

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 814 178**

51 Int. Cl.:

A01N 43/40 (2006.01)

A61K 31/445 (2006.01)

C07D 211/46 (2006.01)

C07D 211/60 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **05.10.2010 E 16191218 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **27.05.2020 EP 3143875**

54 Título: **Nuevas composiciones para prevenir y/o tratar trastornos degenerativos del sistema nervioso central**

30 Prioridad:

19.10.2009 US 252803 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

26.03.2021

73 Titular/es:

AMICUS THERAPEUTICS, INC. (100.0%)

**3675 Market Street
Philadelphia, PA 19104 , US**

72 Inventor/es:

**BOYD, ROBERT;
LEE, GARY y
RYBCZYNSKI, PHILIP**

74 Agente/Representante:

LEHMANN NOVO, María Isabel

ES 2 814 178 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Nuevas composiciones para prevenir y/o tratar trastornos degenerativos del sistema nervioso central

CAMPO DE LA INVENCION

5 La presente invención proporciona nuevos compuestos, conocidos como chaperonas farmacológicas, así como también composiciones y métodos que los usan para prevenir y/o tratar trastornos degenerativos del sistema nervioso central. En particular, la presente invención proporciona métodos para prevenir y/o tratar la enfermedad de Parkinson.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

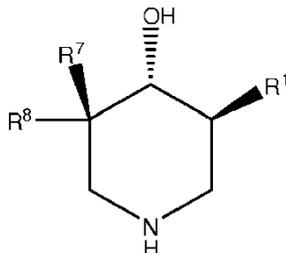
10 Muchos trastornos degenerativos del sistema nervioso central se asocian con la acumulación patológica de proteínas o lípidos. Por ejemplo, las sinucleinopatías son un grupo de enfermedades que surgen de un trastorno de la homeostasis de la proteína sinucleína. En particular, la acumulación de alfa-sinucleína se asocia con afecciones patológicas caracterizadas por cuerpos de Lewy, tales como enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy y atrofia de múltiples sistemas. Del mismo modo, un fragmento de alfa-sinucleína, un componente no Abeta, se encuentra en placas amiloides de la enfermedad de Alzheimer. Recientemente, una mejora de la actividad de la glucocerebrosidasa (beta-glicosidasa; GCasa) en el cerebro ha demostrado prevenir la acumulación de sinucleína en el cerebro (Sean Clark, Ying Sun, You-Hai Xu, Gregory Grabowski y Brandon Wustman, "A biochemical link between Gaucher and Parkinson's disease and a potential new approach to treating synucleinopathies: a pharmacological chaperone for beta-glucocerebrosidase prevents accumulation of alpha-synuclein in a Parkinson's mouse model", presentado en la Reunión Anual de la Sociedad de Neurociencia, San Diego, CA, 2007). De este modo, los agentes que mejoran la actividad de GCasa pueden proporcionar un alivio para los pacientes con riesgo de desarrollar o de que se les diagnostique trastornos degenerativos del sistema nervioso central.

15 Existe la necesidad de nuevos compuestos terapéuticos que puedan usarse para prevenir y/o tratar trastornos degenerativos del sistema nervioso central que proporcionen a los pacientes una mejor calidad de vida y alcancen un mejor resultado clínico. En particular, existe la necesidad de nuevos compuestos terapéuticos para prevenir y/o tratar sinucleinopatías tales como enfermedad de Parkinson y enfermedad de Alzheimer que proporcionen a los pacientes una mejor calidad de vida y alcancen un mejor resultado clínico.

20 El documento WO 2007/150064 describe un método de aumentar la estabilidad de β -glucocerebrosidasa de tipo salvaje y de tratar y/o prevenir a un individuo que tenga una enfermedad neurológica en la que sería beneficiosa una expresión o actividad incrementada de β -glucocerebrosidasa en el sistema nervioso central. Este método comprende administrar una cantidad eficaz de una chaperona farmacológica para β -glucocerebrosidasa, con la condición de que el individuo no tenga una mutación en el gen que codifica la β -glucocerebrosidasa. Además, se proporcionan inhibidores de β -glucocerebrosidasa que han sido identificados como chaperonas farmacológicas específicas y que han demostrado aumentar la actividad de β -glucocerebrosidasa in vivo en el sistema nervioso central.

COMPENDIO DE LA INVENCION

35 En un aspecto de la invención se proporciona un compuesto de Fórmula III:



en donde:

R¹ es C(R²)(R³)(R⁴);

40 R² es hidrógeno, -OH o halógeno;

R³ es hidrógeno, -OH, halógeno o -CH₃;

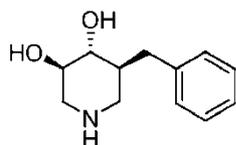
R⁴ es halógeno, -CH₃, fenilo, fluorofenilo, metilfenilo, ciclohexilmetilo, en donde cuando R⁴ es un halógeno, tanto R² como R³ no pueden ser hidrógeno;

R³ y R⁴ pueden juntarse con el carbono al que están unidos para formar un anillo cicloalquilo, que puede estar opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno;

R⁷ es -OH o halógeno; y

R⁸ es hidrógeno, halógeno o -CH₃;

- 5 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo,
con la condición de que el compuesto no sea:

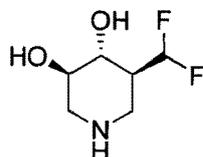


Se entiende por parte de una persona de experiencia ordinaria en la técnica que R², R³ y R⁴ en la Fórmula III antes mencionada no se seleccionará de manera que resultará una molécula inestable.

- 10 Una composición farmacéutica puede comprender este compuesto y al menos un soporte farmacéuticamente aceptable.

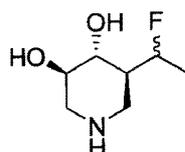
- 15 Preferiblemente, el compuesto es para uso en prevenir y/o tratar una afección seleccionada de la enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewis, atrofia del sistema múltiple o enfermedad de Alzheimer en un paciente en riesgo de desarrollar o de ser diagnosticado con la misma.

Preferiblemente el compuesto es:



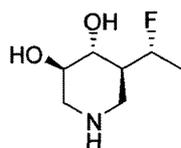
o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 20 Como alternativa, es preferible que el compuesto sea:



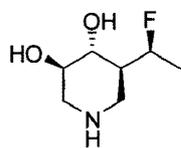
o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Como alternativa, es preferible que el compuesto sea:



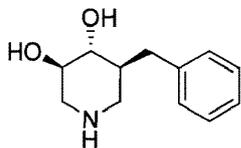
- 25 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Como alternativa, es preferible que el compuesto sea:



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

Como alternativa, es preferible que el compuesto sea:



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

- 5 Preferiblemente, el compuesto se administra en combinación con al menos otro agente terapéutico seleccionado de levodopa, un anticolinérgico, un inhibidor de catecol-O-metil transferasa, un agonista del receptor de dopamina, un inhibidor de monoamina oxidasa, un inhibidor de descarboxilasa periférica o un agente anti-inflamatorio.

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

Tal como se utilizan en la presente, los siguientes términos tendrán las definiciones establecidas más abajo.

- 10 Tal como se utiliza en la presente, la frase "trastorno degenerativo del sistema nervioso central" significa cualquier trastorno asociado a la degeneración prematura de cualquier componente del sistema nervioso central, tal como neuronas, vainas de mielina o axones. Dichos trastornos incluyen, a modo no taxativo, demencia por infarto múltiple, enfermedad de Huntington, enfermedad de Pick, esclerosis lateral amiotrófica, enfermedad de Creutzfeldt-Jakob, degeneración del lóbulo frontal, degeneración corticobasal, parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewy, atrofia de múltiples sistemas o enfermedad de Alzheimer.

15 Tal como se utiliza en la presente, el término "tratar" significa mejorar uno o más de los síntomas asociados al trastorno de referencia.

Tal como se utiliza en la presente, el término "prevenir" significa mitigar un síntoma del trastorno de referencia.

- 20 Tal como se utiliza en la presente, la frase "una cantidad efectiva" significa una cantidad efectiva para prevenir y/o tratar un paciente con riesgo de desarrollar o de que se le diagnostique el trastorno de referencia y así producir el efecto terapéutico deseado.

Tal como se utiliza en la presente, el término "paciente" significa un mamífero (por ejemplo, un humano).

- 25 A continuación se enumeran definiciones químicas de varios términos utilizados para describir la invención. Estas definiciones se aplican a los términos tal como se utilizan en toda esta memoria descriptiva, a menos que se limite de otra forma en casos específicos, ya sea individualmente o como parte de un grupo mayor.

El término "alquilo" se refiere a grupos hidrocarburo insustituídos de cadena recta o ramificada de 1 a 20 átomos de carbono, preferiblemente de 1 a 8 átomos de carbono, más preferiblemente de 1 a 6 átomos de carbono. La expresión "alquilo inferior" se refiere a grupos alquilo insustituídos de 1 a 4 átomos de carbono.

- 30 El término "alquilo sustituido" se refiere a un grupo alquilo sustituido por, por ejemplo, uno a cuatro sustituyentes, tales como, halo, hidroxilo, alcoxi, oxo, alcanilo, arilo, alcoxilo, amino, alquilamino, arilamino, aralquilamino, aminas disustituídas en las que los 2 sustituyentes amino se seleccionan de alquilo, arilo o aralquilo; alcanoilamino, aroilamino, aralcanoilamino, alcanoilamino sustituido, arilamino sustituido, aralcanoilamino sustituido, tiol, alquiltio, ariltio, aralquiltio, alquiltionio, ariltionio, aralquiltionio, alquilsulfonilo, arilsulfonilo, aralquilsulfonilo, sulfonamido, por ejemplo SO_2NH_2 , sulfonamido sustituido, nitro, ciano, carboxi, carbamilo, por ejemplo CONH_2 , carbamilo sustituido
- 35 por ejemplo CONHalquilo, CONHarilo, CONHaralquilo o casos en donde hay dos sustituyentes en el nitrógeno que se seleccionan de alquilo, arilo o aralquilo; alcoxycarbonilo, arilo, arilo sustituido, guanidino y heterociclos, tales como, indolilo, imidazolilo, furilo, tienilo, tiazolilo, pirrolidilo, piridilo, pirimidilo y similares. En donde se indica anteriormente que el sustituyente está adicionalmente sustituido lo estará por alquilo, alcoxi, arilo o aralquilo.

El término "halógeno" o "halo" se refiere a flúor, cloro, bromo y yodo.

- 40 El término "arilo" se refiere a grupos hidrocarburo aromáticos monocíclicos o bicíclicos que tienen de 6 a 12 átomos de carbono en la porción del anillo, tales como fenilo, naftilo, bifenilo y difenilo, cada uno de los cuales puede estar sustituido.

- 45 El término "aralquilo" se refiere a un grupo arilo enlazado directamente a través de un grupo alquilo, tal como bencilo. De manera similar, el término "alquilarilo" se refiere a un grupo alquilo enlazado directamente a través de un grupo arilo, tal como metilbencilo.

- 5 El término “arilo sustituido” se refiere a un grupo arilo sustituido por, por ejemplo, uno a cuatro sustituyentes tales como alquilo, alquilo sustituido, halo, trifluorometoxi, trifluorometilo, hidroxilo, alcoxi, alcanilo, alcaniloxi, amino, alquilamino, aralquilamino, dialquilamino, alcanilamino, tiol, alquiltio, ureido, nitro, ciano, carboxi, carboxialquilo, carbamilo, alcoxycarbonilo, alquiltiono, ariltiono, arilsulfonilamina, ácido sulfónico, alquilsulfonilo, sulfonamido, ariloxi y similares. El sustituyente puede sustituirse adicionalmente por hidroxilo, alquilo, alcoxi, arilo, arilo sustituido, alquilo sustituido o aralquilo.
- 10 El término “heteroarilo” se refiere a un grupo aromático opcionalmente sustituido, por ejemplo, que es un sistema de anillos monocíclico de 4 a 7 miembros, bicíclico de 7 a 11 miembros o tricíclico de 10 a 15 miembros, que tiene al menos un heteroátomo y al menos un anillo que contiene un átomo de carbono, por ejemplo, piridina, tetrazol, indazol.
- El término “alqueno” se refiere a grupos hidrocarburo de cadena recta o ramificada de 2 a 20 átomos de carbono, preferiblemente 2 a 15 átomos de carbono, y más preferiblemente 2 a 8 átomos de carbono, que tienen uno a cuatro enlaces dobles.
- 15 El término “alqueno sustituido” se refiere a un grupo alqueno sustituido por, por ejemplo, uno a dos sustituyentes, tales como, halo, hidroxilo, alcoxi, alcanilo, alcaniloxi, amino, alquilamino, dialquilamino, alcanilamino, tiol, alquiltio, alquiltiono, alquilsulfonilo, sulfonamido, nitro, ciano, carboxi, carbamilo, carbamilo sustituido, guanidino, indolilo, imidazolilo, furilo, tienilo, tiazolilo, pirrolidilo, piridilo, pirimidilo y similares.
- 20 El término “alquino” se refiere a grupos hidrocarburo de cadena recta o ramificada de 2 a 20 átomos de carbono, preferiblemente 2 a 15 átomos de carbono, y más preferiblemente 2 a 8 átomos de carbono, que tienen uno a cuatro enlaces triples.
- El término “alquino sustituido” se refiere a un grupo alquino sustituido por, por ejemplo, un sustituyente, tal como, halo, hidroxilo, alcoxi, alcanilo, alcaniloxi, amino, alquilamino, dialquilamino, alcanilamino, tiol, alquiltio, alquiltiono, alquilsulfonilo, sulfonamido, nitro, ciano, carboxi, carbamilo, carbamilo sustituido, guanidino y heterociclo, por ejemplo imidazolilo, furilo, tienilo, tiazolilo, pirrolidilo, piridilo, pirimidilo y similares.
- 25 El término “cicloalquilo” se refiere a un sistema de anillos de hidrocarburo cíclico saturado opcionalmente sustituido que preferiblemente contiene 1 a 3 anillos y 3 a 7 carbonos por anillo que puede estar adicionalmente fusionado con un anillo carbocíclico C3-C7 insaturado. Ejemplos de grupos incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclodecilo, ciclododecilo y adamantilo. Ejemplos de sustituyentes incluyen uno o más grupos alquilo como se describe anteriormente o uno o más grupos descritos anteriormente como sustituyentes alquilo.
- 30 Los términos “heterociclo” y “heterocíclico” se refieren a un grupo cíclico aromático o no aromático totalmente saturado o insaturado opcionalmente sustituido, por ejemplo, que es un sistema de anillos monocíclico de 4 a 7 miembros, bicíclico de 7 a 11 miembros o tricíclico de 10 a 15 miembros, que tiene al menos un heteroátomo en al menos un anillo que contiene átomos de carbono. Cada anillo del grupo heterocíclico que contiene un heteroátomo puede tener 1, 2 o 3 heteroátomos que se seleccionan de átomos de nitrógeno, átomos de oxígeno y átomos de azufre, en donde los heteroátomos de nitrógeno y azufre opcionalmente también pueden oxidarse y los heteroátomos de nitrógeno opcionalmente también pueden cuaternizarse. El grupo heterocíclico puede unirse a cualquier heteroátomo o átomo de carbono.
- 35 Ejemplos de grupos heterocíclicos monocíclicos incluyen pirrolidinilo, pirrolilo, indolilo, pirazolilo, oxetanilo, pirazolinilo, imidazolilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, oxazolilo, oxazolidinilo, isoxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, tiadiazolilo, tiazolidinilo, isotiazolilo, isotiazolidinilo, furilo, tetrahydrofurilo, tienilo, oxadiazolilo, piperidinilo, piperazinilo, 2-oxopiperazinilo, 2-oxopiperidinilo, 2-oxopirrolidinilo, 2-oxazepinilo, azepinilo, 4-piperidonilo, piridilo, N-oxo-piridilo, pirazinilo, pirimidinilo, piridazinilo, tetrahidropiranilo, morfolinilo, tiamorfolinilo, tiamorfolinilo sulfóxido, tiamorfolinilo sulfona, 1,3-dioxolano y tetrahydro-1,1-dioxotienilo, dioxanilo, isotiazolidinilo, tietanilo, tiiranilo, triazinilo y triazolilo y similares.
- 40 Ejemplos de grupos heterocíclicos bicíclicos incluyen 2,3-dihidro-2-oxo-1H-indolilo, benzotiazolilo, benzoxazolilo, benzotienilo, quinuclidinilo, quinolinilo, quinolinil-N-óxido, tetrahydroisoquinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, benzopiranilo, indolizínilo, benzofurilo, cromonilo, coumarinilo, cinnolinilo, quinoxalinilo, indazolilo, pirrolopiridilo, furopiridinilo (tal como furo[2,3-c]piridinilo, furo[3,1-b]piridinilo] o furo[2,3-b]piridinilo), dihydroisoindolilo, dihydroquinazolinilo (tal como 3,4-dihidro-4-oxo-quinazolinilo), bencisotiazolilo, bencisoxazolilo, benzodiazinilo, benzofurazanilo, benzotiopiranilo, benzotriazolilo, benzpirazolilo, dihydrobenzofurilo, dihydrobenzotienilo, dihydrobenzotiopiranilo, dihydrobenzotiopiranilo sulfona, dihydrobenzopiranilo, indolinilo, isocromanilo, isoindolinilo, naftiridinilo, ftalazinilo, piperonilo, purinilo, piridopiridilo, quinazolinilo, tetrahydroquinolinilo, tienofurilo, tienopiridilo, tienotienilo y similares.
- 45 Ejemplos de sustituyentes incluyen uno o más grupos alquilo o aralquilo como se describe anteriormente o uno o más grupos descritos anteriormente como sustituyentes alquilo.
- 50 También se incluyen heterociclos más pequeños, como epóxidos y aziridinas.
- 55

El término "heteroátomos" incluye oxígeno, azufre y nitrógeno.

La enfermedad de Parkinson puede diagnosticarse de acuerdo con los criterios de diagnóstico clínico del banco de cerebros de la Parkinson's Disease Society del Reino Unido (ver Hughes et al., Accuracy of clinical diagnosis of idiopathic Parkinson's disease: a clinico-pathological study of 100 cases. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1992; 55:181-184) y/o los criterios descritos por Gelb et al., Diagnostic Criteria for Parkinson's Disease. *Arch Neurol*. 1999; 56(1):33-39. Del mismo modo, la gravedad de la enfermedad de Parkinson puede determinarse utilizando la Escala Unificada de Clasificación de la Enfermedad de Parkinson. Ver, por ejemplo, Fahn y Elton, Miembros del Comité de Desarrollo de la Escala Unificada de Clasificación de la Enfermedad de Parkinson. Escala Unificada de Clasificación de la Enfermedad de Parkinson. En: Fahn et al., Recent developments in Parkinson's disease. Nueva York: Macmillan, 1987: 153-163.

La enfermedad de Alzheimer puede diagnosticarse en pacientes de acuerdo con los criterios para demencia del tipo Alzheimer del Manual Diagnóstico y Estadístico de Trastornos Mentales, 4.a ed.: DSM-IV. Washington, D.C.: Asociación Estadounidense de Psiquiatría, 1994. Asimismo, los criterios para una probable enfermedad de Alzheimer pueden determinarse en base a los criterios del Instituto Nacional de Trastornos Neurológicos y Comunicativos y Accidentes Cerebrovasculares y la Asociación de Enfermedad de Alzheimer y Trastornos Relacionados. Ver también McKhann et al., Clinical diagnosis of Alzheimer's disease: report of the NINCDS-ADRDA work group under the auspices of Department of Health and Human Services Task Force on Alzheimer's Disease. *Neurology* 1984; 34:939-944.

