmula I, según la reivindicaciones anteriores, seleccionado preferentemente entre:

- (1) 3-fenil-6-metilcumarina
- (2) 6-metil-3-(4'-metoxi)fenilcumarina
- (3) 6-metil-3-(3',5'-dimetoxi)fenilcumarina
- (4) 6-metil-3-(3',4',5'-trimetoxi)fenilcumarina
- (5) 3-(4'-hidroxi)fenil-6-metilcumarina
- (6) 6-cloro-3-(2'-hidroxi)fenilcumarina
- (7) 6-cloro-3-(3'-hidroxi)fenilcumarina
- (8) 6-cloro-3-(4'-hidroxi)fenilcumarina
- (9) 6-bromo-3-(2'-hidroxi)fenilcumarina
- (10) 6-bromo-3-(3'-hidroxi)fenilcumarina
- (11) 6-bromo-3-(4'-hidroxi)fenilcumarina

(12) *6-bromometil-3-fenilcumarina*

(13) *3-(3'-bromo-4'-metoxi)fenil-6-metilcumarina*

5 (14) *8-bromo-3-fenil-6-metilcumarina*

(15) *8-bromo-6-metil-3-(4'-metoxi)fenilcumarina*

(16) *8-bromo-6-metil-3-(3',5'-dimetoxi)fenilcumarina*

10

5. Uso, según las reivindicaciones anteriores, donde los trastornos derivados de la hiperactividad de la isoforma de la MAO-B son trastornos degenerativos del sistema nervioso central u obesidad.

15 6. Uso, según la reivindicación 5, donde los trastornos degenerativos a tratar son preferentemente Parkinson, Alzheimer, esquizofrenia, demencia senil o ataxia.

7. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I como se describió en las reivindicación 1 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

20 8. Un compuesto de fórmula I, como se definieron en la reivindicación 1, seleccionado preferentemente entre:

(1) *6-metil-3-(3',5'-dimetoxi)fenilcumarina*

(2) *6-metil-3-(3',4',5'-trimetoxi)fenilcumarina*

25

(3) *3-(4'-hidroxi)fenil-6-metilcumarina*

(4) *6-cloro-3-(3'-hidroxi)fenilcumarina*

30

(5) *6-bromo-3-(3'-hidroxi)fenilcumarina*

(6) *6-bromo-3-(4'-hidroxi)fenilcumarina*

(7) *6-bromometil-3-fenilcumarina*

35

(8) *3-(3'-bromo-4'-metoxi)fenil-6-metilcumarina*

(9) *8-bromo-3-fenil-6-metilcumarina*

40

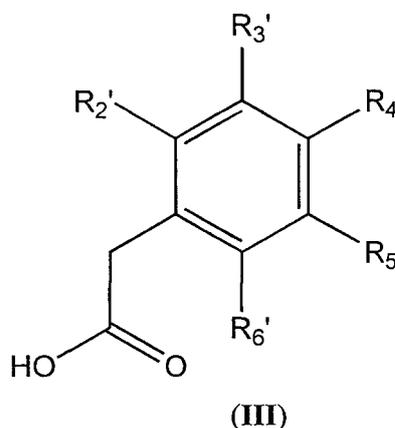
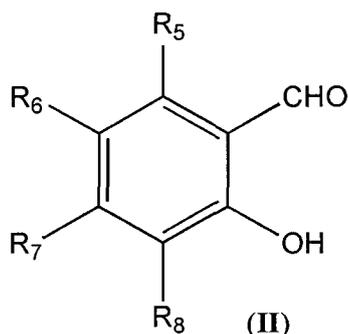
(10) *8-bromo-6-metil-3-(4'-metoxi)fenilcumarina*

(11) *8-bromo-6-metil-3-(3',5'-dimetoxi)fenilcumarina*

45 9. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto según la reivindicación 8 y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

10. Un procedimiento para la obtención de un compuesto de fórmula I, como se describió en la reivindicación 1 seleccionados entre aquellos donde uno entre R3' o R8 es halógeno, que consiste en

50 a) bromación de un compuesto de fórmula II



## ES 2 343 347 A1

b) reacción de Perkin entre un compuesto de fórmula II y un compuesto de fórmula III, donde R5, R6, R7, R8, R2', R3', R4' y R5' son como se describieron en la reivindicación 1.

