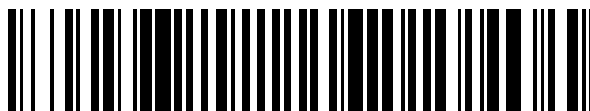


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 401 319**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/55** (2006.01)

**A61P 25/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.12.2003 E 09168436 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.01.2013 EP 2186516**

54 Título: **Nuevo derivado de benzazepina**

30 Prioridad:

**20.12.2002 GB 0229820**

**02.06.2003 GB 0312607**

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

**18.04.2013**

73 Titular/es:

**GLAXO GROUP LIMITED (100.0%)  
GLAXO WELLCOME HOUSE BERKELEY AVENUE  
GREENFORD MIDDLESEX UB6 0NN, GB**

72 Inventor/es:

**SEHMI, SANJEET SINGH;  
WILSON, DAVID MATTHEW y  
WITHERINGTON, JASON**

74 Agente/Representante:

**DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto**

**ES 2 401 319 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

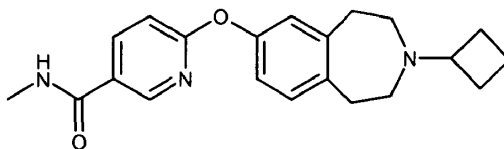
Nuevo derivado de benzazepina.

La presente invención se refiere a un nuevo derivado de benzazepina que tiene actividad farmacológica, a procesos para su preparación, a composiciones que lo contienen y a su uso en el tratamiento de trastornos neurológicos y psiquiátricos.

Los documentos JP 2001226269 y WO 00/23437 (Takeda Chem. Ind. Ltd) describen una serie de derivados de benzazepina que se afirma que son útiles en el tratamiento de la obesidad. Los documentos DE 2207430, US 4.210.749 y FR 2171879 (Pennwalt Corp) y el documento GB 1268243 (Wallace and Tiernan Inc.) describen todos ellos una serie de derivados de benzazepina que se afirma que son antagonistas de narcóticos (como morfina o codeína), y también antihistaminas y agentes anticolinérgicos. El documento WO 02/14513 (Takeda Chem. Ind. Ltd) describe una serie de derivados de benzazepina con actividad GPR12 que se afirma que son útiles en el tratamiento del trastorno del déficit de atención, la narcolepsia o la ansiedad. El documento WO 02/02530 (Takeda Chem. Ind. Ltd) describe una serie de derivados de benzazepina como antagonistas de GPR14 que se afirma que son útiles en el tratamiento de la hipertensión, la aterosclerosis y el infarto de miocardio. El documento WO 01/03680 (Isis Innovation Ltd) describe una serie de derivados de benzazepina que se afirma que son agentes eficaces en la preparación de células para el trasplante, además de la inhibición de enfermedades como la diabetes. El documento WO 00/21951 (SmithKline Beecham plc) describe una serie de derivados de tetrahydrobenzazepina como moduladores de los receptores de dopamina D3 que se afirma que son útiles como agentes antipsicóticos. El documento WO 01/87834 (Takeda Chem. Ind. Ltd) describe una serie de derivados de benzazepina como antagonistas de MCH que se afirma que son útiles en el tratamiento de la obesidad. El documento WO 02/15934 (Takeda Chem. Ind. Ltd) describe una serie de derivados de benzazepina como antagonistas del receptor de urotensina II que se afirma que son útiles en el tratamiento de trastornos neurodegenerativos.

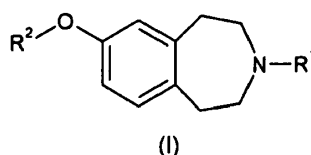
El receptor H3 de histamina se expresa predominantemente en el sistema nervioso central (SNC) de mamíferos, con una expresión mínima en tejidos periféricos, excepto en algunos nervios simpáticos (Leurs *et al.* (1998), Trends Pharmacol. Sci., **19**, 177-183). La activación de los receptores de H3 por agonistas selectivos o histamina produce la inhibición de la liberación de neurotransmisores desde diversas poblaciones diferentes de nervios, incluyendo neuronas histaminérgicas y colinérgicas (Schlicker *et al.* (1994), Fundam. Clin. Pharmacol. **8**, 128-137). Además, estudios *in vitro* e *in vivo* han demostrado que antagonistas de H3 pueden facilitar la liberación de neurotransmisores en áreas del cerebro como la corteza cerebral y el hipocampo, importantes para la cognición (Onodera *et al.* (1998), en: The Histamine H3 receptor, ed. Leurs y Timmerman, pp. 255-267, Elsevier Science B.V.). Además una serie de informes en la bibliografía han demostrado las propiedades potenciadoras de la cognición de los antagonistas de H3 (por ejemplo, tioperamida, clobenpropit, ciproxifano y GT-2331) en modelos de roedor incluyendo la tarea de cinco elecciones, reconocimiento de objetos, laberinto más complicado, adquisición de nuevas tareas y evitación pasiva (Giovanni *et al.* (1999), Behav. Brain Res., **104**, 147-155). Estos datos sugieren que nuevos antagonistas de H3 y/o agonistas inversos, como la serie actual, pueden ser útiles para el tratamiento de déficit cognitivo en enfermedades neurológicas como la enfermedad de Alzheimer y trastornos neurodegenerativos.