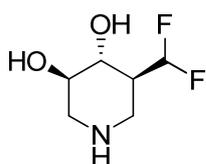
La atrofia de múltiples sistemas (MSA) se caracteriza por cuerpos de inclusiones citoplasmáticas gliales (también conocidos como cuerpos de Papp-Lantos) en los centros cerebrales del movimiento, equilibrio y control automático. El primer signo más común de la MSA es la aparición de un "síndrome rígido-acinético" (es decir, lentitud del inicio del movimiento que se asemeja a la enfermedad de Parkinson) que se encuentra en el 62% en la primera presentación. Otros signos comunes al inicio incluyen problemas de equilibrio (encontrados en el 22%), seguidos por problemas genito-urinarios (9%). En los hombres, el primer signo puede ser la disfunción eréctil (incapacidad de alcanzar o mantener una erección). Tanto hombres como mujeres a menudo experimentan problemas de vejiga, incluidas urgencia, frecuencia, vaciado incompleto de vejiga o incapacidad de orinar (retención). Aproximadamente 1 en 5 pacientes con MSA sufrirá una caída en su primer año de enfermedad. A medida que la enfermedad avanza predominan tres grupos de síntomas. Éstos son: (i) parkinsonismo (movimientos lentos y rígidos, la letra manuscrita se achica y adquiere trazos finos e inseguros); (ii) disfunción cerebelar (dificultad para coordinar movimientos y equilibrio); y (iii) disfunción autonómica (deterioro de funciones corporales automáticas), entre los que se incluyen: hipotensión postural u ortostática, lo que resulta en mareo o desmayo al pararse, incontinencia urinaria, impotencia; constipación; boca y piel secas; problemas para regular la temperatura corporal debido a sudoración anormal; respiración anormal durante el sueño. Notablemente, no todos los pacientes presentan estos síntomas.

La demencia con cuerpos de Lewy (DLB) es uno de los tipos más comunes de demencia progresiva. La principal característica de la DLB es el deterioro cognitivo progresivo combinado con tres características definitorias adicionales: (1) "fluctuaciones" pronunciadas en la actitud alerta y la atención, tales como frecuente somnolencia, aletargamiento, largos períodos con la mirada perdida o discurso desorganizado; (2) alucinaciones visuales recurrentes y (3) síntomas motrices parkinsonianos, tales como rigidez y pérdida de movimiento espontáneo. Los pacientes también pueden presentar depresión. Los síntomas de DLB están causados por la acumulación de cuerpos de Lewy – fragmentos acumulados de proteína alfa-sinucleína – dentro de los núcleos de las neuronas en áreas del cerebro que controlan aspectos particulares de la memoria y el movimiento. Los investigadores no saben exactamente por qué la alfa-sinucleína se acumula para formar los cuerpos de Lewy ni cómo éstos provocan los síntomas de la DLB, pero sí saben que la acumulación de alfa-sinucleína también está ligada a la enfermedad de Parkinson, a la atrofia de múltiples sistemas y a otros varios trastornos, a los que se hace referencia como "sinucleinopatías". La similitud de los síntomas entre la DLB y la enfermedad de Parkinson y entre la DLB y la enfermedad de Alzheimer a menudo pueden dificultar un diagnóstico definitivo por parte de los médicos. Además, los cuerpos de Lewy a menudo se encuentran en el cerebro de personas con enfermedad de Parkinson y Alzheimer. Estos hallazgos sugieren que la DLB está relacionada con estas otras causas de demencia o que un individuo puede tener ambas enfermedades al mismo tiempo. La DLB normalmente ocurre esporádicamente en personas sin antecedentes familiares conocidos de la enfermedad. Sin embargo, en alguna ocasión se han reportado casos familiares raros.

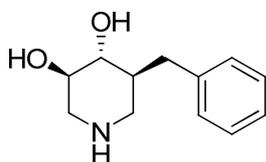
Compuestos

Más adelante se proporcionan nuevos compuestos en esta divulgación, en donde solo aquellos compuestos que caen dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas son parte de la invención.

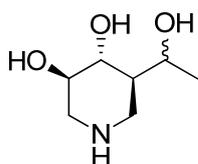
ES 2 814 178 T3



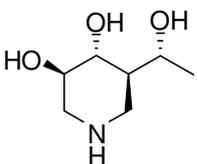
(3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol



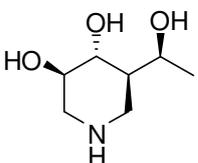
(3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol



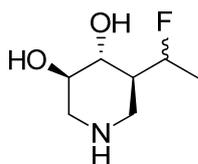
(3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietyl)piperidina-3,4-diol



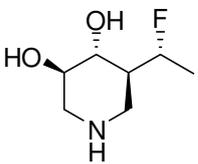
(3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietyl)piperidina-3,4-diol
(estereoisómero A)



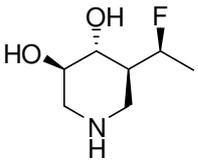
(3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietyl)piperidina-3,4-diol
(estereoisómero B)



(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetyl)piperidina-3,4-diol

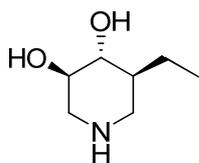


(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetyl)piperidina-3,4-diol (estereoisómero A)

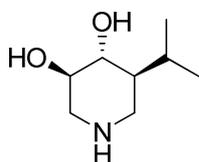


(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetyl)piperidina-3,4-diol (estereoisómero B)

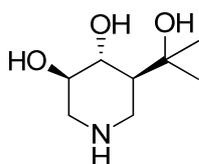
ES 2 814 178 T3



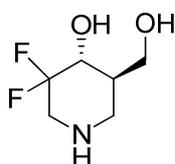
(3R,4R,5S)-5-etilpiperidina-3,4-diol



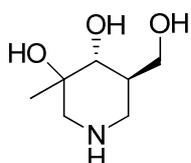
(3R,4R,5S)-5-isopropilpiperidina-3,4-diol



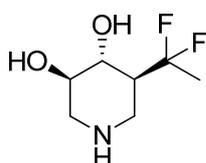
(3R,4R,5S)-5-(2-hidroxiopropan-2-il)piperidina-3,4-diol



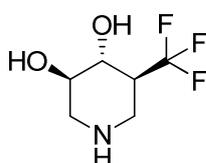
(4R,5R)-3,3-difluoro-5-(hidroximetil)piperidin-4-ol



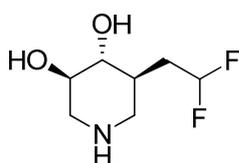
(4R,5R)-5-(hidroximetil)-3-metilpiperidina-3,4-diol



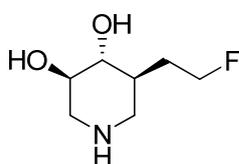
(3R,4R,5S)-5-(1,1-difluoroetil)piperidina-3,4-diol



(3R,4R,5S)-5-(trifluorometil)piperidina-3,4-diol

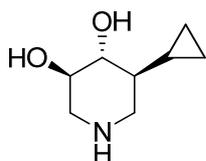


(3R,4R,5S)-5-(2,2-difluoroetil)piperidina-3,4-diol

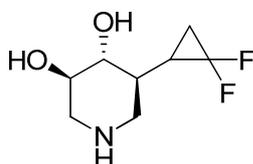


(3R,4R,5S)-5-(2-fluoroetil)piperidina-3,4-diol

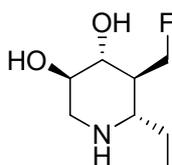
ES 2 814 178 T3



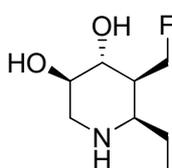
(3R,4R,5S)-5-ciclopropilpiperidina-3,4-diol



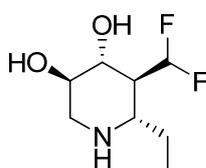
(3R,4R,5S)-5-(2,2-difluorociclopropil)piperidina-3,4-diol



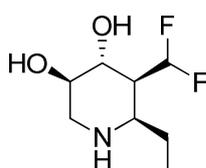
(3R,4R,5S,6S)-6-etil-5-(fluorometil)piperidina-3,4-diol



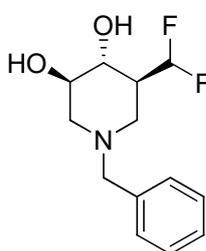
(3R,4R,5S,6R)-6-etil-5-(fluorometil)piperidina-3,4-diol



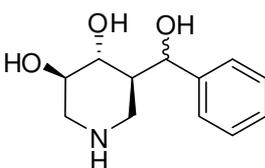
(3R,4R,5S,6S)-5-(difluorometil)-6-etilpiperidina-3,4-diol



(3R,4R,5S,6R)-5-(difluorometil)-6-etilpiperidina-3,4-diol

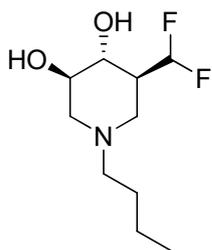


(3R,4R,5S)-1-bencil-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol

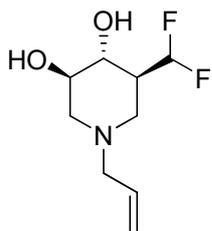


(3R,4R,5R)-5-((S)-hidroxi(fenilo)metil)piperidina-3,4-diol

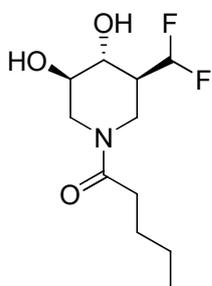
ES 2 814 178 T3



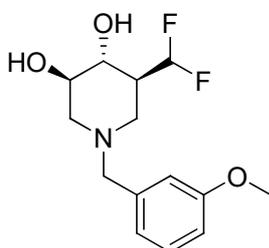
(3R,4R,5S)-1-butil-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol



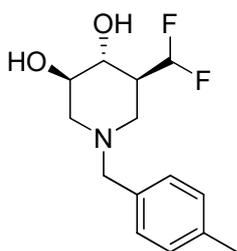
(3R,4R,5S)-1-aliil-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol



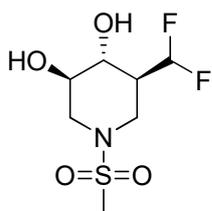
1-((3S,4R,5R)-3-(difluorometil)-4,5-dihidroxipiperidin-1-il)pentan-1-ona



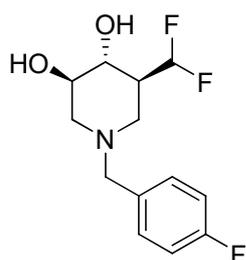
(3R,4R,5S)-5-(difluorometil)-1-(3-metoxibencil)piperidina-3,4-diol



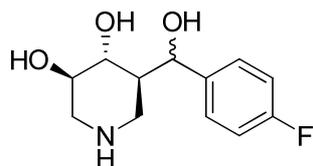
(3R,4R,5S)-5-(difluorometil)-1-(4-metilbencil)piperidina-3,4-diol



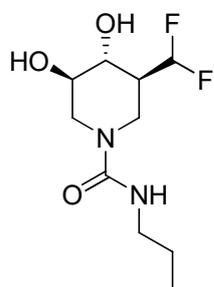
(3R,4R,5S)-5-(difluorometil)-1-(metilsulfonilo)piperidina-3,4-diol



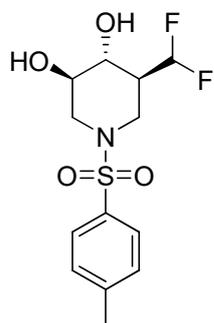
(3R,4R,5S)-5-(difluorometil)-1-(4-fluorobencil)piperidina-3,4-diol



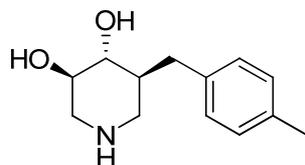
(3R,4R,5R)-5-((4-fluorofenilo)(hidroxi)metil)piperidina-3,4-diol



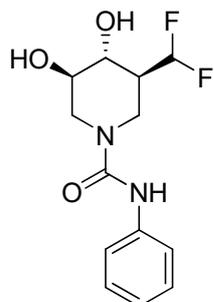
(3S,4R,5R)-3-(difluorometil)-4,5-dihidroxi-N-propilpiperidina-1-carboxamida



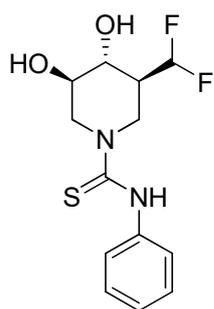
(3R,4R,5S)-5-(difluorometil)-1-tosilpiperidina-3,4-diol



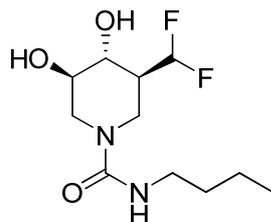
(3R,4R,5S)-5-(4-metilbencil)piperidina-3,4-diol



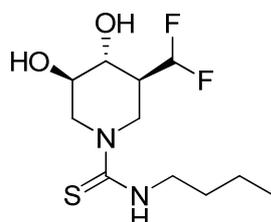
(3S,4R,5R)-3-(difluorometil)-4,5-dihidroxi-N-fenilpiperidina-1-carboxamida



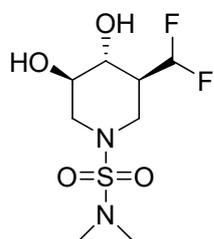
(3S,4R,5R)-3-(difluorometil)-4,5-dihidroxi-N-fenilpiperidina-1-carbotioamida



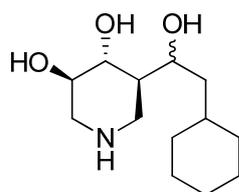
(3S,4R,5R)-N-butil-3-(difluorometil)-4,5-dihidroxi-piperidina-1-carboxamida



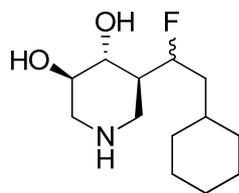
(3S,4R,5R)-N-butil-3-(difluorometil)-4,5-dihidroxi-piperidina-1-carbotioamida



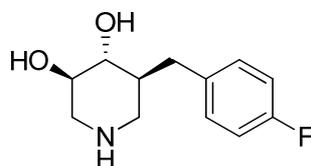
(3S,4R,5R)-3-(difluorometil)-4,5-dihidroxi-N,N-dimetilpiperidina-1-sulfonamida



(3R,4R,5R)-5-(2-ciclohexil-1-hidroxi-etil)piperidina-3,4-diol

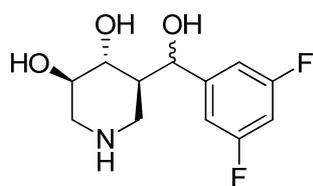


(3R,4R,5S)-5-(2-ciclohexil-1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol

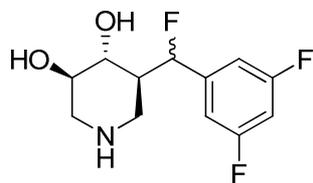


(3R,4R,5S)-5-(4-fluorobencil)piperidina-3,4-diol

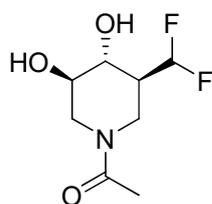
ES 2 814 178 T3



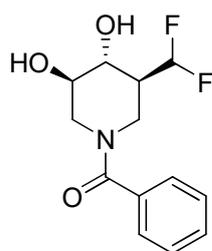
(3R,4R,5R)-5-((3,5-difluorofenilo)(hidroxi)metil)piperidina-3,4-diol



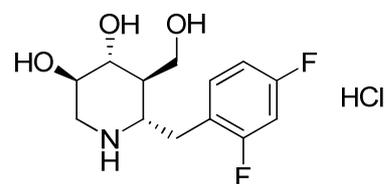
(3R,4R,5S)-5-((3,5-difluorofenilo)fluorometil)piperidina-3,4-diol



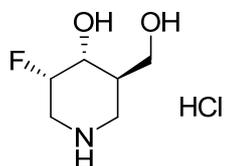
1-((3S,4R,5R)-3-(difluorometil)-4,5-dihidroxipiperidin-1-il)etanona



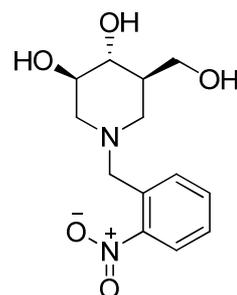
((3S,4R,5R)-3-(difluorometil)-4,5-dihidroxipiperidin-1-il)(fenilo)metanona



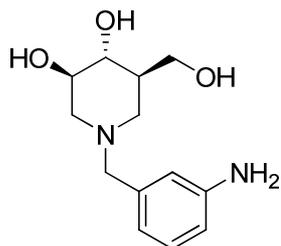
(3R,4R,5R,6S)-6-(2,4-difluorobencil)-5-(hidroximetil)piperidina-3,4-diol clorhidrato



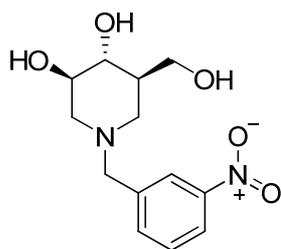
(3S,4R,5R)-3-fluoro-5-(hidroximetil)piperidin-4-ol clorhidrato



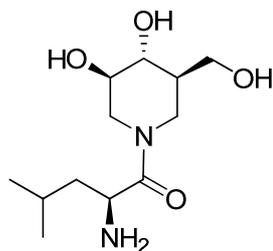
(3R,4R,5R)-5-(hidroximetil)-1-(2-nitrobenzil)piperidina-3,4-diol



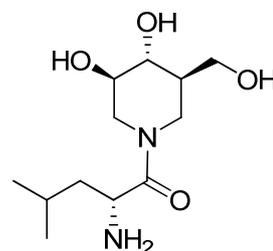
(3R,4R,5R)-1-(3-aminobencil)-5-(hidroximetil)piperidina-3,4-diol



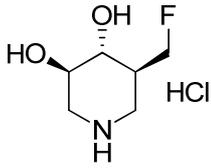
(3R,4R,5R)-5-(hidroximetil)-1-(3-nitrobencil)piperidina-3,4-diol



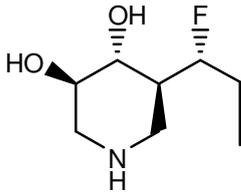
(S)-2-amino-1-((3R,4R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)piperidin-1-il)-4-metilpentan-1-ona



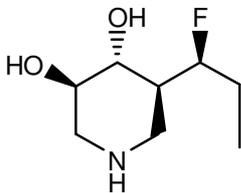
(R)-2-amino-1-((3R,4R,5R)-3,4-dihidroxi-5-(hidroximetil)piperidin-1-il)-4-metilpentan-1-ona



(3R,4R,5S)-5-(fluorometil)piperidina-3,4-diol clorhidrato



(3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)piperidina-3,4-diol

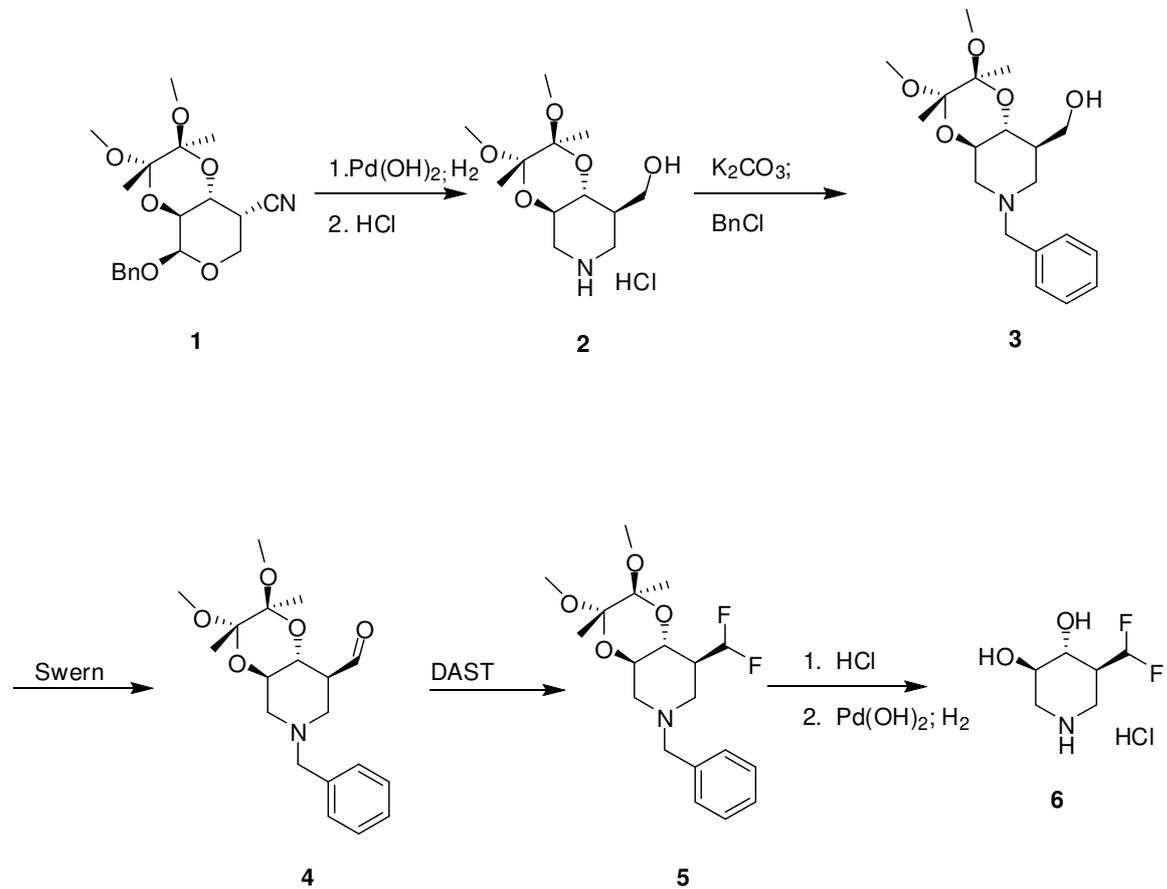


(3R,4R,5S)-5-((S)-1-fluoropropil)piperidina-3,4-diol

Proceso químico

Las composiciones en esta divulgación pueden obtenerse de acuerdo con uno o más de los siguientes esquemas.