5 11. Un procedimiento para la obtención de un compuesto de fórmula I, como se describió en la reivindicación 1 seleccionados entre aquellos donde R6 es haloalquilo, que consiste en la bromación de un compuesto de fórmula I donde R6 es alquilo.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65

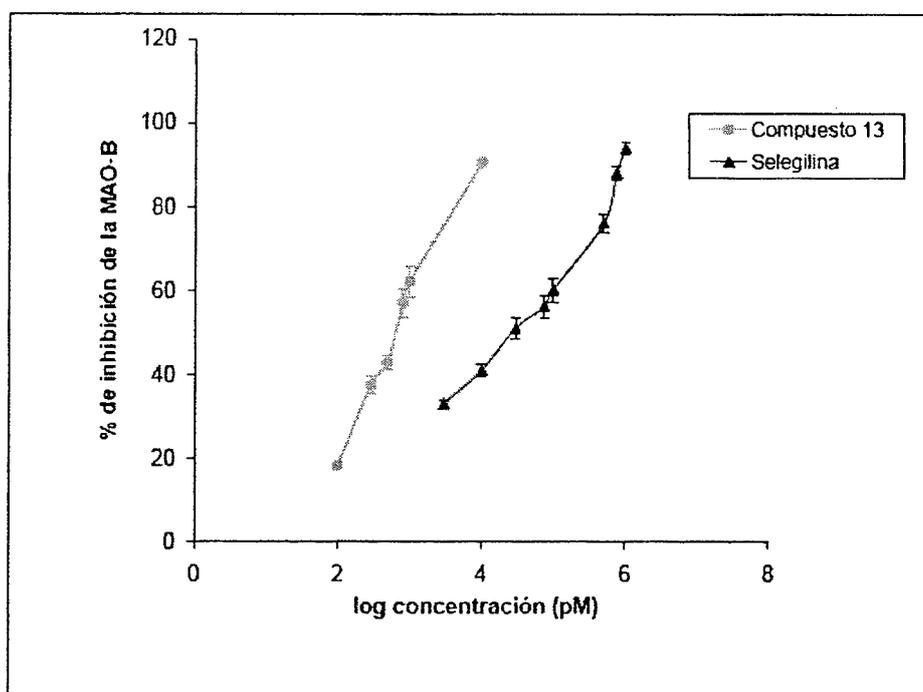


Figura 1



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 343 347

② Nº de solicitud: 200900224

③ Fecha de presentación de la solicitud: 27.01.2009

④ Fecha de prioridad:

## INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ **Int. Cl.:** Ver hoja adicional

### DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	VILAR, S. et al. "Design, synthesis, and vasorelaxant and platelet antiaggregatory activities of coumarin-resveratrol hybrids". Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2006, Volumen 16, páginas 257-261. Ver especialmente página 257, resumen; página 258, esquema 1, compuestos 10 y 11.	1,2,5-8, 10,11
X	WO 2000/062765 A2 (ASTAZENECA AB) 26.10.2000, página 1, líneas 4-9; páginas 10-12, tabla 1, compuestos 28-30, 38-41, 43.	1,2,5-8
X	WO 2002/002548 A1 (ORION CORPORATION) 10.01.2002, página 11, fórmulas Ic y Ic'; página 1, líneas 3-30; ejemplos 1, 4, 5 y 6.	1,2,5-8, 10,11
X	JP 49054371 A (SUMITOMO CHEMICAL CO., LTD.) 27.05.1974 (resumen) [en línea] [recuperado el 22.04.2010]. Recuperado de WPI/Thomson Database. Número de acceso AN: 1974-65370V [37]; DW: 197437.	8,9
X	EP 1815872 A1 (NAGASAKI UNIVERSITY) 08.08.2007, página 2, párrafo [0001], página 3, línea 40-página 4, línea 3; página 26, tabla 24, compuestos III-136-141; página 27, tabla 25, compuestos III-156-161; página 41, párrafo [0093].	1-3,5-8, 10,11
A	NOVAROLI, L. et al. "Human recombinant monoamine oxidase B as reliable and efficient enzyme source for inhibitor screening". Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 2005, Volumen 13, páginas 6212-6217. Ver especialmente página 6212, resumen; página 6214, tabla 2.	1-11
A	WALTER, R. et al. "Synthesis and Cyclization Reactions of 3-(2-Hydroxybenzylidene)-2(3H)-coumaranones". Journal of Organic Chemistry 1966, Volumen 31, páginas 3854-3857. Ver especialmente página 3855, tabla II.	1-11

#### Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

#### El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

25.05.2010

Examinador

G. Esteban García

Página

1/5

CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

**C07D 311/08** (2006.01)

**C07D 311/12** (2006.01)

**C07D 311/14** (2006.01)

**A61K 31/37** (2006.01)

**A61P 25/16** (2006.01)

**A61P 25/18** (2006.01)

**A61P 25/28** (2006.01)

**A61P 3/04** (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07D, A61K, A61P

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

INVENES, EPODOC, WPI, REGISTRY, CAPLUS, EMBASE, MEDLINE, BIOSIS, XPESP, NPL, PUBMED

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 25.05.2010

**Declaración**

<b>Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones	4,8,10,11	<b>SÍ</b>
	Reivindicaciones	1-3,5-7,9	<b>NO</b>
<b>Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)</b>	Reivindicaciones	4	<b>SÍ</b>
	Reivindicaciones	1-3,5-11	<b>NO</b>

Se considera que la solicitud cumple con el requisito de **aplicación industrial**. Este requisito fue evaluado durante la fase de examen formal y técnico de la solicitud (Artículo 31.2 Ley 11/1986).

**Base de la Opinión:**

La presente opinión se ha realizado sobre la base de la solicitud de patente tal y como ha sido publicada.

**1. Documentos considerados:**

A continuación se relacionan los documentos pertenecientes al estado de la técnica tomados en consideración para la realización de esta opinión.

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	Bioorg. Med. Chem. Lett. 2006, Vol. 16, pp. 257-261	2006
D02	WO 2000/062765 A2	26-10-2000
D03	WO 2002/002548 A1	10-01-2002
D04	JP 49054371 A	27-05-1974
D05	EP 1815872 A1	01-06-2006

**2. Declaración motivada según los artículos 29.6 y 29.7 del Reglamento de ejecución de la Ley 11/1986, de 20 de marzo, de patentes sobre la novedad y la actividad inventiva; citas y explicaciones en apoyo de esta declaración**

El objeto de la invención es el uso de un compuesto derivado de cumarina de fórmula I para la preparación de un medicamento para tratar trastornos derivados de la hiperactividad de la isoforma de la monoamino oxidasa B (MAO-B), una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I; un compuesto de fórmula I y un procedimiento para la obtención del mismo.

Novedad (Artículo 6.1 de la Ley de Patentes):

El documento D01 divulga compuestos con estructura híbrida entre resveratrol y cumarina entre los que se encuentran los compuestos 10 y 11, que son respectivamente 6,8-dimetoxi-3-(3,5-dimetoxi)fenilcumarina y 6-metoxi-3-(3,5-dimetoxi)fenilcumarina, y que se incluyen dentro de la fórmula general (I) de la invención (siendo en el compuesto de la invención  $R_2'=R_3'=R_6=R_8=OMe$ ,  $R_4=R_5=R_7=H$ , en el caso del compuesto 10; y  $R_2'=R_3'=R_6=OMe$ ,  $R_4=R_5=R_7=R_8=H$ , en el caso del compuesto 11; ver página 258, esquema 1). Estos compuestos se pueden preparar por reacción de Perkin entre el orto-hidroxibenzaldehído adecuado (compuestos 6 y 7) y ácido 2-(3,5-dimetoxi)fenilacético y presentan interesantes propiedades farmacológicas como vasodilatadores y antiagregantes plaquetarios (ver página 259, columna 2, párrafo 2).