La presente invención proporciona, en un primer aspecto, un compuesto que es 6-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)-N-metil-nicotinamida



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

El compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo de la invención es un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:



en donde:

R<sup>1</sup> representa ciclobutilo no sustituido; y

R<sup>2</sup> representa 2-piridinilo sustituido con un grupo CON(H)(Me), y representa 4-metilaminocarbonilpiridin-2-ilo;

o sus solvatos.

5 Los grupos alquilo, por sí solos o como parte de otro grupo, pueden ser lineales o ramificados, y los grupos alcoxi y alcanoilo se interpretarán de forma similar. Los restos alquilo son más preferiblemente alquilo C<sub>1-4</sub>, por ejemplo metilo o etilo. El término "halógeno" se utiliza en la presente para describir, a menos que se indique lo contrario, un grupo seleccionado de flúor, cloro, bromo o yodo.

10 Las referencias a "arilo" incluyen referencias a anillos aromáticos carbocíclicos monocíclicos (por ejemplo fenilo) y anillos aromáticos carbocíclicos bicíclicos (por ejemplo naftilo) o anillos benzocondensados carbocíclicos (por ejemplo cicloalquilo C<sub>3-8</sub> condensado con un anillo de fenilo, como dihidroindenilo o tetrahidronaftalenilo).

15 El término "heterociclilo" pretende significar un anillo alifático saturado o parcialmente insaturado monocíclico de 4-7 miembros, o un anillo alifático saturado o parcialmente insaturado de 4-7 miembros condensado con un anillo de benceno que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno o azufre. Los ejemplos adecuados de estos anillos monocíclicos incluyen pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, morfolinilo, tiomorfolinilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidropiraniilo, diazepanilo, azepanilo, imidazolidinilo, isotiazolidinilo, oxazolidinilo, pirrolidinona y tetrahidrooxazepinilo. Los ejemplos adecuados de anillos heterocíclicos benzocondensados incluyen indolinilo, isoindolinilo, benzodioxolilo, dihidroisoindol, dihidrobenzofuranilo, dihidrobenzotiopiraniilo y dihidroisoquinolinilo.

La expresión "heterociclilo que contiene nitrógeno" pretende representar cualquier grupo heterociclilo según se definió anteriormente, que contiene un átomo de nitrógeno.

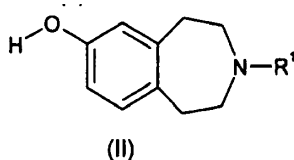
20 El término "heteroarilo" pretende significar un anillo aromático monocíclico de 5-7 miembros o un anillo aromático bicíclico de 8-11 miembros condensado que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados de oxígeno, nitrógeno y azufre. Los ejemplos adecuados de estos anillos aromáticos monocíclicos incluyen tienilo, furilo, pirrolilo, triazolilo, imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, oxadiazolilo, isotiazolilo, isoxazolilo, tiadiazolilo, pirazolilo, pirimidilo, piridazinilo, pirazinilo, piridilo y tetrahidropiraniilo. Los ejemplos adecuados de estos anillos aromáticos condensados incluyen anillos aromáticos benzocondensados como quinolinilo, isoquinolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, cinnolinilo, naftiridinilo, indolilo, indazolilo, furopiridinilo, pirrolopiridinilo, benzofuranilo, benzotienilo, benzimidazolilo, benzoxazolilo, benzisoxazolilo, benzotiazolilo, benzisotiazolilo, benzoxadiazolilo, benzotiadiazolilo y similares.

30 Los compuestos de fórmula (I) pueden formar sales de adición de ácido con ácidos, tales como los ácidos farmacéuticamente aceptables convencionales, por ejemplo ácido maleico, clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, acético, fumárico, salicílico, sulfato, cítrico, láctico, mandélico, tartárico y metanosulfónico. Las sales, los solvatos y los hidratos de los compuestos de fórmula (I) forman, por lo tanto, un aspecto de la invención.