Esquema de proceso 1:



((2S,3S,4aR,8R,8aR)-2,3-Dimetoxi-2,3-dimetiloctahidro-[1,4]dioxino[2,3-c]piridin-8-il)metanol Clorhidrato (2).

Se combinó una solución de 1 (20,0 g, 55,0 mmol) en MeOH (500 mL) con Pd(OH)₂ (4-6 g) y formiato de amonio (14 g, 220 mmol) y la mezcla se calentó a 50-55°C. Se agregaron, cantidades adicionales (3x100,0 mmol) de formiato de amonio en las siguientes 8 hrs. Después de la adición final, la mezcla de reacción se agitó adicionalmente y se calentó otras 16 hrs a 50-55°C. El catalizador se retiró mediante filtración y el filtrado se evaporó al vacío. El producto bruto se disolvió en acetona (150 mL), se filtró y se agregó HCl en 2-PrOH. Después de sembrar y luego enfriar en un baño de hielo, el producto se recogió como un sólido cristalino blanco (11,0 g, 71%). ¹H RMN₆ (DMSO-d₆) 9,45 (s, 2H), 4,80 (t, 1H, ex), 3,85 (m, 1H), 3,0-3,75 (m, 11H), 2,8 (q, 2H), 1,95 (m, 1H), 1,2 (2, 6H).

((2S,3S,4aR,8R,8aR)-6-Bencil-2,3-dimetoxi-2,3-dimetiloctahidro-[1,4]dioxino[2,3-c]piridin-8-il)metanol (3).

A una solución de 2 (14,85 g, 50,0 mmol) en DMF (200 mL) se agregó K₂CO₃ (17,25 g, 125 mmol) y la mezcla se agitó a 40°C durante aproximadamente 4 hrs. En este momento se agregó BnCl (5,7 mL, 50,0 mmol) en una porción y la reacción se agitó a 40°C durante toda la noche. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se suspendió en agua (600 mL) y se agregó HCl para disolver el residuo. La solución se lavó con Et₂O y luego se basificó con Na₂CO₃. La solución se extrajo con EtOAc (2x) y los extractos combinados se lavaron con agua y luego con salmuera y luego se secaron sobre MgSO₄. La solución se filtró y el filtrado se evaporó al vacío para proporcionar el compuesto del título (17,2 g, >95%) como un aceite viscoso incoloro a amarillo pálido que se utilizó sin purificación adicional. ¹H NMR (CDCl₃) 7,3 (m, 5H), 3,6-3,8 (m, 2H), 3,5 (s, 3H), 3,4 (t, 1H), 3,26 (s, 3H), 3,268 (s, 3H), 2,9 (m, 2H), 2,2 (br s, 1H), 2,05 (m, 1H), 1,85 (t, 1H), 1,28 (s, 3H), 1,26 (s, 3H).

((2S,3S,4aR,8R,8aR)-6-Bencil-2,3-dimetoxi-2,3-dimetiloctahidro-[1,4]dioxino[2,3-c]piridin-8-il)carboxaldehído (Procedimiento General A) (4).

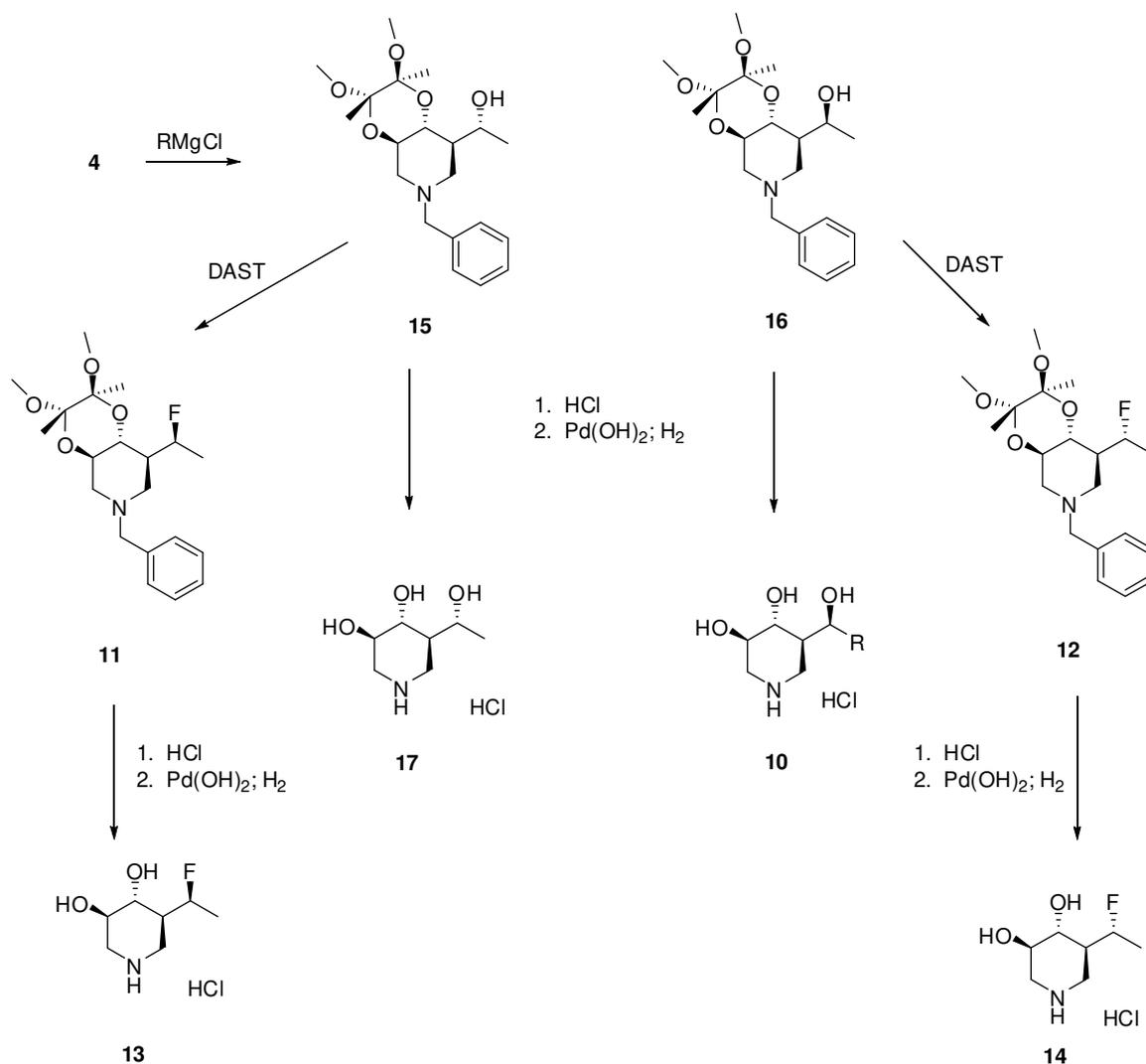
A una solución de DMSO (7,3 g, 96,9 mmol) en CH₂Cl₂ (150 mL) enfriada hasta alcanzar -78°C se agregó una solución de cloruro de oxalilo (6,1 mL, 72,8 mmol) en CH₂Cl₂ gota a gota. Después de que se completó la adición la mezcla de reacción se agitó durante 30 min adicionales, momento en el cual se agregó gota a gota una solución de 3 (17,0 g, 48,4 mmol) en CH₂Cl₂. Una vez completada la adición, la reacción se agitó durante 1 hr a -78°C y luego se agregó gota a gota diisopropiletilamina (34,4 mL, 193 mmol). Una vez completada esta adición se retiró el baño de enfriamiento y la mezcla de reacción se dejó entibiar hasta alcanzar 0°C, momento en el cual se agregó NaHCO₃ saturado. La mezcla se diluyó con algo de CH₂Cl₂ adicional y luego la capa orgánica se separó y se secó sobre MgSO₄. Después de filtrar, el disolvente se evaporó al vacío y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Hex/EtOAc) para proporcionar el compuesto del título (12,7 g, 75%) como un aceite viscoso. ¹H NMR (CDCl₃) 9,73 (s, 1H), 7,2 (m, 5H), 3,75 (m, 2H), 3,5 (q, 2H), 3,2 (2s, 6H), 2,7-3,0 (m, 3H), 2,05 (m, 2H), 1,25 (2s, 6H).

((2S,3S,4aR,8S,8aR)-6-Bencil-8,8-difluorometil-2,3-dimetoxi-2,3-dimetiloctahidro-[1,4]dioxino[2,3-c]piridina Clorhidrato (Procedimiento General B) (5).

A una solución de DAST (1,4 mL, 10,3 mmol) en CH₂Cl₂ (50 mL) enfriada hasta alcanzar -15°C se agregó una solución de 4 (2,4 g, 6,9 mmol) gota a gota. Después de 10 minutos se retiró el baño de hielo y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. En este momento la mezcla de reacción se enfrió nuevamente en un baño de hielo y la reacción se aplacó mediante adición de NaHCO₃ saturado (gota a gota al comienzo dado que esto produce una leve exotermia). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y el disolvente se evaporó al vacío para proporcionar un aceite amarillo. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Hex/EtOAc) para proporcionar el compuesto del título (1,6 g, 62%) como un aceite incoloro. ¹H NMR (CDCl₃) 7,2 (m, 5H), 6,0 (dt, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,55 (m, 3H), 3,2 (2s, 6H), 2,95 (m, 1H), 2,85 (m, 1H), 2,3 (m, 2H), 1,5 (br s, 1H), 1,2 (2s, 6H).

(3R,4R, 5S)-5-(Difluorometil)piperidina 3,4-diol Clorhidrato (Procedimiento General C) (6).

El compuesto 5 (1,6 g, 4,3 mmol) se calentó a reflujo en una mezcla de EtOH/H₂O/HCl (40 mL/40 mL/5 mL) y la reacción se monitoreó mediante HPLC hasta que el material de partida ya no pudo detectarse. El disolvente se evaporó al vacío y luego se co-evaporó 2x con EtOH. El residuo se disolvió en MeOH y se hidrogenó sobre Pd(OH)₂. Cuando se completó, el catalizador se retiró mediante filtración y el filtrado se evaporó al vacío. El residuo se recrystalizó a partir de EtOH (50 mL) para obtener el compuesto del título (0,55 g, 66%) como un sólido blanco (pf 168-170°C). ¹H NMR (D₂O) 6,15 (dt, 1H), 4,3-4,8 (m, 2H), 3,0 (t, 1H), 2,85 (t, 1H), 2,3 (m, 1H).



(R)y(S)-1-((2S,3S,4aR,8R,8aR)-6-Bencil-2,3-dimetoxi-2,3-dimetiloctahidro-[1,4]dioxino[2,3-c]piridin-8-il)etanol
Procedimiento General D (15/16).

A una solución de 4 (7,0 g, 20,0 mmol) en THF seco (100 mL) se agregó MeMgBr (20,0 mL, 1,4 M en 3:1 THF/tolueno) y la reacción se agitó durante toda la noche a temperatura ambiente. La reacción se aplacó con NH_4Cl saturado y la mezcla se extrajo con EtOAc (2x). Los extractos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na_2SO_4 y el filtrado se evaporó al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (hexano/2-PrOH) para proporcionar el isómero principal (15) (1,6 g, 24,6%). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 7,3 (m, 5H), 4,15 (m, 1H), 3,5-3,9 (m, 3H), 3,3 (2s, 6H), 2,85 (m, 2H), 2,0 (2m, 4H), 1,3 (2s, 6H), 1,2 (d, 3H). También se aisló el isómero menor (16) (0,55 g, 7,5%) 7,3 (m, 5H), 3,75 (m, 2H), 3,5 (m, 2H), 3,2 (2s, 6H), 2,8 (m, 2H), 2,0 (t, 1H), 1,75 (m, 2H), 1,2 (2s, 6H), 1,0 (d, 3H).

(3R,4R, 5R)-5((R)-1-Hidroxietil)piperdina 3,4-diol (17). Se agitó el compuesto 15 (0,55 g, 1,5 mmol) en una mezcla de 9/1 TFA: H_2O (20 mL) hasta que el material de partida ya no pudo detectarse mediante HPLC. Los volátiles se retiraron y el residuo se co-evaporó 2-3x con EtOH y luego se disolvió en EtOH y se trató con K_2CO_3 sólido. Después de filtrar el sólido, el filtrado se evaporó al vacío y el residuo se convirtió en una sal HCl y se hidrogenó sobre $\text{Pd}(\text{OH})_2$. El catalizador se filtró y el filtrado se evaporó al vacío. El producto bruto se purificó utilizando una resina de intercambio iónico (Dowex 50WX8-200) eluyendo con NH_4OH 0,1 N. Las fracciones apropiadas se combinaron y liofilizaron para proporcionar el compuesto del título (0,12 g, 50%). $^1\text{H NMR}$ (D_2O) 4,2 (q, 1H), 3,65 (m, 1H), 3,45 (m, 3H), 2,8 (m, 2H), 1,65 (m, 1H), 1,15 (d, 3H).

(3R,4R, 5R)-5((S)-1-Hidroxietil)piperdina 3,4-diol (10). El compuesto 16 (0,34 g, 0,93 mmol) se desprotegió como se describió anteriormente para proporcionar el compuesto del título (0,11 g, 75%). $^1\text{H NMR}$ (D_2O) 4,15 (m, 2H), 3,5 (m, 1H), 3,35 (t, 1H), 3,15 (m, 2H), 1,8 (m, 1H), 1,1 (d, 3H).

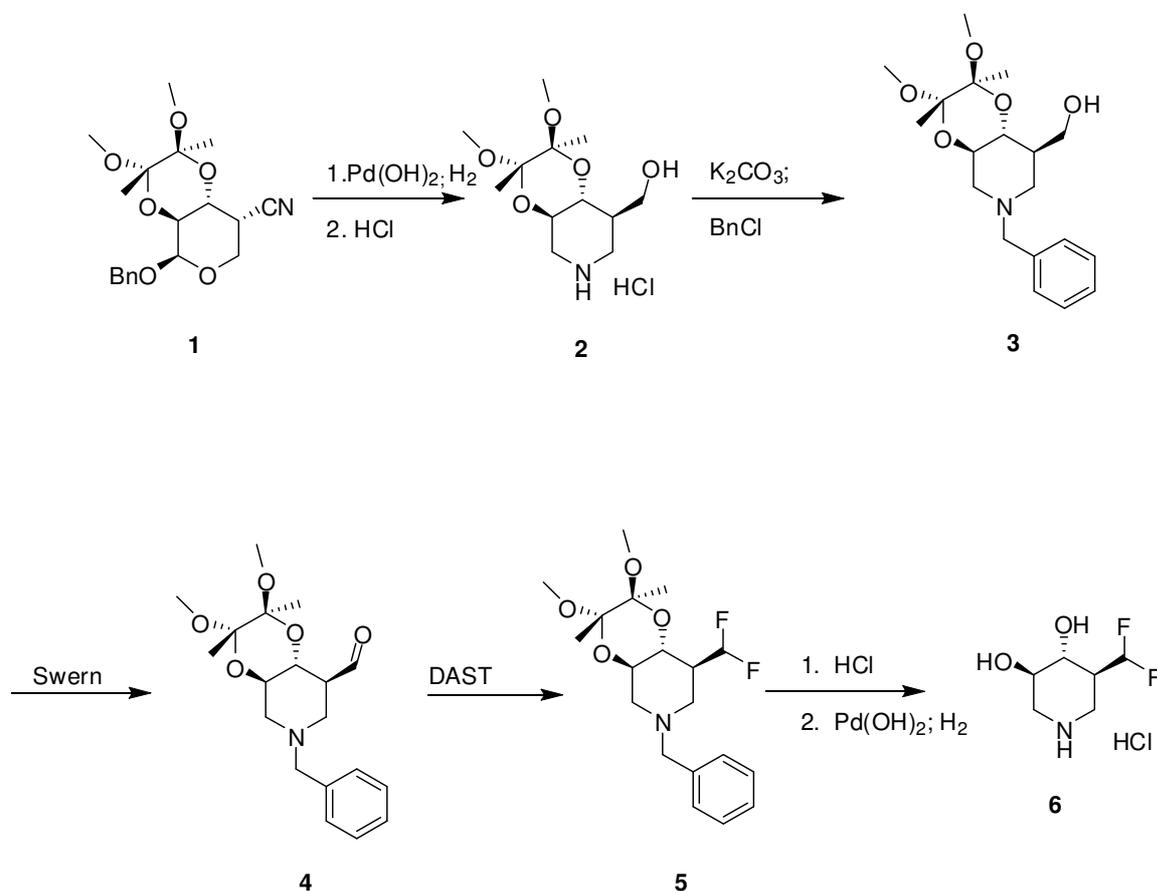
((2S,3S,4aR,8R,8aR)-6-Bencil-8(S)-(1-fluoroetil)-2,3-dimetoxi-2,3-dimetiloctahidro-[1,4]dioxino[2,3-c]piridina (11). El compuesto 15 (1,8 g, 5,0 mmol) se fluoró utilizando el Procedimiento General B. La cromatografía en gel de sílice (Hex/EtOAc) proporcionó el compuesto del título (0,42 g, 23%). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) 7,25 (m, 5H), 4,7-4,9 (dq, 1H), 3,75 (m, 2H), 3,4 (m, 2H), 3,2 (2s, 6H), 2,8 (m, 2H), 2,0 (m, 3H), 1,35 (dd, 3H), 1,2 (2s, 6H).