Por tanto, se considera que el objeto de las reivindicaciones 1, 2, 5-7 no presenta novedad respecto a lo divulgado en el documento D01.

El documento D02 divulga una serie de ligandos de -receptor de estrógeno y su aplicación para la terapia de enfermedades relacionadas con dicho receptor, como son la enfermedad de Alzheimer, ansiedad, depresión, osteoporosis, enfermedades cardiovasculares, artritis reumatoide o cáncer de próstata (ver página 1, líneas 4-9). Entre los compuestos recogidos en el documento se encuentran los derivados de 3-(4-hidroxi)fenilcumarina 28-30, 38-41 y 43, y el derivado de 3-(4-cloro)fenilcumarina 42 (ver páginas 10-12, tabla 1).

En consecuencia, se considera que el objeto de las reivindicaciones 1, 2, 5-7 no es nuevo respecto a lo divulgado en el documento D02.

El documento D03 divulga una serie de compuestos derivados de dihidroxi y dialcoxicumarina de fórmula Ic y Ic' (ver página 11), las composiciones farmacéuticas obtenidas a partir de ellos, su uso como inhibidores de la enzima catecol-O-metiltransferasa (COMT), y por tanto, su aplicación en el tratamiento de enfermedades tales como la enfermedad de Parkinson, hipertensión, fallos cardíacos, o para la prevención de disfunciones vasculares relacionadas con la diabetes (ver página 1, líneas 3-30). En concreto, algunos de los compuestos divulgados son 7,8-dimetoxi-6-nitro-3-(4-nitrofenil)-cromen-2-ona y 7,8-dihidroxi-6-nitro-3-(4-nitrofenil)-cromen-2-ona (página 17, ejemplo 1); 7,8-dimetoxi-6-nitro-3-fenil-cromen-2-ona y 7,8-dihidroxi-6-nitro-3-fenil-cromen-2-ona (página 18, ejemplo 3); 3-(4-clorofenil)-7,8-dimetoxi-6-nitro-cromen-2-ona y 3-(4-clorofenil)-7,8-dihidroxi-6-nitro-cromen-2-ona (página 18, ejemplo 4); 7,8-dimetoxi-6-nitro-3-o-tolil-cromen-2-ona y 7,8-dihidroxi-6-nitro-3-o-tolil-cromen-2-ona (página 18, ejemplo 5); 7-hidroxi-6-metoxi-8-nitro-3-fenil-cromen-2-ona (página 19, ejemplo 6). Todos estos compuestos, que se preparan a partir de los correspondientes 2-hidroxibenzaldehídos y el ácido fenilacético apropiado por medio de una reacción de Perkin (ver página 17, ejemplo 1), se integran en la fórmula general I de la invención.

Por tanto, se considera que el objeto de las reivindicaciones 1, 2, 5-7 no es nuevo según lo divulgado en el documento D03.

Hoja adicional

El documento D04 divulga una serie de 3-(p-hidroxifenil)cumarinas de fórmula general II sustituidas en las posiciones 5 a 8 del anillo de cumarina por grupos metilo, nitro bromo o metoxilo, como intermedios para la obtención de los correspondientes 3-p-carboxiderivados, que presentan actividad hipocolesterémica. En concreto, se divulgan los compuestos 3-(p-hidroxifenil)-6-nitrocumarina y 3-(p-hidroxifenil)-6-bromocumarina, que es exactamente el compuesto 11 de la invención (RN: 53592-44-2; ver además: Base de Datos REGISTRY (STN), disponible el 16.11.1984).