Los tautómeros de los compuestos de fórmula (I) también forman un aspecto de la invención.

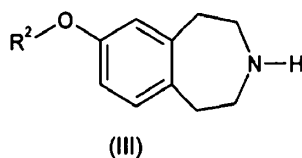
La presente invención también proporciona un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, comprendiendo dicho proceso:

35 (a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II)



en la que R<sup>1</sup> es como se definió anteriormente, con un compuesto de fórmula R<sup>2</sup>-L<sup>1</sup>, en la que R<sup>2</sup> es como se definió anteriormente para R<sup>2</sup> o un grupo convertible en éste, y L<sup>1</sup> representa un grupo saliente adecuado, como un átomo de halógeno (por ejemplo bromo o yodo) o un grupo hidroxilo opcionalmente activado;

40 (b) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (III)



en la que  $R^2$  es como se definió anteriormente, con un compuesto de fórmula  $R^1-L^2$ , en la que  $R^1$  es como se definió anteriormente para  $R^1$  o un grupo convertible en éste, y  $L^2$  representa un grupo saliente adecuado, como un átomo de halógeno (por ejemplo bromo o yodo) o tosionato; o

5 (c) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (III) como se definió anteriormente, con una cetona de fórmula  $R^1=O$ , en la que  $R^1$  es como se definió anteriormente para  $R^1$  o un grupo convertible en éste; o

(d) desproteger un compuesto de fórmula (I) que está protegido; o

(e) interconvertir en otros compuestos de fórmula (I).

10 Cuando el grupo saliente  $L^1$  está unido a un carbono hibridado mediante  $sp^2$ , el proceso (a) comprende opcionalmente el uso de una sal de cobre(I), como yoduro de cobre(I), en presencia de una base como hidruro de sodio, en un disolvente apropiado, como piridina, a una temperatura apropiada, como el reflujo.

15 Cuando el grupo saliente  $L^1$  está unido a un carbono hibridado mediante  $sp^2$  activado, por ejemplo  $R^2-L^1$  es un haluro de heteroarilo, como 2-cloropiridina, el proceso (a) comprende, de forma típica, el uso de una base adecuada, como hidruro de sodio, en un disolvente apropiado, como dimetilformamida o sulfóxido de dimetilo, a una temperatura apropiada. Como alternativa, también puede emplearse terc-butóxido de potasio en terc-butanol a una temperatura apropiada.

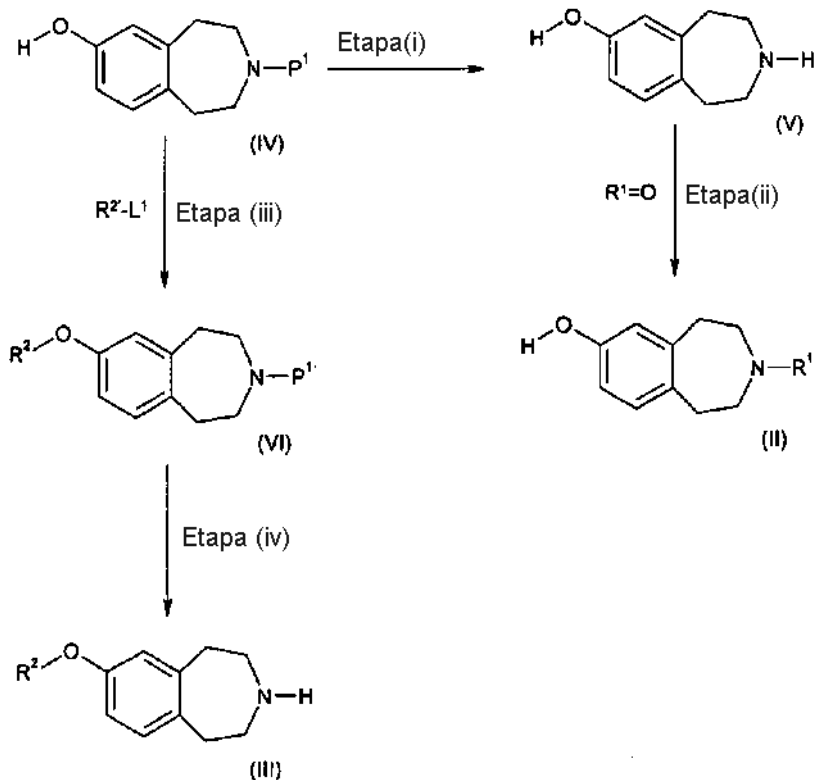
El proceso (b) comprende, de forma típica, el uso de una base adecuada, como carbonato de potasio en un disolvente apropiado, como 2-butanona, opcionalmente en presencia de un catalizador como yoduro de potasio a una temperatura apropiada, como el reflujo.