5 **(3R,4R, 5R)-5((S)-1-Fluoroetil)piperdina 3,4-diol Clorhidrato (13)**. El compuesto 11 (0,42 g, 1,14 mmol) se desprotegió como se describe en el Procedimiento General C. Después de retirar el catalizador, el filtrado se evaporó al vacío y luego se co-evaporó con EtOH (2x). El residuo resultante se trituró con acetona para proporcionar el compuesto del título (0,20 g, 88%) como un sólido blanco. ¹H NMR (DMSO-d₆) 9,0 (br s, 2H), 5,6 (d, 1H, ex), 5,4 (d, 1H, ex), 5,0-5,2 (dq, 1H), 3,55 (m, 1H), 3,2 (m, 2H), 2,9 (t, 1H), 2,7 (t, 1H), 2,2 (m, 1H), 1,3 (dd, 3H).

((2S,3S,4aR,8R,8aR)-6-Bencil-8(R)-(1-fluoroetil)-2,3-dimetoxi-2,3-dimetiloctahidro-[1,4]dioxino[2,3-c]piridina (12). El compuesto 16 (0,55 g, 1,5 mmol) se fluoró utilizando el Procedimiento General B para proporcionar el compuesto del título (0,22 g, 40%). ¹H NMR (CDCl₃) 7,3 (m, 5H), 5,0 (dq, 1H), 3,8 (m, 1H), 3,5-3,75 (m, 3H), 3,3 (2s, 6H), 3,0 (d, 1H), 2,9 (m, 1H), 2,1 (m, 2H), 1,85 (m, 1H), 1,3 (2s, 6H).

10 **(3R,4R, 5R)-5((R)-1-Fluoroetil)piperdina 3,4-diol Clorhidrato (14)**. El compuesto 12 (0,22 g, 0,6 mmol) se desprotegió como se describe en el Procedimiento General C. Después de retirar el catalizador, el filtrado se evaporó al vacío y luego se co-evaporó con EtOH (2x). El residuo resultante se trituró con acetona para proporcionar el compuesto del título (0,08 g, 67%) como un sólido blanco. ¹H NMR (D₂O) 5,1 (dq, 1H), 3,5 (m, 4H), 2,8 (m, 2H), 1,8 (m, 1H), 1,3 (dd, 3H).

15 **Esquema de proceso 2:**



20 **((2S,3S,4aR,8R,8aR)-2,3-Dimetoxi-2,3-dimetiloctahidro-[1,4]dioxino[2,3-c]piridin-8-il)metanol Clorhidrato (2)**. Una solución de 1 (20,0 g, 55,0 mmol) en MeOH (500 mL) se combinó con Pd(OH)₂ (4-6 g) y formiato de amonio (14 g, 220 mmol) y la mezcla se calentó a 50-55°C. Se agregaron cantidades adicionales (3x100,0 mmol) de formiato de amonio en las siguientes 8 hrs. Después de la adición final, la mezcla de reacción se agitó adicionalmente y se calentó otras 16 hrs a 50-55°C. El catalizador se retiró mediante filtración y el filtrado se evaporó al vacío. El producto bruto se disolvió en acetona (150 mL), se filtró y se agregó HCl en 2-PrOH. Después de sembrar y luego enfriar en un baño de hielo, el producto se recogió como un sólido cristalino blanco (11,0 g, 71%). ¹H NMR (DMSO-d₆) 9,45 (s, 2H), 4,80 (t, 1H, ex), 3,85 (m, 1H), 3,0-3,75 (m, 11H), 2,8 (q, 2H), 1,95 (m, 1H), 1,2 (2, 6H).

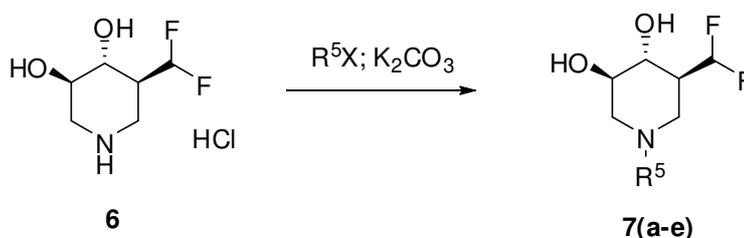
25 **((2S,3S,4aR,8R,8aR)-6-Bencil-2,3-dimetoxi-2,3-dimetiloctahidro-[1,4]dioxino[2,3-c]piridin-8-il)metanol (3)**. A una solución de 2 (14,85 g, 50,0 mmol) en DMF (200 mL) se agregó K₂CO₃ (17,25 g, 125 mmol) y la mezcla se agitó a 40°C durante aproximadamente 4 hrs. En este momento se agregó BnCl (5,7 mL, 50,0 mmol) en una porción y la reacción se agitó a 40°C durante toda la noche. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se suspendió en agua (600 mL) y se agregó HCl para disolver el residuo. La solución se lavó con Et₂O y luego se basificó con Na₂CO₃.
30 La solución se extrajo con EtOAc (2x) y los extractos combinados se lavaron con agua y luego con salmuera y luego se

secaron sobre MgSO₄. La solución se filtró y el filtrado se evaporó al vacío para proporcionar el compuesto del título (17,2 g, >95%) como un aceite viscoso incoloro a amarillo pálido que se utilizó sin purificación adicional. ¹H NMR (CDCl₃) 7,3 (m, 5H), 3,6-3,8 (m, 2H), 3,5 (s, 3H), 3,4 (t, 1H), 3,26 (s, 3H), 3,268 (s, 3H), 2,9 (m, 2H), 2,2 (br s, 1H), 2,05 (m, 1H), 1,85 (t, 1H), 1,28 (s, 3H), 1,26 (s, 3H).

5 **((2S,3S,4aR,8R,8aR)-6-Bencil-2,3-dimetoxi-2,3-dimetiloctahidro-[1,4]dioxino[2,3-c]piridin-8-il)carboxaldehído (Procedimiento General A) (4)**. A una solución de DMSO (7,3 g, 96,9 mmol) en CH₂Cl₂ (150 mL) enfriada hasta alcanzar -78°C se agregó una solución de cloruro de oxalilo (6,1 mL, 72,8 mmol) en CH₂Cl₂ gota a gota. Después de que se completó la adición la mezcla de reacción se agitó durante 30 min adicionales, momento en el que se agregó gota a gota una solución de 3 (17,0 g, 48,4 mmol) en CH₂Cl₂. Una vez completada la adición, la reacción se agitó durante 1 hr a -78°C y luego se agregó gota a gota diisopropiletamina (34,4 mL, 193 mmol). Una vez completada esta adición, el baño de enfriamiento se retiró y la mezcla de reacción se dejó entibiar hasta alcanzar 0°C, momento en el que se agregó NaHCO₃ saturado. La mezcla se diluyó con algo de CH₂Cl₂ adicional y luego la capa orgánica se separó y se secó sobre MgSO₄. Después de filtrar, el disolvente se evaporó al vacío y el producto bruto se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Hex/EtOAc) para proporcionar el compuesto del título (12,7 g, 75%) como un aceite viscoso. ¹H NMR (CDCl₃) 9,73 (s, 1H), 7,2 (m, 5H), 3,75 (m, 2H), 3,5 (q, 2H), 3,2 (2s, 6H), 2,7-3,0 (m, 3H), 2,05 (m, 2H), 1,25 (2s, 6H).

20 **((2S,3S,4aR,8S,8aR)-6-Bencil-8,8-difluorometil-2,3-dimetoxi-2,3-dimetiloctahidro-[1,4]dioxino[2,3-c]piridina Clorhidrato (Procedimiento General B) (5)**. A una solución de DAST (1,4 mL, 10,3 mmol) en CH₂Cl₂ (50 mL) enfriada hasta alcanzar -15°C se agregó una solución de 4 (2,4 g, 6,9 mmol) gota a gota. Después de 10 minutos, el baño de hielo se retiró y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. En este momento la mezcla de reacción se enfrió nuevamente en un baño de hielo y la reacción se aplacó mediante adición de NaHCO₃ saturado (gota a gota al comienzo ya que esto produce una leve exotermia). La capa orgánica se separó y se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y el disolvente se evaporó al vacío para proporcionar un aceite amarillo. El residuo se purificó mediante cromatografía en gel de sílice (Hex/EtOAc) para proporcionar el compuesto del título (1,6 g, 62%) como un aceite incoloro. ¹H NMR (CDCl₃) 7,2 (m, 5H), 6,0 (dt, 1H), 3,75 (m, 1H), 3,55 (m, 3H), 3,2 (2s, 6H), 2,95 (m, 1H), 2,85 (m, 1H), 2,3 (m, 2H), 1,5 (br s, 1H), 1,2 (2s, 6H).

30 **(3R,4R, 5S)-5-(Difluorometil)piperdina 3,4-diol Clorhidrato (Procedimiento General C) (6)**. El compuesto 5 (1,6 g, 4,3 mmol) se calentó a reflujo en una mezcla de EtOH/H₂O/HCl (40 mL/40 mL/5 mL) y la reacción se monitoreó mediante HPLC hasta que el material de partida no pudo detectarse. El disolvente se evaporó al vacío y luego se co-evaporó 2x con EtOH. El residuo se disolvió en MeOH y se hidrogenó sobre Pd(OH)₂. Cuando se completó, el catalizador se retiró mediante filtración y el filtrado se evaporó al vacío. El residuo se recrystalizó a partir de EtOH (50 mL) para obtener el compuesto del título (0,55 g, 66%) como un sólido blanco (pf 168-170°C). ¹H NMR (D₂O) 6,15 (dt, 1H), 4,3-4,8 (m, 2H), 3,0 (t, 1H), 2,85 (t, 1H), 2,3 (m, 1H).



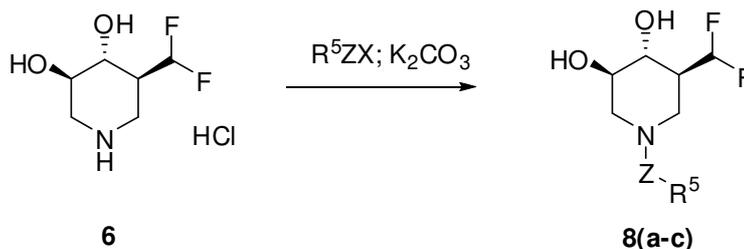
35 **(3R,4R, 5S)-1-Butil-5-(difluorometil)piperdina 3,4-diol (Procedimiento General D) (7a; R⁵ = Bu)**. Una mezcla de 6 (0,30 g, 1,4 mmol), K₂CO₃ (0,48 g, 3,5 mmol) y BuBr (0,20 g, 1,4 mmol) se combinó en DMF (10 mL) y se calentó durante toda la noche a 60°C. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se disolvió en EtOAc, se lavó con agua y luego con salmuera y se secó sobre Na₂SO₄. Después de la filtración, el filtrado se evaporó al vacío para proporcionar el producto bruto que se purificó mediante cromatografía (CH₂Cl₂/9:1 MeOH/NH₄OH) para proporcionar el compuesto del título (0,25g, 80%) como un jarabe incoloro. MH⁺ = 224. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 6,2 (t, 1H, J = 57 Hz), 5,13 (d, 1H, ex), 4,91 (d, 1H, ex), 3,3 (m, 1H), 3,1 (m, 1H), 2,9 (m, 2H), 2,3 (m, 2H), 1,95 (m, 2H), 1,75 (t, 1H), 1,2-1,5 (2m, 4H), 0,9 (t, 3H).

45 **(3R,4R, 5S)-1-Allil-5-(difluorometil)piperdina 3,4-diol (7b; R⁵ = alilo)**. Siguiendo el Procedimiento General D utilizando bromuro de alilo (0,17 g, 1,4 mmol) se obtuvo el compuesto del título como un sólido blanco (0,22 g, 76%). MH⁺ = 208. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 6,2 (t, 1H, J = 57 Hz), 5,8 (m, 1H), 5,2 (m, 3H), 4,92 (d, 1H), 3,3 (m, 1H), 3,1 (1H), 2,95 (d, 2H), 2,85 (d, 2H), 1,9 (br m, 2H), 1,75 (t, 1H).

50 **(3R,4R, 5S)-5-(Difluorometil)-1-(4-fluorobencil)piperdina 3,4-diol (7c; R⁵ = 4-fluorobencilo)**. Siguiendo el Procedimiento General D, excepto que la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente, y utilizando bromuro de 4-fluorobencilo (0,26 g, 1,4 mmol) se obtuvo el compuesto del título como un sólido blanco (0,22 g, 56%). MH⁺ = 276. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 7,4 (m, 2H), 7,15 (m, 2H), 6,2 (t, 1H, J = 57 Hz), 5,2 (d, 1H, ex), 4,9 (d, 1H, ex), 3,5 (q, 2H), 3,3 (m, 1H), 3,1 (m, 1H), 2,8 (m, 2H), 2,0 (m, 2H), 1,8 (t, 1H).

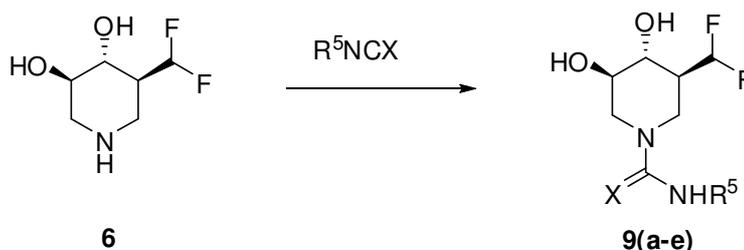
(3*R*,4*R*, 5*S*)-5-(Difluorometil)-1-(4-metilbencil)piperdina 3,4-diol (7d; R⁵ = 4-metilbencil). Siguiendo el Procedimiento General D, excepto que la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente, y utilizando bromuro de 4-metilbencil (0,26 g, 1,4 mmol) el compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (0,30, 81%). MH⁺ = 272. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 7,2 (m, 4H), 6,2 (t, 1H, *J* = 57 Hz), 5,2 (d, 1H, *ex*), 4,9 (d, 1H, *ex*), 3,5 (q, 2H), 3,3 (1H), 3,05 (m, 1H), 2,8 (m, 2H), 2,5 (s, 3H), 1,95 (m, 2H), 1,8 (t, 1H).

(3*R*,4*R*, 5*S*)-5-(Difluorometil)-1-(4-metoxibencil)piperdina 3,4-diol (7e; R⁵ = 4-metoxibencil). Siguiendo el Procedimiento General D, excepto que la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente, y utilizando cloruro de 4-metoxibencil (0,26 g, 1,4 mmol) se obtuvo el compuesto del título como un jarabe incoloro (0,19 g, 49%). MH⁺ = 288. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 7,3 (m, 1H), 6,85 (m, 3H) 6,2 (t, 1H, *J* = 57 Hz), 5,2 (d, 1H, *ex*), 4,9 (d, 1H, *ex*), 3,75 (s, 3H), 3,5 (q, 2H), 3,4 (m, 1H), 3,1 (m, 1H), 2,85(m, 2H), 1,95 (m, 2H), 1,8 (t, 1H).



1-((3*S*,4*R*, 5*R*)-3-(Difluorometil)-4,5-dihidroxipiperdina-1-il)pentano-1-ona (8a; Z = CO; R⁵ = butilo). Siguiendo el Procedimiento General D, excepto que la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente, y utilizando cloruro de pentanoilo (0,17 g, 1,4 mmol), el compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (0,26 g, 71%). MH⁺ = 252. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 5,9-6,5 (dt, 1H), 5,35 (m, 1H, *ex*), 5,25 (m, 1H, *ex*), 4,2 (dd, 1H), 3,75 (dd, 1H), 3,35 (m, 2H), 3,1 (m, 1H), 2,85 (m, 1H), 2,3 (t, 2H), 1,9 br m, 1H), 1,4 (m, 2H), 1,25 (m, 2H), 0,85 (t, 3H).

(3*R*,4*R*, 5*S*)-5-(Difluorometil)-1-(metanosulfonilo)piperdina 3,4-diol (8b; Z = SO₂; R⁵ = Me) Siguiendo el Procedimiento General D, excepto que la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente, y utilizando cloruro de metanosulfonilo (0,16 g, 1,4 mmol), el compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (0,17 g, 51%). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 6,2 (t, 1H, *J* = 53 Hz), 5,43 (d, 1H, *ex*), 5,38 (d, 1H, *ex*), 3,2-3,7 (m, 4H), 2,95 (s, 3H), 2,85 (m, 1H), 2,7 (t, 1H), 2,1 (br s, 1H). **(3*R*,4*R*, 5*S*)-5-(Difluorometil)-1-tosilpiperdina 3,4-diol (8b; Z = SO₂; R⁵ = Ph)** Siguiendo el Procedimiento General D, excepto que la reacción se llevó a cabo a temperatura ambiente, y utilizando cloruro de toluenosulfonilo (0,26, 1,4 mmol), el compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (0,35 g, 67%). ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 7,6 (d, 2H), 7,45 (d, 2H), 6,25 (t, 1H, *J* = 53 Hz), 5,4 (2d, 2H, *ex*), 3,3-3,55 (m, 4H), 3,2 (m, 1H), 2,5 (m, 3H), 2,4 (t, 1H), 2,1 (m, 1H).



(3*S*,4*R*, 5*R*)-3-(Difluorometil)-4,5-dihidroxi-*N*-propilpiperdina-1-carboxamida (Procedimiento General E) (9a; X = O; R⁵ = propilo). A una solución de 6 (base libre) (0,29 g, 1,2 mmol) en DMF seco (5 mL), se agregó isocianato de propilo (0,10 g, 1,2 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. El disolvente se evaporó al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía (CH₂Cl₂/ MeOH) para proporcionar el compuesto del título como un sólido blanco (0,14 g, 48%). MH⁺ = 253. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 6,7 (t, 1H), 6,22 (t, 1H, *J* = 53 Hz), 5,25 (d, 1H, *ex*), 5,15 (d, 1H, *ex*), 4,05 (d, 1H), 3,9 (d, 1H), 3,3 (m, 2H), 3,0 (q, 2H), 2,5 (m, 1H), 1,8 (br d, 1H), 1,4 (m, 2H), 0,85 (t, 3H).