Por tanto, se considera que el objeto de la reivindicación 9 no es nuevo según lo divulgado en el documento D04.

El documento D05 divulga una serie de compuestos derivados de benzopirranonas, así como las composiciones farmacéuticas que los comprenden y su uso para el diagnóstico de enfermedades relacionadas con amiloides, tales como la enfermedad de Alzheimer, o para la evaluación de agentes terapéuticos o preventivos contra dichas enfermedades (ver página 2, párrafo [0001]). Entre dichas benzopirranonas se encuentran los derivados de cumarina de fórmula general (III), que cuando R1, R3 y R4 son hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo, alcoxilo o nitro; R2 es halógeno, hidroxilo, alquilo, alcoxilo o nitro; y R8 es un grupo arilo opcionalmente sustituido, solapa con la fórmula general de la invención (ver página 3, línea 40-página 4, línea 3).

En concreto, se recogen los compuestos III-136 a III-141, 6-fluoro-3-fenilcumarinas en las que el fenilo está sustituido en posiciones 2, 3 ó 4 por un grupo hidroxilo o metoxilo (ver página 26, tabla 24), los compuestos III-156 a III-161, 6-iodo-3-fenilcumarinas en las que, igualmente, el fenilo está sustituido en posiciones 2, 3 ó 4 por un grupo hidroxilo o metoxilo (ver página 27, tabla 25) y la 6-bromo-3-(4-nitrofenil)cumarina, que se obtiene por reacción de 5-bromosalicilaldehído y ácido p-nitrofenilacético en presencia de una sal de piridinio.

Por tanto, se considera que el objeto de las reivindicaciones 1-3, 5-7 no presenta novedad según lo divulgado en el documento D05.

Actividad inventiva (Artículo 8.1 de la Ley de Patentes):

La reivindicación 9 se refiere a las fenilcumarinas de fórmula general (I) en las que R6 es alquilo o alcoxilo. Aunque dichas fenilcumarinas no se encuentran explícitamente divulgadas en ninguno de los documentos citados D01-D05, se considera que la selección de dichos sustituyentes en la posición 6 del anillo de cumarina constituye una alternativa que el experto en la materia se plantearía de manera arbitraria en el ejercicio de su actividad rutinaria, por lo que dicha reivindicación carece de actividad inventiva.

Por otro lado, las reivindicaciones 9 y 10 se refieren a un procedimiento para la síntesis de los compuestos de la invención en los que R3' ó R8, y R6, respectivamente, es un hálgeno, que supone una etapa de halogenación previa o posterior a la reacción de Perkin entre el 2-hidroxialdehído y el ácido 2-fenilacético apropiados.

Se considera que dicha etapa adicional de halogenación resultaría evidente para el experto en la materia a la luz de lo divulgado en cada uno de los documentos D01, D03 y D05, considerados por separado, que recogen procedimientos para la síntesis de 3-fenilcumarinas por medio de reacciones de Perkin, por lo que dichas reivindicaciones 9 y 10 carecen igualmente de actividad inventiva.

Sin embargo, ninguno de los documentos citados divulga el uso terapéutico de las 3-fenilcumarinas recogidas en la reivindicación 5. Por tanto, se considera que el objeto de dicha reivindicación 4, que se refiere al uso de una serie de 3-fenilcumarinas 6-sustituidas concretas para la preparación de un medicamento para tratar trastornos derivados de la hiperactividad de la isoforma de la monoamino oxidasa B (MAO-B) es nuevo y presenta actividad inventiva.

En consecuencia, se considera que el objeto de la reivindicación 4 cumple los requisitos de novedad y actividad inventiva exigidos en los artículos 6.1 y 8.1 de la Ley de Patentes.