20 El proceso (c) comprende, de forma típica, el uso de condiciones reductoras (como el tratamiento con un borohidruro, por ejemplo, triacetoxiborohidruro de sodio), opcionalmente en presencia de un ácido, como ácido acético, en un disolvente apropiado, como diclorometano, a una temperatura adecuada, como la temperatura ambiente.

25 En el proceso (d), pueden encontrarse ejemplos de grupos protectores y los medios para su retirada en T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Synthesis" (J. Wiley and Sons, 1991). Los grupos protectores de amina adecuados incluyen sulfonilo (por ejemplo tosilo), acilo (por ejemplo acetilo, 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo, benciloxycarbonilo o t-butoxicarbonilo) y arilalquilo (por ejemplo bencilo), que pueden retirarse mediante hidrólisis (por ejemplo utilizando un ácido como ácido clorhídrico en dioxano, o ácido trifluoroacético en diclorometano) o de forma reductora (por ejemplo hidrogenolisis de un grupo bencilo o eliminación reductora de un grupo 2',2',2'-tricloroetoxicarbonilo utilizando cinc en ácido acético) como resulte apropiado. Otros grupos protectores de amina 30 adecuados incluyen trifluoroacetilo ( $-COCF_3$ ) que puede retirarse mediante hidrólisis catalizada por una base o una resina en fase sólida unida a un grupo bencilo, como una resina Merrifield unida a un grupo 2,6-dimetoxibencilo (conector Ellman), que puede retirarse mediante una hidrólisis catalizada por ácido, por ejemplo con ácido trifluoroacético.

35 El proceso (e) puede realizarse utilizando procedimientos de interconversión convencionales, como oxidación, reducción, alquilación, sustitución aromática nucleofílica o electrofílica, hidrólisis de éster, formación de enlaces amida o reacciones de acoplamiento mediadas por un metal de transición. Los ejemplos de reacciones de acoplamiento mediadas por un metal de transición útiles como procedimientos de interconversión incluyen las siguientes: reacciones de acoplamiento catalizadas por paladio entre electrófilos orgánicos, como haluros de arilo, y reactivos organometálicos, por ejemplo ácidos borónicos (reacciones de acoplamiento cruzado de Suzuki); 40 reacciones de aminación y amidación catalizadas por paladio entre electrófilos orgánicos, como haluros de arilo, y nucleófilos, como aminas y amidas; reacciones de amidación catalizadas por cobre entre electrófilos orgánicos (como haluros de arilo) y nucleófilos como amidas; y reacciones de acoplamiento mediadas por cobre entre fenoles y ácidos borónicos.

Los compuestos de fórmula (II) y (III) pueden prepararse según el siguiente esquema



en el que R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup>, R<sup>2'</sup> y L<sup>1</sup> son como se definió anteriormente, y P<sup>1</sup> representa un grupo protector adecuado, como Boc.

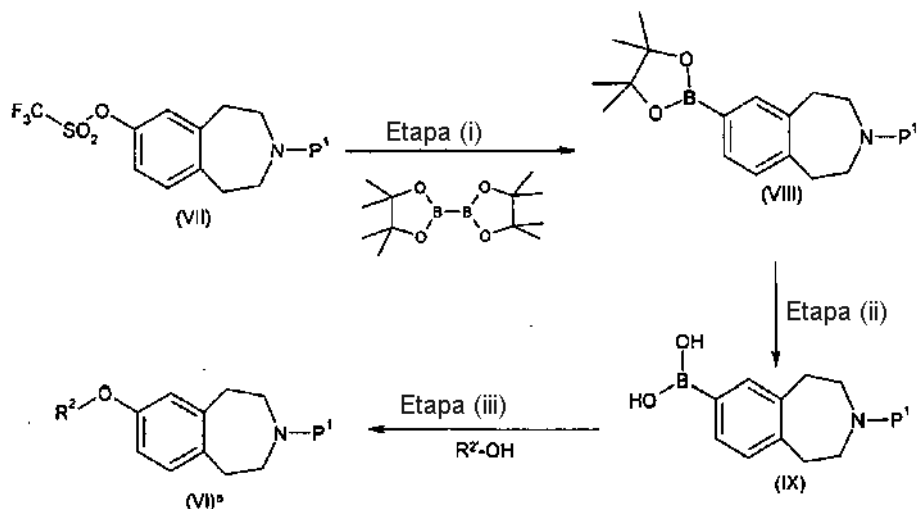
5 La etapa (i) comprende, de forma típica, una reacción de desprotección, por ejemplo, cuando P<sup>1</sup> representa Boc, la reacción de desprotección comprende la reacción de un compuesto de fórmula (IV) con un ácido, por ejemplo ácido clorhídrico en dioxano, o ácido trifluoroacético en diclorometano.