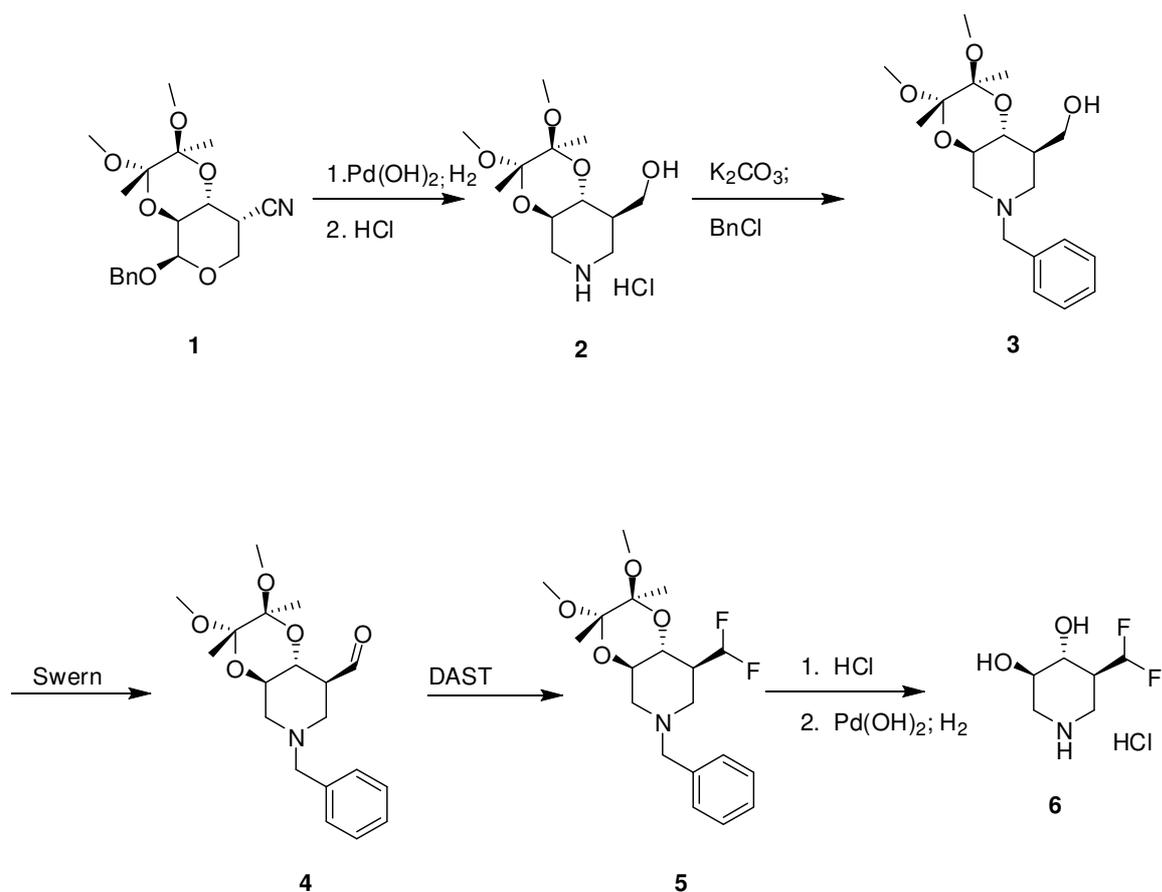
(3*S*,4*R*, 5*R*)-3-(Difluorometil)-4,5-dihidroxi-*N*-fenilpiperdina-1-carboxamida (9b; X = O; R⁵ = fenilo). Siguiendo el Procedimiento General E y utilizando isocianato de fenilo (0,14 g, 1,2 mmol) el compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (0,21 g, 62%). MH⁺ = 287. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 8,7 (s, 1H), 7,45 (d, 2H), 7,3 (t, 2H), 6,95 (t, 1H), 6,3 (t, 1H, *J* = 53 Hz), 5,35 (d, 1H), 5,25 (d, 1H), 4,1 (t, 2H), 3,3 (m, 2H), 2,85 (t, 1H), 2,75 (t, 1H), 1,95 (br d, 1H).

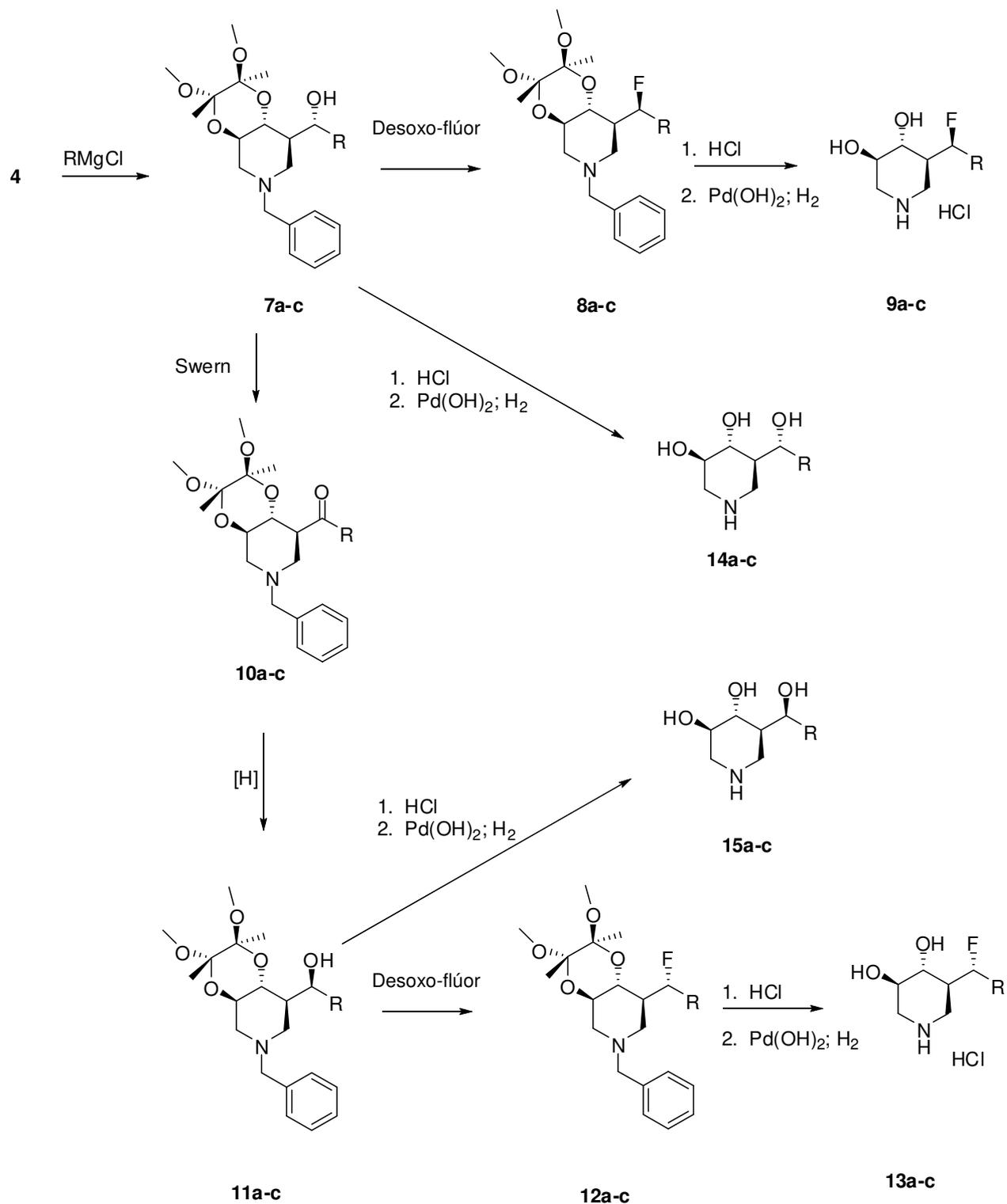
(3*S*,4*R*, 5*R*)-3-(Difluorometil)-4,5-dihidroxi-*N*-butilpiperdina-1-carboxamida (9c; X = O; R⁵ = butilo). Siguiendo el Procedimiento General E y utilizando isocianato de butilo (0,12 g, 1,2 mmol) el compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (0,24 g, 76%). MH⁺ = 267. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 6,6 (t, 1H), 6,2 (t, 1H, *J* = 53 Hz), 5,25 (d, 1H), 5,1 (d, 1H), 4,05 (d, 1H), 3,9 (d, 1H), 3,35 (m, 2H), 3,05 (q, 2H), 2,65 (t, 1H), 2,45 (m, 1H), 1,8 (br d, 1H), 1,2-1,4 (2m, 4H), 0,85 (t, 3H).

5 **(3*S*,4*R*,5*R*)-3-(Difluorometil)-4,5-dihidroxi-*N*-butilpiperdina-1-carbtioamida (9d; X = S; R⁵ = butilo).** Siguiendo el Procedimiento General E y utilizando isotiocianato de butilo (0,14 g, 1,2 mmol) el compuesto del título se obtuvo como un jarabe incoloro (0,21 g, 63%). MH⁺ = 283. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 7,85 (t, 1H), 6,25 (t, 1H), 5,35 (2d, 2H), 4,8 (d, 1H), 4,45 (d, 1H), 3,45 (m, 2H), 3,25 (m, 1H), 3,05 (t, 1H), 2,8 (t, 1H), 1,85 (br d, 1H), 1,4 (m, 2H), 1,35 (m, 2H), 1,1 (m, 1H), 0,95 (t, 3H).

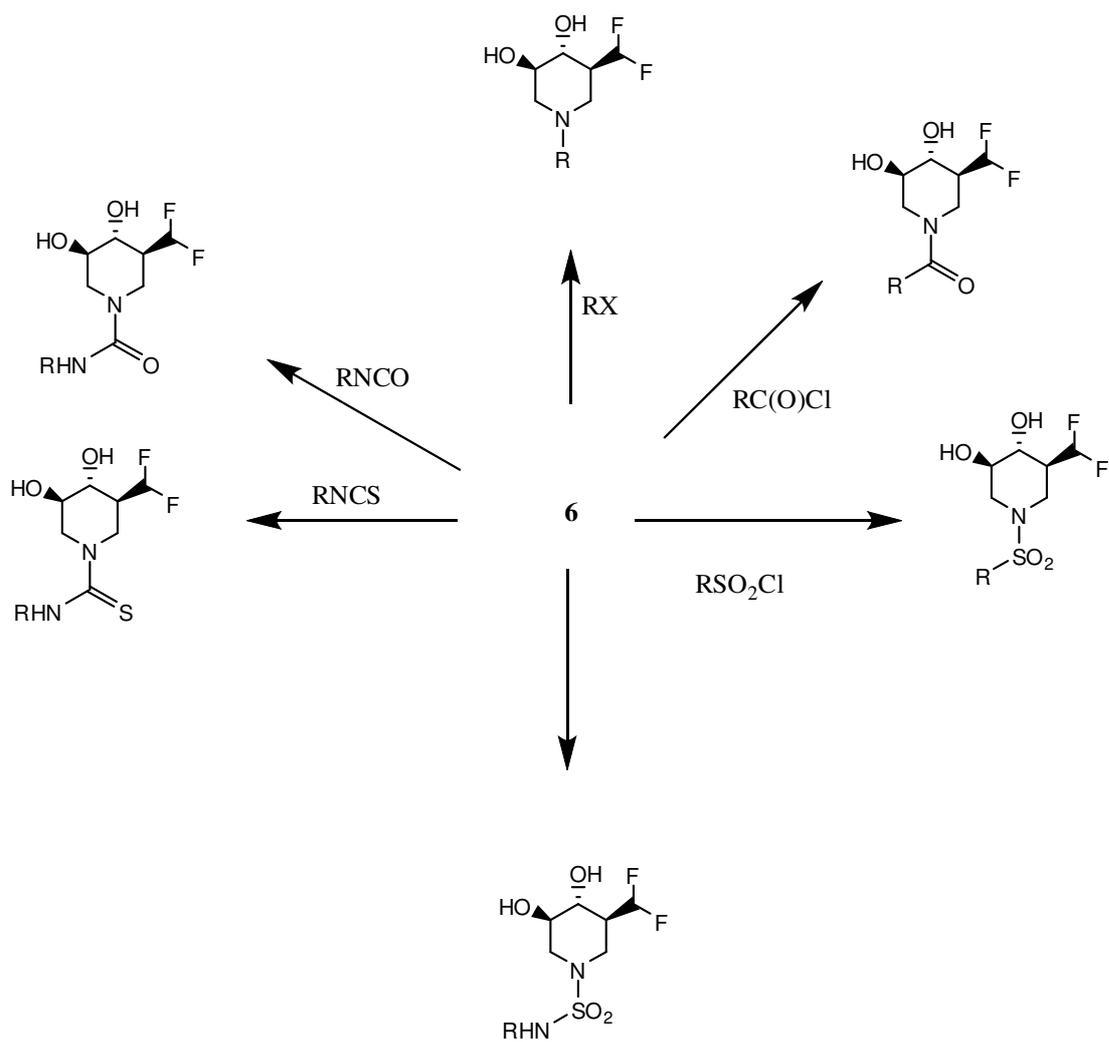
(3*S*,4*R*,5*R*)-3-(Difluorometil)-4,5-dihidroxi-*N*-fenilpiperdina-1-carbtioamida (9e; X = S; R⁵ = fenilo). Siguiendo el Procedimiento General E y utilizando isotiocianato de fenilo (0,16 g, 1,2 mmol) el compuesto del título se obtuvo como un sólido blanco (0,31 g, 86%). MH⁺ = 303. ¹H NMR (DMSO-*d*₆) 9,5 (s, 1H), 7,3 (m, 4H), 7,1 (t, 1H), 6,35 (t, 1H), 5,35 (2d, 2H), 4,85 (d, 1H), 4,55 (d, 1H), 3,45 (m, 2H), 3,2 (t, 1H), 3,0 (t, 1H), 2,05 (br d, 1H).

10 Los expertos en la técnica también podrán obtener compuestos de la presente invención mediante el uso de los siguientes esquemas generales:

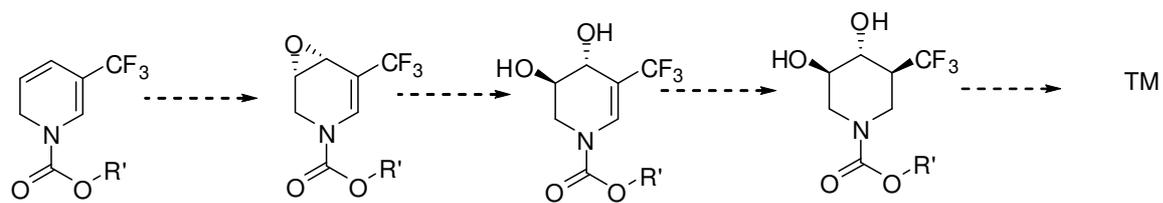




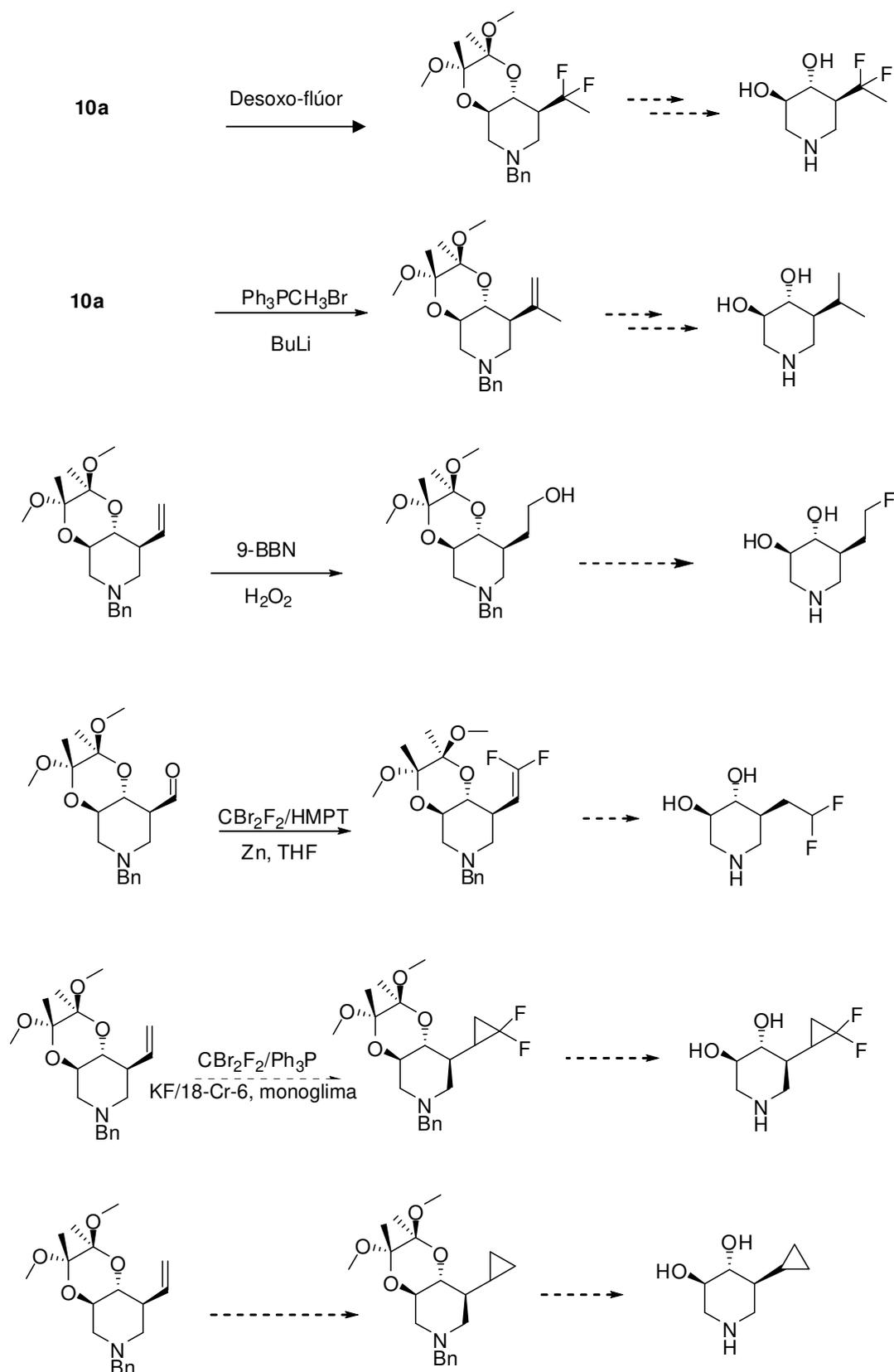
Esquema 4



Esquema 5



Esquema 6



Esquema 7

Sales y solvatos

Los compuestos de la presente invención incluyen sales y solvatos farmacéuticamente aceptables de los compuestos divulgados en la presente. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen sales derivadas de bases inorgánicas tales como Li, Na, K, Ca, Mg, Fe, Cu, Zn, Mn; sales de bases orgánicas tales como N,N'-diacetiletildiamina, glucamina, trietilamina, colina, hidróxido, dicitclohexilamina, metformina, bencilamina, trialquilamina, tiamina; bases quirales tales como alquilfenilamina, glicinol, fenil glicinol, sales de aminoácidos naturales tales como glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, norleucina, tirosina, cistina, cisteína, metionina, prolina, hidroxil prolina, histidina, omitina, lisina, arginina, serina; aminoácidos no naturales tales como D-isómeros o aminoácidos sustituidos; guanidina, guanidina sustituida en donde los sustituyentes se seleccionan de nitro, amino, alquilo, alquenilo, alquinilo, amonio o sales de amonio sustituido y sales de aluminio. Las sales pueden incluir sales de adición ácida, cuando corresponda, que son, clorhidratos, sulfatos, nitratos, fosfatos, percloratos, boratos, hidroháluros, acetatos, tartratos, maleatos, citratos, succinatos, palmoatos, metanosulfonatos, benzoatos, salicilatos, bencenosulfatos, ascorbatos, glicerofosfatos, cetoglutaratos. En una realización, la sal farmacéuticamente aceptable de los compuestos divulgados en la presente es la sal de clorhidrato.

"Solvato" denota una asociación física de un compuesto con una o más moléculas de disolvente. Esta asociación física implica variar los grados de unión iónica y covalente, incluida la unión de hidrógeno. En determinadas instancias, el solvato será capaz de aislarse, por ejemplo, cuando una o más moléculas de disolvente se incorporan en la estructura de cristal del sólido cristalino. "Solvato" comprende tanto solvatos de fase de solución como aislables. "Hidrato" es un solvato en donde la molécula de disolvente es H₂O. Otros ejemplos no taxativos de solvatos adecuados incluyen alcoholes (por ejemplo, etanolatos, metanolatos y similares).

Todos los estereoisómeros (por ejemplo, isómeros geométricos, isómeros ópticos y similares) de los compuestos que se revelan en la presente (incluyendo los de las sales y solvatos de estos compuestos), tales como aquellos que pueden existir debido a carbonos asimétricos en varios sustituyentes, incluidas las formas enantioméricas (que pueden existir aun en ausencia de carbonos asimétricos), formas rotaméricas, atropisómeros y formas diastereoméricas se contemplan dentro del alcance de la presente invención. Los estereoisómeros individuales de estos compuestos pueden, por ejemplo, estar básicamente libres de otros isómeros, o pueden mezclarse, por ejemplo, como racematos o con todos los otros estereoisómeros u otros seleccionados. Los centros quirales de los compuestos anteriores pueden tener una configuración S o R como se define en las Recomendaciones IUPAC 1974. El uso de los términos "sal", "solvato" y similares, se aplica equitativamente a la sal y solvato de los enantiómeros, estereoisómeros, rotámeros, tautómeros o racematos de los compuestos de la presente invención que se describen en la presente.

Formulaciones

Los agentes terapéuticos pueden formularse para que sean adecuados para cualquier vía de administración, incluida, por ejemplo, la vía oral en forma de comprimidos o cápsulas o líquido o en una solución acuosa estéril para inyección. Cuando los agentes terapéuticos se formulan para administración oral, los comprimidos o cápsulas pueden prepararse mediante medios convencionales con excipientes farmacéuticamente aceptables tales como agentes de unión (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); rellenos (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o fosfato de hidrógeno de calcio); lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); desintegrantes (por ejemplo, almidón de papa o glicolato de almidón de sodio); o agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato de sodio). Los comprimidos pueden recubrirse mediante procedimientos bien conocidos en la técnica. Las preparaciones líquidas para la administración oral pueden formularse, por ejemplo, como soluciones, jarabes o suspensiones, o pueden presentarse como un producto seco para constitución con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Dichas preparaciones líquidas pueden prepararse mediante medios convencionales con aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas); agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o acacia); vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendra, ésteres oleosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados); o conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico). Las preparaciones líquidas también pueden contener sales amortiguadoras, agentes saborizantes, colorantes y edulcorantes según sea apropiado. Las preparaciones para administración oral pueden formularse de forma adecuada para proporcionar una liberación controlada o liberación sostenida de los agentes terapéuticos.

Los agentes terapéuticos se pueden administrar en una forma de dosificación que permite la captación sistémica, de forma tal que los agentes terapéuticos puedan cruzar la barrera de sangre-cerebro con el fin de ejercer efectos sobre células neuronales. Por ejemplo, las formulaciones farmacéuticas de los agentes terapéuticos adecuados para uso parenteral/inyectable generalmente incluyen soluciones acuosas estériles (que son solubles en agua) o dispersiones y polvos estériles para la preparación improvisada de las soluciones o dispersión inyectable estéril. En todos los casos, la forma debe ser estéril y debe ser fluida hasta el punto que pueda administrarse mediante jeringa con facilidad. Debe ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y debe conservarse contra la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El portador puede ser un medio disolvente o de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, poliol, por ejemplo glicerol, propilenglicol, polietilenglicol y similares, mezclas adecuadas de los mismos y aceites vegetales. La fluidez apropiada puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersión y mediante el uso de surfactantes. La prevención de la acción de los

microorganismos puede lograrse mediante agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, alcohol bencílico, ácido sórbico y similares. En muchos casos, será razonable incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro de sodio. La absorción prolongada de las composiciones inyectables puede lograrse mediante el uso en las composiciones de agentes que retrasen la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio o gelatina.

Las soluciones inyectables estériles se pueden preparar incorporando los agentes terapéuticos en la cantidad necesaria en el disolvente apropiado con varios de los otros ingredientes que se enumeraron anteriormente, según se requirió, seguido de filtro o esterilización terminal. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando los diversos ingredientes activos esterilizados en un vehículo estéril que contiene el medio de dispersión básico y los otros ingredientes necesarios de aquellos enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos de preparación preferidos son secado al vacío y la técnica de secado por refrigerado que proporcionan un polvo del principio activo más cualquier otro principio deseado de la solución anteriormente filtrada estéril del mismo.

La formulación puede contener un excipiente. Excipientes farmacéuticamente aceptables que pueden incluirse en la formulación son soluciones amortiguadoras tales como solución amortiguadora de citrato, solución amortiguadora de fosfato, solución amortiguadora de acetato y solución amortiguadora de bicarbonato, aminoácidos, urea, alcoholes, ácido ascórbico, fosfolípidos, proteínas, tales como albúmina de suero, colágeno y gelatina; sales tales como EDTA o EGTA y cloruro de sodio; liposomas; polivinilpirrolidona; azúcares, tales como dextrano, manitol, sorbitol y glicerol; propilenglicol y polietilenglicol (por ejemplo, PEG-4000, PEG-6000); glicerol; glicina u otros aminoácidos; y lípidos. Los sistemas de solución amortiguadora para utilizar con las formulaciones incluyen citrato; acetato; bicarbonato y soluciones amortiguadoras de fosfato. La solución amortiguadora de fosfato es una realización preferida.

La formulación también puede contener un detergente no iónico. Los detergentes no iónicos preferidos incluyen Polisorbato 20, Polisorbato 80, Tritón X-100, Tritón X-114, Nonidet P-40, Octil α -glucósido, Octil β -glucósido, Brij 35, Pluronic y Tween 20.

Vías de administración

Los agentes terapéuticos pueden administrarse por vía oral o parenteral, incluidas vía intravenosa, subcutánea, intraarterial, intraperitoneal, oftálmica, intramuscular, bucal, rectal, vaginal, intraorbital, intracerebral, intradérmica, intracraneana, intraespinal, intraventricular, intratecal, intracisternal, intracapsular, intrapulmonar, intranasal, transmucal, transdérmica o por inhalación. En una realización preferida, los agentes terapéuticos se administran oralmente.

La administración de los agentes terapéuticos puede ser mediante inyecciones periódicas de un bolo de la formulación, o puede administrarse mediante administración intravenosa o intraperitoneal de un recipiente externo (por ejemplo, una bolsa intravenosa) o interno (por ejemplo, un implante bioerosionable). Ver, por ejemplo, las Patentes de los Estados Unidos Nos. 4.407.957 y 5.798.113. Los métodos y sistemas de administración intrapulmonar se describen, por ejemplo, en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5.654.007, 5.780.014, 5.814.607. Otros sistemas de administración parenteral útiles incluyen partículas de copolímero de acetato de etileno-vinilo, bombas osmóticas, sistemas de infusión implantables, administración por bomba, administración celular encapsulada, administración liposomal, inyección administrada por aguja, inyección sin aguja, nebulizador, aerosolizador, electroporación y parche transdérmico. Los dispositivos de inyector sin aguja se describen en las Patentes de los Estados Unidos Nos. 5.879.327; 5.520.639; 5.846.233 y 5.704.911. Cualquiera de las formulaciones descritas anteriormente puede administrarse utilizando estos métodos.

Las inyecciones subcutáneas tienen las ventajas de permitir la autoadministración, mientras que también resultan en una media vida en plasma prolongada en comparación con la administración intravenosa. Asimismo, pueden utilizarse una variedad de dispositivos diseñados a conveniencia del paciente, tales como lapiceras de inyección recargables y dispositivos de inyección sin aguja, con las formulaciones de la presente invención, como se describe en la presente.

Dosificación

Una preparación farmacéutica adecuada es en una forma de dosificación unitaria. En dicha forma, la preparación se subdivide en dosis unitarias en tamaños adecuados que contienen cantidades apropiadas del componente activo, por ejemplo, una cantidad efectiva para lograr el objetivo deseado. Los agentes terapéuticos se pueden administrar en una o más dosis diarias (por ejemplo, una vez al día, dos veces al día, tres veces al día). Los agentes terapéuticos se pueden administrar intermitentemente.

Los regímenes de dosificación ejemplares se describen en la solicitud de patente internacional PCT/US08/61764 publicada como WO 2008/134628 el 11 de junio de 2008 y la solicitud de patente provisional de los Estados Unidos 61/108,192, presentada el 24 de octubre de 2008. El o los agentes terapéuticos se pueden administrar en un régimen de dosificación intermitente, que incluye una "dosis de carga" inicial dada diariamente, seguido de un periodo de dosificación a intervalos no diarios.

5 La cantidad de agentes terapéuticos eficaces para evitar o tratar el trastorno al que se hace referencia puede ser determinada caso a caso por los expertos en la técnica. La cantidad y frecuencia de administración de los agentes terapéuticos se regulará de acuerdo con el criterio del médico tratante (profesional de la salud) considerando factores tales como la edad, afección y tamaño del paciente, así como también el riesgo de desarrollar el trastorno o la gravedad de los síntomas del trastorno tratado al que se hace referencia.

Terapia de fármacos combinada

10 Los agentes terapéuticos de la presente invención pueden administrarse en combinación con al menos otro agente terapéutico. Se sobrentiende que la administración de los agentes terapéuticos de la presente invención con al menos otro agente terapéutico comprende la administración que es secuencial o concurrente. Los agentes terapéuticos se pueden administrar en formas de dosificación separadas. Además, dos o más agentes terapéuticos se pueden administrar conjuntamente en la misma forma de dosificación.

15 En determinados casos, los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos otro agente terapéutico que es un agente antidisquinesia (por ejemplo, Carbidopa, Levodopa), un agente antiinfeccioso (por ejemplo, Miglustat), un agente antineoplásico (por ejemplo, Busulfán, Ciclofosfamida), un agente gastrointestinal (por ejemplo, Metilprednisolona), un micronutriente (por ejemplo, Calcitriol, Colecalciferol, Ergocalciferoles, Vitamina D), un agente vasoconstrictor (por ejemplo, Calcitriol).

20 En determinados casos, los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con alopregnanolona, una dieta baja en colesterol o agentes de disminución de colesterol tales como estatinas (por ejemplo, Lipitor®); fibratos tales como fenofibrato (Lipidil®); niacina; y/o resinas de unión tales como colestiramina (Questran®).

Los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con terapia de genes. La terapia de genes se contempla tanto con genes de reemplazo tales como glucocerebrosidasa como con ARN inhibitorio (ARNsi) para el gen SNCA. La terapia de genes se describe en más detalle en la Patente de los Estados Unidos No. 7.446.098 presentada el 17 de febrero de 2004.

25 Los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos otro agente terapéutico que es un agente antiinflamatorio (por ejemplo, ibuprofeno u otro AINES).

Los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con un inhibidor de sustrato para glucocerebrosidasa, tal como N-butil-desoxinojirimicina (Zavesca®; miglustat disponible de Actelion Pharmaceuticals, EUA, Inc., San Francisco del Sur, CA, EE. UU.).

30 También se contemplan las combinaciones de los agentes terapéuticos de la presente invención con al menos otro agente terapéutico que es un agente terapéutico para una o más enzimas lisosomales. A continuación se presenta una lista no taxativa de los agentes terapéuticos para enzimas lisosomales.

Tabla 1

ENZIMA LISOSOMAL	AGENTE TERAPÉUTICO
<p>α-Glucosidasa No. de acceso de GenBank Y00839</p>	<p>1-desoxinojirimicina (DNJ) α-homonojirimicina castanospermina</p>
<p>β-Glucosidasa ácida (β-glucocerebrosidasa) No. de acceso de GenBank J03059</p>	<p>isofagomina C-bencil isofagomina y derivados N-alkil (C9-12)-DNJ Glucoimidazol (y derivados) C-alkil-IFG (y derivados) N-alkil-β-valeinaminas Flufenozina calisteginas A₃, B₁, B₂ y C₁</p>

ES 2 814 178 T3

<p>α-Galactosidasa A No. de acceso de GenBank NM000169</p>	<p>1-desoxigalactonojirimicina (DGJ) α-<i>alo</i>-homonojirimicina α-<i>galacto</i>-homonojirimicina β-1-C-butil-desoxinojirimicina calisteginas A₂ y B₂ N-metil calisteginas A₂ y B₂</p>
<p>β-Galactosidasa ácida No. de acceso de GenBank M34423</p>	<p>4-<i>epi</i>-isofagomina 1-desoxigalactonojirimicina</p>
<p>Galactocerebrosidasa (β-Galactosidasa ácida) No. de acceso de GenBank D25283</p>	<p>4-<i>epi</i>-isofagomina 1-desoxigalactonojirimicina</p>
<p>α-Manosidasa ácida No. de acceso de GenBank U68567</p>	<p>1-desoximanojirimicina Swainsonina Manostatina A</p>
<p>β-Manosidasa ácida No. de acceso de GenBank U60337</p>	<p>2-hidroxi-isofagomina</p>
<p>α-L-fucosidasa ácida No. de acceso de GenBank NM_000147</p>	<p>1-desoxifuconojirimicina β-homofuconojirimicina 2,5-imino-1,2,5-tridesoxi-L-glucitol 2,5-desoxi-2,5-imino-D-fucitol 2,5-imino-1,2,5-tridesoxi-D-altritol</p>
<p>α-N-Acetilglucosaminidasa No. de acceso de GenBank U40846</p>	<p>1,2-didesoxi-2-N-acetamido-nojirimicina</p>
<p>α-N-Acetilgalactosaminidasa No. de acceso de GenBank M62783</p>	<p>1,2-didesoxi-2-N-acetamido-galactonojirimicina</p>
<p>β-Hexosaminidasa A No. de acceso de GenBank NM_000520</p>	<p>2-N-acetilamino-isofagomina 1,2-didesoxi-2-acetamido-nojirimicina Nagstatina</p>
<p>β-Hexosaminidasa B No. de acceso de GenBank NM_000521</p>	<p>2-N-acetamido-isofagomina 1,2-didesoxi-2-acetamido-nojirimicina Nagstatina</p>
<p>α-L-Iduronidasa No. de acceso de GenBank NM_000203</p>	<p>1-desoxiiduronojirimicina 2-carboxi-3,4,5-tridesoxipiperidina</p>
<p>β-Glucuronidasa No. de acceso de GenBank NM_000181</p>	<p>6-carboxi-isofagomina 2-carboxi-3,4,5-tridesoxipiperidina</p>
<p>Sialidasa No. de acceso de GenBank U84246</p>	<p>ácido 2,6-didesoxi-2,6, imino-siálico Siastatina B</p>

Iduronato sulfatasa No. de acceso de GenBank AF_011889	2,5-anhidromanitol-6-sulfato
esfingomielinasa ácida No. de acceso de GenBank M59916	desipramina, fosfatidilinositol-4,5-difosfato

5 En determinados casos, los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos un agente terapéutico que es un agente antidisquinesia (por ejemplo, Carbidopa, Levodopa), un agente antiinfeccioso (por ejemplo, Ciclosporina, Miglustat, Pirimetamina), un agente antineoplásico (por ejemplo, Alemtuzumab, Azatioprina, Busulfán, Clofarabina, Ciclofosfamida, Melfalan, Metotrexato, Rituximab), un agente antireumático (por ejemplo, Rituximab), un agente gastrointestinal (por ejemplo, Metilprednisolona), un micronutriente (por ejemplo, Calcitriol, Colecalciferol, Ergocalciferoles, Ácido fólico, Vitamina D), un agente de control reproductivo (por ejemplo, Metotrexato), un agente del sistema respiratorio (por ejemplo, Tetrahidrozolina), un agente vasoconstrictor (por ejemplo, Calcitriol, Tetrahidrozolina).

10 En determinados casos, los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos un agente terapéutico que es un agente terapéutico para β -hexosaminidasa A y/o un agente terapéutico para β -galactosidasa ácida. En determinados casos, los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos un agente terapéutico que es un agente antiinfeccioso (por ejemplo, Miglustat), un agente antineoplásico (por ejemplo, Alemtuzumab, Busulfán, Ciclofosfamida), un agente gastrointestinal (por ejemplo, Metilprednisolona).

15 Los agentes terapéuticos de la presente invención pueden administrarse en combinación con al menos otro agente terapéutico que incluye, a modo no taxativo, ARNi, reemplazo de dopamina (por ejemplo, levodopa (L-DOPA)), estabilizador de reemplazo de dopamina (por ejemplo, carbidopa y entacapona), anticolinérgicos (por ejemplo, trihexifenidilo, mesilato de benzotropina (Cogentin®), trihexifenidil HCL (Artane®), y prociclidina), inhibidor de catecol-O-metiltransferasa (COMT) (por ejemplo, entacapona (Comtan®) y tolcapona (Tasmar®)), agonista de receptor de dopamina (por ejemplo, bromocriptina (Parlodel®), pramipexol (Mirapex®), ropinirol (Requip®)), pergolida (Permax), e inyección de APOKYN™ (clorhidrato de apomorfina), inhibidor de oxidasa de monoamina (MAO) (es decir, inhibidores de MAO-A y/o MAO-B, por ejemplo, selegilina (Deprenil, Eldepryl®, Carbex®), comprimido de desintegración oral de HCl de selegilina (Zelapar®), y rasagilina (Azilect®)), inhibidor de descarboxilasa periférica, amantadina (Symmetrel®), y tartrato de rivastigmina (Exelon®).

25 También se contemplan combinaciones de los agentes terapéuticos de la presente invención con más de otro agente terapéutico. Combinaciones ejemplares de otros agentes terapéuticos incluyen, a modo no taxativo, carbidopa/levodopa (Sinemet® o Parcopa®), carbidopa, levodopa y entacapona (Stalevo®), levodopa con un agonista del receptor de dopamina tal como bromocriptina (Parlodel®), pramipexol (Mirapex®), ropinirol (Requip®), pergolida (Permax), o inyección de APOKYN™ (clorhidrato de apomorfina).

30 Los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con terapia de vacunas, tal como una vacuna que comprende alfa-sinucleína y un adyuvante (Pilcher et al., *Lancet Neurol.* 2005; 4(8):458-9).

35 Los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos otro agente terapéutico que puede ser proactivo tal como dextrometorfán (Li et al., *FASEB J.* 2005; abr;19(6):489-96), genisteína (Wang et al., *Neuroreport.* 2005; 28 de feb;16(3):267-70), o minociclina (Blum et al., *Neurobiol Dis.* 2004; dic;17(3):359-66).

Los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos otro agente terapéutico que es un agente terapéutico para alfa-sinucleína (por ejemplo, Hsp70).

40 Los pacientes con enfermedad de Parkinson experimentan temblores, rigidez, bradicinesia y desequilibrio postural. Los pacientes con demencia con cuerpos de Lewy experimentan fuertes síntomas psicóticos (alucinaciones visuales) además de desgaste mental tal como pérdida de memoria e incapacidad para realizar simples tareas. Las mejoras observables en síntomas o el retraso del inicio de ciertos síntomas en pacientes con riesgo de desarrollar un trastorno, o un retraso en el progreso del trastorno será prueba de una respuesta favorable a las terapias que se proporcionan en la presente.

45 Además, los marcadores sustitutos mensurables también pueden ser útiles para evaluar la respuesta a la terapia. Por ejemplo, algunos investigadores han informado la detección de niveles más altos de alfa-sinucleína o se han detectado formas oligoméricas de alfa-sinucleína en el plasma de pacientes con enfermedad de Parkinson (Lee et al., *J Neural Transm.* 2006;113(10):1435-9; El-Agnaf et al., *FASEB J.* 2006;20(3):419-25), mientras que algunos han informado alfa-sinucleína de plasma reducida en pacientes con Parkinson en comparación con testigos normales (Li et al., *Exp Neurol.* 2007;204(2):583-8).

50 En ciertos casos, los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos otro agente terapéutico que es un disuasivo del alcohol (por ejemplo, Acamprosato), un analgésico narcótico

(por ejemplo, Remifentanil), un agente antidisquinesia (por ejemplo, Amantadina, Apomorfina, Benserazida, Bromocriptina, Cabergolina, Carbidopa, Dextetimidina, Droxidopa, Entacapona, Levodopa, Lisurida, Memantina, Piribedil, Pramipexol, Ropinirol, Selegilina, Sinemet), un agente antiinfeccioso (por ejemplo, Amantadina, Amoxicilina, Claritromicina, Etanol, Interferones, Minociclina, PS-K), un agente antiobesidad (por ejemplo, Fenilpropanolamina, Topiramato), un anticonvulsivo (por ejemplo, Etiracetam, Topiramato), un antiemético (por ejemplo, Trimetobenzamida), un agente antihipertensivo (por ejemplo, Trandolapril), un agente antineoplásico (por ejemplo, Cabergolina, PS-K), un depresor del sistema nervioso central (por ejemplo, Aripiprazol, Benzocaína, Clozapina, Cocaína, Dexmedetomidina, Difenhidramina, Isoflurano, Litio, Carbonato de Litio, Metilperona, Morfina, Propofol, Quetiapina, Racloprida, Remifentanil, Oxibato de sodio), un estimulante del sistema nervioso central (por ejemplo, citrato de cafeína, Modafinil, polacrilex de nicotina), un coagulante (por ejemplo, Vasopresina de Arginina, Vasopresina de Deamino Arginina, Vasopresinas), un agente dermatológico (por ejemplo, Loratadina, Prometazina), un agente gastrointestinal (por ejemplo, Difenhidramina, Domperidona, Omeprazol, Trimetobenzamida), un hipnótico y/o sedante (por ejemplo, Remifentanil), un micronutriente (por ejemplo, Alfa-Tocoferol, Coenzima Q10, Ergocalciferoles, Hidroxocobalamina, Hierro, Acetato de Tocoferol, Tocoferoles, Vitamina B 12, Vitamina D, Vitamina E), un agente neuroprotector (por ejemplo, Eliprodil, Modafinil, Rasagilina, Rivastigmina, Topiramato), un agente nootrópico (por ejemplo, Donepezil, Etiracetam), un fármaco psicotrópico (por ejemplo, Aripiprazol, Citalopram, Clozapina, Duloxetina, Litio, Carbonato de Litio, Metilperon, Nortriptilina, Paroxetina, Quetiapina, Racloprida, Venlafaxina), un agente del sistema respiratorio (por ejemplo, Dextrometorfán, Guaifenesina, Ipratropio, Nafazolina, Oximetazolina, Fenilefrina, Fenilpropanolamina), un agente vasoconstrictor (por ejemplo, Nafazolina, Oximetazolina, Fenileprina, Fenilpropanolamina).

En una realización preferida, los otros agentes terapéuticos mencionados anteriormente se utilizan para el tratamiento o la prevención de la enfermedad de Parkinson.

En determinados casos, los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos otro agente terapéutico que es un agonista nicotínico alfa-7 (por ejemplo, MEM 3454 o MEM 63908, que están disponibles en Memory Pharmaceuticals). En ciertos casos, los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos un agente terapéutico que es R3487 y/o R4996 (los que están disponibles en Roche). También se contemplan combinaciones de los agentes terapéuticos de la presente invención con más de un agente terapéutico. Las combinaciones ejemplares de otros agentes terapéuticos incluyen, a modo no taxativo, R3487/MEM 3454 y R4996/MEM 63908.

En determinados casos, los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos un inhibidor de colinesterasa (por ejemplo, donepezil (nombre comercial *Aricept*), galantamina (nombre comercial *Razadyne*), y rivastigmina (comercializado como *Exelon* y *Exelon Patch*).

En ciertos casos, los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos un antagonista del receptor de NMDA no competitivo (por ejemplo, memantina (nombres comerciales *Akatinol*, *Axura*, *Ebixa/Abixa*, *Memox* y *Namenda*)).

En ciertos casos, los agentes terapéuticos de la presente invención se pueden administrar en combinación con al menos otro agente terapéutico que es un analgésico no narcótico (por ejemplo, Celecoxib, Resveratrol, Rofecoxib, proteína de fusión de TNFR-Fc), un agente antidisquinesia (por ejemplo, Dextetimidina, Gabapentina, Levodopa, Memantina), un agente antiinfeccioso (por ejemplo, Acetilcisteína, Aciclovir, Benzoatos, Desoxiglucosa, Doxiciclina, Interferón Alfa-2a, Interferón-alfa, Interferones, Moxifloxacina, PS-K, Quinacrina, Rifampin, Ácido Salicílico, Valaciclovir), un agente antiinflamatorio (por ejemplo, Aspirina, Celecoxib, Curcumina, Ibuprofeno, Indometacina, Naproxeno, Resveratrol, Rofecoxib, proteína de fusión de TNFR-Fc), un agente antiobesidad (por ejemplo, Fenilpropanolamina), un agente anticonvulsante (por ejemplo, Gabapentina, Homotaurina, Lamotrigina), un antiemético (por ejemplo, Olanzapina), un agente antihipertensivo (por ejemplo, Trandolapril), un agente antilipémico (por ejemplo, Atorvastatina, Colina, Ácido clofíbrico, Pravastatina, Simvastatina), un agente antineoplásico (por ejemplo, Briostatina 1, Carmustina, Ciclofosfamida, Interferón Alfa-2a, Leuprolida, Medroxiprogesterona 17-Acetato, Metilttestosterona, PK 11195, Prednisona, PS-K, Resveratrol, 2,3-dihidro-1H-imidazo(1,2-b)pirazol), un agente antireumático (por ejemplo, Aspirina, Celecoxib, Curcumina, Ibuprofeno, Indometacina, Naproxen, Resveratrol, Rofecoxib, proteína de fusión de TNFR-Fc), un depresor del sistema nervioso central (por ejemplo, Aripiprazol, Benzocaína, Cocaína, Gabapentina, Haloperidol, Haloperidol decanoato, Litio, Carbonato de Litio, Lorazepam, Midazolam, Olanzapina, Perfenazina, Propofol, Quetiapina, Risperidona, Oxibato de sodio, Trazodona, Ácido Valproico, Zolpidem), un estimulante del sistema nervioso central (por ejemplo, citrato de Cafeína, Modafinil, polacrilex de Nicotina), un bloqueador de canal (por ejemplo, Gabapentina, Lamotrigina), un coagulante (por ejemplo, Antiplasmina, Vitamina K), un agente dermatológico (por ejemplo, Aceite Mineral, Ácido Salicílico), un agente gastrointestinal (por ejemplo, Colina, Haloperidol, Lorazepam, Olanzapina, Omeprazol, proteína de fusión de TNFR-Fc), un agente hipnótico y/o sedativo (por ejemplo, Zolpidem), un agente hipoglicémico (por ejemplo, Insulina, Asp(B28)-, Rosiglitazona), un micronutriente (por ejemplo, Alfa-Tocoferol, Ácido Ascórbico, Coenzima Q10, Cobre, Ácido Fólico, Hidroxocobalamina, Inositol, Hierro, Niacina, Niacinamida, Ácidos Nicotínicos, Piridoxina, Selenio, Ácido Tióctico, Acetato de tocoferol, Tocoferoles, Vitamina B 12, Vitamina B 6, Vitamina E, Vitamina K), un agente neuroprotector (por ejemplo, Huperzina A, Modafinil, Nefiracetam, Rasagilina, Rivastigmina, ácido (3-aminopropil)(n-butil)fosfínico), un agente nootrópico (por ejemplo, Donepezil, Nefiracetam), un inhibidor de agregación de plaquetas (por ejemplo, Resveratrol), un fármaco psicotrópico (por ejemplo, Aripiprazol, Bupropiona, Citalopram, Duloxetina,

Gabapentina, Haloperidol, decanoato de Haloperidol, Litio, Carbonato de Litio, Lorazepam, Midazolam, Nefiracetam, Olanzapina, Paroxetina, Perfenazina, Quetiapina, Risperidona, Sertralina, Trazodona, Triptofano, Ácido Valproico, Venlafaxina), un agente de control reproductivo (por ejemplo, Estradiol 17 beta-cipionato, Estradiol 3-benzoato, Estradiol valerato, Indometacina, Leuprolida, Medroxiprogesterona, Medroxiprogesterona 17-Acetato, Mifepristona), un agente del sistema respiratorio (por ejemplo, Acetilcisteína, Dextrometorfán, Guaifenesina, Nafazolina, Oximetazolina, Fenilefrina, Fenilpropanolamina), o un agente vasoconstrictor (por ejemplo, Nafazolina, Oximetazolina, Fenilefrina, Fenilpropanolamina).

En una realización preferida, los otros agentes terapéuticos mencionados anteriormente se utilizan para el tratamiento o la prevención de la enfermedad de Alzheimer.

10 Ejemplos

La presente invención se describe también por medio de los ejemplos que se presentan a continuación. El uso de dichos ejemplos es únicamente ilustrativo y de ningún modo limita el alcance y significado de la invención según se define en las reivindicaciones adjuntas o de cualquier término ejemplificado. Del mismo modo, la invención no está limitada a ninguna realización particular preferida descrita en la presente. De hecho, muchas modificaciones y variaciones de la invención serán evidentes para los expertos en la técnica luego de leer la presente memoria descriptiva. Por lo tanto, la invención debe estar limitada únicamente por los términos de las reivindicaciones adjuntas.

EJEMPLO 1 Determinación de constantes de inhibición

La afinidad de unión (definida aquí mediante la constante de unión K_1) de GCasa para nuevos compuestos de la presente invención se determinó empíricamente utilizando ensayos de inhibición enzimática. Brevemente, los ensayos de inhibición enzimática utilizados monitorearon la capacidad de un compuesto de prueba de unir y evitar la hidrólisis de un sustrato fluorogénico en un modo dependiente de la concentración. Específicamente, la actividad enzimática de GCasa humana recombinante, (GCasa hr; Cerezime®, Genzyme Corp.) se midió utilizando sustrato fluorogénico de 4-metilumbeliferil- β -D-glucopiranosida (4-MU- β -D-Glc) en ausencia o en presencia de diversas cantidades de cada compuesto de prueba. Los datos resultantes se analizaron comparando todas las muestras de prueba con la muestra testigo sin inhibición (sin compuesto; corresponde al 100% de actividad enzimática) para determinar la actividad enzimática residual en presencia de un compuesto de prueba. Los datos de actividad residual normalizada se graficaron posteriormente (sobre el eje y) en relación con la concentración del compuesto de prueba (sobre el eje x) para extrapolar la concentración del compuesto de prueba que conduce al 50% de inhibición de la actividad enzimática (definida como CI_{50}). El valor de CI_{50} para cada compuesto de prueba se insertó luego en la ecuación de Cheng-Prusoff (que se detalla a continuación) para derivar en la constante de inhibición absoluta K_i que refleja con precisión la afinidad de unión de GCasa para el compuesto de prueba. Los ensayos de inhibición enzimática se realizaron en 7,0 de pH (pH del retículo endoplásmico) y en 5,2 de pH (pH lisosomal) para obtener una percepción sobre la afinidad de unión (es decir, potencia) de los compuestos para GCasa en el retículo endoplásmico y lisosoma.

Ensayo *in vitro*

Se prepararon diversas concentraciones de compuestos de prueba en la solución amortiguadora "M" que consiste en 50 mM de solución amortiguadora de fosfato de sodio con taurocolato de sodio al 0,25% en 7,0 de pH y 5,2 de pH. La enzima (Cerezime®, una forma recombinante de la enzima β -glucocerebrosidasa humana) también se diluyó en la misma solución amortiguadora "M" en 7,0 de pH y 5,2 de pH. La solución de sustrato consistía en 3 mM de 4-metilumbeliferona β -D-glucopiranosida en solución amortiguadora "M" con Tritón X-100 al 0,15% en ambos pH. Se agregaron cinco microlitros de enzima diluida a 15 μ l de las diversas concentraciones de inhibidor o solución amortiguadora "M" sola y se incubó a 37°C durante 1 hora con 50 μ l de la preparación de sustrato para evaluar la actividad de β -glucosidasa en 7,0 de pH y 5,2 de pH. Las reacciones se detuvieron mediante la adición de un volumen igual de 0,4 de M glicina, pH 10,6. La fluorescencia se midió sobre un lector de placa durante 1 seg/pocillo utilizando 355 nm de excitación y 460 nm de emisión. Las incubaciones sin enzima agregada o sin inhibidores agregados se utilizaron para definir la actividad sin enzima y la actividad máxima, respectivamente, y normalizar el % de inhibición para un ensayo dado. Los resultados de dichos ensayos de inhibición *in vitro* para el compuesto de referencia IFG-tartrato y diversos compuestos de prueba se resumen a continuación en la **Tabla 2A**.

50

Tabla 2A: Determinación *in vitro* de las constantes de inhibición

Cto. No.	Nombre de compuesto	C ₅₀ (µM) pH 5,2	K _i (µM) pH 5,2	C ₅₀ (µM) pH 7,0	K _i (µM) pH 7,0
6	(3R,4R,5S)-5-(difluorometil)-piperidina-3,4-diol	0,0259±0,0014	0,0136±0,0008	0,0058±0,00023	0,00306±0,00012
13	(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol*	0,0946±0,0028	0,0498±0,0015	0,0171±0,0008	0,009±0,0004
9	(3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol*	0,107±0,0041	0,044±0,0017	0,020±0,0008	0,010±0,0004
10	(3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol*	0,343±0,021	0,142±0,0088	0,066±0,0041	0,035±0,0021
14	(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol*	0,038±0,0016	0,016±0,0007	0,007±0,0003	0,004±0,0001
Ninguno	Clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)-piperidina-3,4-diol	0,291±0,006	0,121±0,0026	0,060±0,0029	0,031±0,0015
Ninguno	(3R,4R,5S)-5-bencil-piperidina-3,4-diol	0,659±0,028	0,273±0,012	0,127±0,01	0,067±0,005
Ninguno	(3R,4R,5R)-5-((S)-hidroxifenil)metil)-piperidina-3,4-diol	3,29±0,25	1,36±0,10	0,017±0,0035	0,0089±0,0018
Ninguno	(3R,4R,5S)-5-(2-hidroxipropan-2-il)piperidina-3,4-diol	0,234±0,0037	0,097±0,0015	0,029±0,0013	0,015±0,0007
Ninguno	Tartrato de IFG	0,049±0,0029	0,026±0,0015	0,0074±0,00007	0,0039±0,000037

Notas:

* Estereoisómero A y/o B

Ensayo in situ

El efecto de los compuestos nuevos de la presente invención sobre la actividad lisosomal de GCasa se ensayó *in situ* utilizando fibroblastos establecidos de un sujeto normal. Las células sembradas en placas de 48 pocillos se incubaron con las concentraciones indicadas de compuesto durante 16-24 horas. Para los ensayos de respuesta a dosis, las células se incubaron *in situ* con el sustrato 5-(pentafluorobenzoilamino)fluoresceína di-β-D-glucopiranosida (PFBFDβGlu) durante 1 hora y posteriormente se lisaron para determinar el alcance de la hidrólisis de sustrato en presencia del compuesto. El ensayo empleó un rango de 12 concentraciones que comprenden 5 órdenes de magnitud, centrados en el Cl_{50} . Específicamente, se emplearon los siguientes rangos de concentración: (3R,4R,5S)-β-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol, clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)piperidina-3,4-diol, y (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol: $1,0 \times 10^{-3}$ a $3,0 \times 10^{-9}$ M; (3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol: $1,0 \times 10^{-4}$ a $3,0 \times 10^{-10}$ M; y (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol: $1,0 \times 10^{-3}$ a $3,0 \times 10^{-11}$ M; en donde el compuesto se diluyó en serie 1:3 a partir de la concentración más alta en los rangos especificados. La inhibición se determinó como la relación entre la actividad en presencia de compuesto y la actividad en ausencia de compuesto. Para los ensayos de lavado, las células se trataron con compuesto durante 16-24 horas a una concentración igual a Cl_{90} . Las células se lavaron profusamente y se incubaron en un medio libre de fármaco para permitir que el compuesto neto fluyera de las células. Luego se evaluó la actividad de GCasa lisosomal de las células en intervalos de 2 horas en un período total de 8 horas después de la eliminación del compuesto. El aumento en la actividad con el tiempo se ajustó con una función exponencial única para determinar el tiempo de lavado del compuesto. Los resultados de dichos ensayos de inhibición *in situ* para el compuesto de referencia IFG-tartrato y diversos compuestos de prueba se resumen a continuación en la **Tabla 2B**.

Tabla 2B: Determinación <i>in situ</i> de las constantes de inhibición					
Cto. No.	Compuesto Nombre	Cl_{50} in situ (μM)	lavado in situ (hr)	CE_{50} (μM)	E_{max} (%)
6	(3R,4R,5S)-5-(difluorometil)-piperidina-3,4-diol	$0,408 \pm 0,046$	$2,1 \pm 0,30$	$0,018 \pm 0,008$	$105,6 \pm 8,7$
13	(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol*	$0,650 \pm 0,172$	$2,7 \pm 0,12$	$0,044 \pm 0,005$	$92,8 \pm 6,6$
9	(3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol*	$0,518 \pm 0,022$	$10,5 \pm 1,75$	$0,49 \pm 0,06$	$83,7 \pm 2,9$
10	(3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol*	$0,798 \pm 0,043$	$12 \pm 1,65$	$1,06 \pm 0,12$	$99,3 \pm 4,9$
14	(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol*	$0,061 \pm 0,019$	$3,7 \pm 0,63$	$0,026 \pm 0,003$	$89,7 \pm 3,5$
ninguno	Clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)-piperidina-3,4-diol	$0,972 \pm 0,201$	SD	$0,086 \pm 0,002$	$84,0 \pm 4,1$
ninguno	(3R,4R,5S)-5-bencil-piperidina-3,4-diol	$1,299 \pm 0,323$	$1,2 \pm 0,13$	$0,18 \pm 0,01$	$98,0 \pm 4,5$
ninguno	(3R,4R,5R)-5-((S)-hidroxi(fenil)metil)-piperidina-3,4-diol	SD	SD	$4,99 \pm 0,86$	$72,1 \pm 3,5$
ninguno	(3R,4R,5S)-5-(2-hidroxipropan-2-il)piperidina-3,4-diol	SD	SD	$0,791 \pm 0,162$	$109,3 \pm 3,6$
ninguno	Tartrato de IFG	$0,271 \pm 0,012$	$8,2 \pm 0,04$	$0,31 \pm 0,11$	$105,5 \pm 12,8$
Notas:					

* Estereoisómero A y/o B

Ecuación de Cheng-Prusoff: $K_i = CI_{50} / (1 + [S]/K_m)$

donde [S] = concentración de sustrato; se utilizó 2,5 mM de 4-MU- α -D-Glc

K_m = constante de Michaelis que define la afinidad del sustrato; $1,8 \pm 0,6$ mM para 4-MU- α -D-Glc (Liou et al., (2006) *J Biol. Chem.* 281 (7), 4242-53)

Cuando se compara con el compuesto de referencia IFG-tartrato, se observa lo siguiente: se encontró que (i) los compuestos de prueba (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol, clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)piperidina-3,4-diol y (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol causan un aumento dependiente de concentración en la actividad de GCasa y actividad enzimática mejorada al mismo nivel máximo que el compuesto de referencia IFG-tartrato en una concentración mucho más baja; (ii) los compuestos de prueba (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol y (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol se lavaron del compartimiento lisosomal (lavado *in situ*) considerablemente más rápido que el compuesto de referencia IFG-tartrato; y (iii), los compuestos de prueba (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol, clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)piperidina-3,4-diol y (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol inhibieron la actividad de GCasa.

EJEMPLO 2: Penetración en la barrera sangre-cerebro

Se ensayó la penetración en la barrera sangre-cerebro (BBB) del compuesto de referencia IFG-tartrato y diversos compuestos de la presente invención (es decir, (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol, clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)piperidina-3,4-diol y (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol) después de la administración oral a ratones. A estos efectos, a ratones macho tipo salvaje (C57BL/6) de 8 semanas de edad se les administró una única dosis oralmente de 30 mg/kg (equivalente de base libre) del compuesto de referencia o de prueba por sonda ($n = 3$ ratones por punto de tiempo). Las soluciones de dosificación se prepararon en agua. Después de la dosificación, los ratones se sacrificaron con CO₂ en los siguientes puntos de tiempo: 0, 0,5, 1 y 4 horas después de la dosis. Después de la eutanasia se recolectó sangre entera de la vena cava inferior en tubos con heparina de litio. De manera similar, se recolectaron los cerebros de cada ratón. El plasma se derivó mediante centrifugado de sangre entera a 2.700 x g durante 10 minutos a 4°C seguido de almacenamiento sobre hielo seco. Los cerebros enteros se lavaron en PBS frío para eliminar la sangre contaminante, se secaron, se congelaron sobre hielo seco y finalmente se almacenaron a -80°C hasta el análisis. Para preparar las muestras de cerebro para análisis, se homogenizaron 50-100 mg de tejido en 400 μ l de agua/mg de tejido. Las muestras se clarificaron luego mediante centrifugación. A continuación, se combinaron 25 μ l del sobrenadante de homogenado de cerebro o 25 μ l de plasma con 25 μ l de acetonitrilo:agua (95/5). Esto se complementó con 25 μ l de acetonitrilo y 50 μ l de estándar interno (100 ng/mL de IFG-tartrato 13C2-15N en ácido fórmico al 0,5% en (70:30) acetonitrilo:metanol). Las muestras se clarificaron mediante centrifugación y se combinaron 75 μ l del sobrenadante con 75 μ l de acetonitrilo. Se analizaron luego los niveles de compuesto mediante LC-MS/MS en PPD Inc. (3230 Deming Way, Middleton, WI 53562). En breve, se empleó una columna de 5 μ de 50 x 3 mm de Sílice-100 Thermo Betasil, equilibrada con una mezcla de fase móvil que consistía en 5 mM de formato de amonio y ácido fórmico al 0,05% en (A) 95:5 de acetonitrilo:agua o (B) 70:20:10 metanol:agua:acetonitrilo. Se inyectaron entre 20 y 30 μ l de muestra para análisis. Para calcular las concentraciones de fármaco, los datos sin procesar para plasma (ng/mL) y cerebro (ng/g) se convirtieron a nM utilizando el peso molecular de los respectivos compuestos y asumiendo que 1 g de tejido es equivalente a 1 mL de volumen. La concentración en función de tiempo se graficó en GraphPad Prism versión 4.02.

Los niveles en plasma y los niveles en cerebro detectados en los ratones a los que se le administró una dosis única de 30 mg/kg (equivalente de base libre) oralmente del compuesto de referencia (es decir, IFG-tartrato) o el compuesto de prueba (es decir, (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol, clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)piperidina-3,4-diol o (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol) reflejan que (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol, clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)piperidina-3,4-diol y (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol cruzaron la barrera de sangre-cerebro más fácilmente en comparación con el IFG-tartrato. Adicionalmente, se detectaron en el cerebro niveles más altos de (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol, clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)piperidina-3,4-diol y (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol que los que se observaron tras la administración de IFG-tartrato.

EJEMPLO 3: Mejora de GCasa

Se evaluó en ratones la capacidad de los compuestos de prueba administrados oralmente ((3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol, clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)piperidina-3,4-diol o (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol) de elevar los niveles de GCasa. A estos efectos, a ratones machos tipo salvaje (C57BL/6) de 8 semanas de edad se les administró una única dosis oralmente (por sonda) de un compuesto de la presente invención (es decir, (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-

5 fluoroetil)piperidina-3,4-diol, clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)piperidina-3,4-diol o (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol). Los detalles de la dosis administrada para cada compuesto se proporcionan en las **Tablas 3A** y **3B**. Las soluciones de dosificación se prepararon en agua. Los compuestos se administraron en 2 semanas de la siguiente forma: semana 1, lun-vie (con administración), sáb-dom (sin administración); semana 2, lun-jue (con administración); necropsia el viernes. Por lo tanto, se proporcionó un total de 9 dosis (soluciones de dosificación preparadas todos los días) a cada ratón, con un lavado de 24 horas entre la última dosis y la necropsia.

10 Después de completarse la dosificación, los ratones se sacrificaron con CO₂ y se extrajo sangre entera en tubos con heparina de litio de la vena cava inferior. Se recolectó plasma mediante centrifugación de la sangre a 2700 g durante 10 minutos a 4°C. Se retiraron tejidos de hígado, bazo, pulmón y cerebro, se lavaron en PBS frío, se secaron, se congelaron sobre hielo seco y se almacenaron a -80° hasta el análisis. Los niveles de GCasa se midieron homogenizando aproximadamente 50 mg de tejido en 500 µL de solución amortiguadora McIlvane (MI) (100 mM de citrato de sodio, 200 mM de fosfato de sodio dibásico, taurocolato de sodio al 0,25%, y Tritón X-100 al 0,1%, pH 5,2) a 5,2 de pH durante 3-5 segundos sobre hielo con un microhomogenizador. Los homogenizados se incubaron luego a temperatura ambiente sin y con 2,5 mM de conductirol-B-epóxido (CBE) durante 30 min. Finalmente, se agregaron 3,7 mM de sustrato 4-metilumbeliferril-β-glucósido (4-MUG) y se incubaron a 37°C durante 60 min. Las reacciones se detuvieron mediante la adición de 0,4 M de glicina, pH 10,6. La fluorescencia se midió sobre un lector de placas durante 1seg/pocillo utilizando 355 nm de excitación y 460 nm de emisión. Se determinó la proteína total en lisados utilizando el kit MicroBCA de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Una curva estándar de 4-metilumbeliferona (4-MU) en el rango de 1,0 nM a 50 µM se ejecutó en paralelo para la conversión de los datos de fluorescencia sin procesar en la actividad absoluta de GCasa (en presencia y ausencia de CBE) y se expresó en nanomoles de 4-MU liberados por miligramo de proteína por hora (nmol/mg proteína/hora). Los niveles de GCasa y los niveles de proteína se calcularon utilizando Microsoft Excel (Redmond, WA) y GraphPad Prism versión 4.02.

25 Las **Tablas 3A** y **3B** resumen la dosis administrada para cada compuesto examinado en ratones como se describe anteriormente, así como también el nivel resultante de mejora de GCasa en cerebro y bazo, respectivamente, la concentración de compuesto en tejido, la concentración de compuesto en ensayo de GCasa y la constante de inhibición (K_i).

Tabla 3A: Mejora de GCasa en cerebro

Nombre del compuesto	Dosis (mg/kg) Ensayo de sangre entera	Aumento de GCasa (veces)	Concentración de compuesto en tejido 2,2 nmol/kg	Concentración de compuesto en ensayo de GCasa (µM)	Ki pH 5.2 (µM)
(3R,4R,5S)-5-(difluorometil)-piperidina-3,4-diol	10	2,1	55	0,0002	0,0136±0,0008
(3R,4R,5S)-5-(difluorometil)-piperidina-3,4-diol	100	2,6	301	0,0010	
(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol*	10	1,5	50	0,0002	0,0498±0,0015
(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol*	100	2,4	415	0,0014	
(3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol*	SD	SD	SD	SD	0,044±0,0017
(3R,4R,5R)-5-(1-hidroxietil)-piperidina-3,4-diol*	SD	SD	SD	SD	0,142±0,0088
(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol*	10	1,5	BLQ (1)	BLQ	0,016±0,0007
(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol*	100	2,2	41	0,0001	
Clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-fluoropropil)-piperidina-3,4-diol	10	0,9	BLQ (2)	BLQ	0,121±0,0026
Clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)-piperidina-3,4-diol	100	1,1	38	0,0001	
(3R,4R,5S)-5-bencil-piperidina-3,4-diol	10	1,2	SD	SD	0,273±0,012
(3R,4R,5S)-5-bencil-piperidina-3,4-diol	100	1,4	SD	SD	
(3R,4R,5R)-5-((S)-hidroximetil)-piperidina-3,4-diol	SD	SD	SD	SD	1,36±0,10
(3R,4R,5S)-5-(2-hidroxipropan-2-il)piperidina-3,4-diol	SD	SD	SD	SD	0,097±0,0015

Notas:
 * Estereoisómero A y/o B
 (1) BLQ (Debajo del límite de cuantificación) < 7,4 nmol/kg; (2) BLQ < 2,2 nmol/kg
 SD: Sin determinar

Tabla 3B: Mejora de GCasa en bazo

Nombre del compuesto	Dosis (mg/Kg) Ensayo sangre entera	Aumento de GCasa (veces)	Concentración de compuesto en tejido	Concentración de compuesto ensayo de GCasa	de en	Ki pH 5,2 (uM)
(3R,4R,5S)-5-(difluorometil)-piperidina-3,4-diol	10	1,9	100	0,0003		0,0136±0,0008
(3R,4R,5S)-5-(difluorometil)-piperidina-3,4-diol	100	2,4	435	0,0015		
(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol*	10	1,0	BLQ (1)	BLQ		0,0498±0,0015
(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol*	100	1,5	948	0,0032		
(3R,4R,5R)-5-(1-hidroxiethyl)-piperidina-3,4-diol*	SD	SD	SD	SD		0,044±0,0017
(3R,4R,5R)-5-(1-hidroxiethyl)-piperidina-3,4-diol*	SD	SD	SD	SD		0,142±0,0088
(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol*	10	1,6	BLQ (2)	BLQ		0,016±0,0007
(3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol*	100	2,3	99	0,0003		
Clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)-piperidina-3,4-diol	10	0,7	21	0,0001		0,121±0,0026
Clorhidrato (3R,4R,5S)-5-((R)-1-fluoropropil)-piperidina-3,4-diol	100	0,7	60	0,0002		
(3R,4R,5S)-5-bencil-piperidina-3,4-diol	10	1,0	SD	SD		0,273±0,012
(3R,4R,5S)-5-bencil-piperidina-3,4-diol	100	1,2	SD	SD		
(3R,4R,5R)-5-((S)-hidroxifenil)metil)-piperidina-3,4-diol	SD	SD	SD	SD		1,36±0,10

(3R,4R,5S)-5-(2-hidroxiopropan-2-il)piperidina-3,4-diol	SD	SD	SD	SD	SD	0,097±0,0015
<p>Notas:</p> <p>* Estereoisómero A y/o B</p> <p>(1) BLQ < 6,8 nmol/kg; (2) BLQ < 7,9 nmol/kg</p> <p>SD: Sin determinar</p>						

Como se refleja en las **Tablas 3A y 3B**, los ratones a los que se les administró (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol o (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol demostraron una mejora significativa de Gcasa en cerebro y bazo.

5 EJEMPLO 4: Farmacocinética de rata

Los datos de farmacocinética (PK) se obtuvieron en ratas para evaluar la biodisponibilidad del compuesto de prueba. En particular, se calcularon los siguientes parámetros de PK: biodisponibilidad medida por área bajo la curva de Concentración/Tiempo (AUC), fracción de dosis disponible (%F; se define también a continuación), aclaramiento (CL), volumen de distribución (V_D) y media vida (t_{1/2}). A estos efectos, a ratas macho Sprague-Dawley de 8 semanas de edad se les proporcionó una única dosis intravenosa (IV) equivalente a 3 mg/kg de dosis de base libre o dosis oral (por sonda) única en aumento del compuesto de prueba equivalente a 10, 30, y 100 mg/kg de base libre. Se utilizaron tres ratas por grupo de dosificación. Se recolectó la sangre en un período de 24 horas. Los puntos de tiempo para la recolección de sangre después de la administración intravenosa fueron: 0, 2,5, 5, 10, 15, 30, 45 min, 1, 2, 4, 8, 12 y 24 hrs; los puntos de tiempo para la recolección de sangre después de las administraciones orales fueron: 0, 5, 15, 30, 45 min, 1, 2, 3, 4, 8, 12 y 24 hrs. Se analizaron los niveles de compuesto de las muestras en plasma mediante LC-MS/MS en PPD. Los datos sin procesar se analizaron mediante análisis no compartimental en Win-nonLin para calcular V_D, %F, CL y t_{1/2}.

Los parámetros farmacocinéticos para (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol y (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol en base al estudio mencionado anteriormente se detallan a continuación en las **Tablas 4A-D**

Tabla 4A: PK de rata para (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)-piperidina-3,4-diol-HCl

Dosis (mg/kg)								
Sal	Base libre	Vía	AUC _{last} (hr*ng/ml)	%F	t _{1/2} (h)	C _{máx} (ng/mL)	CL (mL/hr/kg)	V _D (mL/kg)
3,65	3	IV	AUC _{0-12 hr} 2044 ± 294	N/C	1,1 ± 0,05	2323 ± 348	1555 ± 218	2612 ± 269
12,18	10	oral	AUC _{0-12hr} 6714 ± 524	106 ± 8,6	2,58 ± 0,78	3363 ± 219	N/C	N/C
36,54	30	oral	AUC _{0-24hr} 21685 ± 1515	101 ± 6,9	2,75 ± 0,36	10037 ± 865	N/C	N/C
121,81	100	oral	AUC _{0-24hr} 79389 ± 8570	121 ± 12,9	2,41 ± 0,16	33200 ± 4990	N/C	N/C

Notas:

Valores medios del análisis no compartimental (N=3 ratas)

BLD Debajo del límite de detección (<0,5 ng/mL)

BLQ Debajo del límite de cuantificación

%F = $\frac{AUC\ oral \times 100}{dosis\ normalizada}$

AUC IV

AUC_{last} = Área bajo la curva de Concentración/Tiempo hasta el último punto de datos

20

Tabla 4B: PK de rata para (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol-HCl*

Dosis (mg/kg)								
Sal	Base libre	Vía	AUC _{last} (hr*ng/ml)	%F	t _{1/2} (h)	C _{max} (ng/mL)	CL (mL/hr/kg)	V _D (mL/kg)
3,67	3	IV	AUC _{0-24hr} 1421 ± 188,1	N/C	2,6 ± 0,64	2328 ± 373	2708 ± 410	9774 ± 1551

12,23	10	oral	AUC _{0-24hr} 7097 ± 606	148 ± 12,5	2,8 ± 0,50	2680 ± 167	N/C	N/C
36,70	30	oral	AUC _{0-24hr} 21664 ± 1708	155 ± 12,2	2,7 ± 0,12	6917 ± 451	N/C	N/C
122,34	100	oral	AUC _{0-24hr} 59481 ± 1005	142 ± 2,5	2,5 ± 0,19	19433 ± 3031	N/C	N/C
Nota:								
* Estereoisómero A y/o B								

Tabla 4C: PK de rata para (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)-piperidina-3,4-diol-HCl*

Dosis (mg/kg)								
Sal	Base libre	Vía	AUC _{last} (hr*ng/ml)	%F	t _{1/2} (h)	C _{máx} (ng/mL)	CL (mL/hr/kg)	V _D (mL/kg)
3,67	3	IV	AUC _{0-24hr} 1370 ± 109	N/C	2,06 ± 0,47	2427 ± 192	2188 ± 173	6304 ± 927
12,23	10	oral	AUC _{0-24hr} 4251 ± 88	98 ± 1,85	3,0 ± 0,22	1127 ± 60	N/C	N/C
36,70	30	oral	AUC _{0-24hr} 14229 ± 127	104 ± 0,88	2,6 ± 0,16	4680 ± 369	N/C	N/C
122,34	100	oral	AUC _{0-24hr} 50946 ± 713	104 ± 1,5	2,4 ± 0,16	15733 ± 622	N/C	N/C
Nota:								
* Estereoisómero A y/o B								

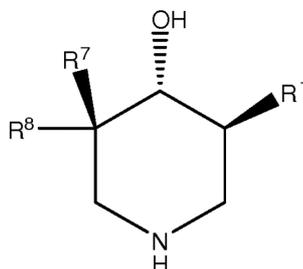
Tabla 4D: PK de rata para (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol-HCl

Dosis (mg/kg)								
Sal	Base libre	Vía	AUC _{last} (hr*ng/ml)	%F	t _{1/2} (h)	C _{máx} (ng/mL)	CL (mL/hr/kg)	V _D (mL/kg)
3,53	3	IV	AUC _{0-12hr} 592 ± 60,9	N/C	1,7 ± 1,5	969 ± 104	5145 ± 532	12570 ± 1792
11,76	10	oral	AUC _{0-24hr} 1200 ± 46,4	61,7 ± 2,4	3,86 ± 0,6	641 ± 48,7	N/C	N/C
35,28	30	oral	AUC _{0-24hr} 3690 ± 71,5	62,3 ± 1,2	3,8 ± 0,19	1703 ± 133	N/C	N/C
117,59	100	oral	AUC _{0-24hr} 13519 ± 2177	68,3 ± 10,8	2,9 ± 0,11	7140 ± 1357	N/C	N/C

Como se refleja en las **Tablas 4A-D**, (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol y (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol tienen perfiles farmacocinéticos favorables para el desarrollo de fármacos. En particular, (3R,4R,5S)-5-(difluorometil)piperidina-3,4-diol, (3R,4R,5S)-5-(1-fluoroetil)piperidina-3,4-diol y (3R,4R,5S)-5-bencilpiperidina-3,4-diol muestran una excelente biodisponibilidad oral (aproximadamente 50-100%) y proporcionalidad de dosis, una media vida de 1,0 a 4,0 horas y un volumen de distribución que sugiere una penetración adecuada en tejidos periféricos.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula III:



en donde:

5 R¹ es C(R²)(R³)(R⁴);

R² es hidrógeno, -OH o halógeno;

R³ es hidrógeno, -OH, halógeno o -CH₃;

R⁴ es halógeno, -CH₃, fenilo, fluorofenilo, metilfenilo, ciclohexilmetilo, en donde cuando R⁴ es un halógeno, tanto R² como R³ no pueden ser hidrógeno;

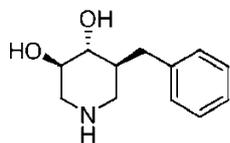
10 R³ y R⁴ pueden juntarse con el carbono al que están unidos para formar un anillo cicloalquilo, que puede estar opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno;

R⁷ es -OH o halógeno; y

R⁸ es hidrógeno, halógeno o -CH₃;

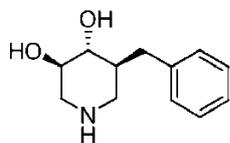
o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo;

15 con la condición de que el compuesto no sea:



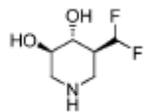
2. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 y al menos un soporte farmacéuticamente aceptable.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 o un compuesto de fórmula:



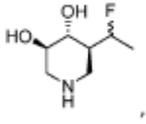
20 para uso en prevenir y/o tratar una afección seleccionada de la enfermedad de Parkinson, demencia con cuerpos de Lewis, atrofia del sistema múltiple o enfermedad de Alzheimer en un paciente en riesgo de desarrollar o de ser diagnosticado con la misma.

4. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el compuesto es:



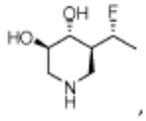
25 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el compuesto es:



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

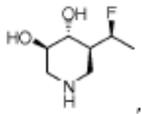
6. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el compuesto es:



5

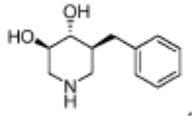
o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

7. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el compuesto es:



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

10 8. Un compuesto para uso de acuerdo con la reivindicación 3, en donde el compuesto es:



o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

15 9. Un compuesto para uso de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 3 a 8, en donde el compuesto se administra en combinación con al menos otro agente terapéutico seleccionado de levodopa, un anticolinérgico, un inhibidor de catecol-O-metil transferasa, un agonista del receptor de dopamina, un inhibidor de monoamina oxidasa, un inhibidor de descarboxilasa periférica o un agente anti-inflamatorio.