La etapa (ii) puede realizarse bajo condiciones reductoras de una manera análoga a la descrita para el proceso (c).

La etapa (iii) puede realizarse de una manera análoga a la descrita para el proceso (a).

10 La etapa (iv) comprende, de forma típica, una reacción de desprotección para proporcionar un compuesto de fórmula (III) y puede realizarse como se describe en la etapa (i).

Los compuestos de fórmula (VI) en la que R<sup>2</sup> representa -2-piridinilo sustituido con un grupo CON(H)(Me), y representa 4-metilaminocarbonilpiridin-2-ilo, también pueden prepararse según el siguiente esquema



en el que  $\text{R}^2$  y  $\text{R}^2$  son como se definió anteriormente, y  $\text{P}^1$  representa un grupo protector adecuado, como Boc.

La etapa (i) puede realizarse bajo condiciones de acoplamiento cruzado catalizado por paladio, por ejemplo, utilizando un complejo de bis(difenilfosfino)ferroceno-dicloropaladio (II) y 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno como sistema catalizador, junto con una base adecuada, como acetato de potasio, en un disolvente adecuado, por ejemplo dioxano, a una temperatura adecuada, por ejemplo el reflujo.

La etapa (ii) puede realizarse bajo condiciones de oxidación, por ejemplo utilizando peryodato de sodio en presencia de acetato de amonio, en un sistema disolvente adecuado, como acetona y agua, a una temperatura adecuada, por ejemplo la temperatura ambiente.

La etapa (iii) puede realizarse en presencia de una sal de cobre, por ejemplo acetato de cobre, junto con una base adecuada, como trietilamina, junto con tamices moleculares, en un disolvente apropiado, por ejemplo diclorometano, a una temperatura adecuada, por ejemplo la temperatura ambiente.

Los compuestos de fórmula (IV) pueden prepararse de una manera análoga a los descritos en la descripción 3 del documento WO 02/40471.

Los compuestos de fórmula (VII) pueden prepararse como se explica en términos generales en Bioorg. Med. Chem. Lett., 10, 22, 2000, 2553-2556.

El compuesto de fórmula (I) y sus sales farmacéuticamente aceptables tienen afinidad por el receptor H3 de histamina y son antagonistas y/o agonistas inversos de éste, y se cree que tienen un uso potencial en el tratamiento de enfermedades neurológicas incluyendo la enfermedad de Alzheimer, demencia, disfunción de la memoria relacionada con la edad, déficit cognitivo suave, déficit cognitivo, epilepsia, dolor neuropático, dolor inflamatorio, migraña, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple, accidentes cerebrovasculares y trastornos del sueño, incluyendo narcolepsia; trastornos psiquiátricos incluyendo esquizofrenia (en particular el déficit cognitivo de la esquizofrenia), trastorno de déficit de atención por hiperactividad, depresión y adicción; y otras enfermedades incluyendo obesidad, asma, rinitis alérgica, congestión nasal, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y trastornos gastrointestinales.

Por tanto, la invención también proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para utilizar como sustancia terapéutica en el tratamiento o profilaxis de los anteriores trastornos, en particular los déficit cognitivo en enfermedades como la enfermedad de Alzheimer y trastornos neurodegenerativos relacionados.

El compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo se puede utilizar en un método para el tratamiento o la profilaxis de los anteriores trastornos, en mamíferos incluyendo seres humanos, que comprende administrar al paciente una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En otro aspecto, la invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para utilizar en el tratamiento de los anteriores trastornos.

Cuando se usa en terapia, el compuesto de fórmula (I) se formula, normalmente, en composiciones farmacéuticas convencionales. Estas composiciones pueden prepararse utilizando procedimientos convencionales.

- 5 Por tanto, la presente invención proporciona además una composición farmacéutica para utilizar en el tratamiento de los anteriores trastornos, que comprende el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

La presente invención proporciona además una composición farmacéutica que comprende el compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

- 10 El compuesto de fórmula (I) puede utilizarse en combinación con otros agentes terapéuticos, por ejemplo antagonistas de la histamina H1 o medicamentos de los cuales se afirma que son útiles como tratamiento sintomático o modificador de la enfermedad de Alzheimer. Los ejemplos adecuados de estos otros agentes terapéuticos pueden ser agentes conocidos por modificar la transmisión colinérgica, como antagonistas de 5-HT<sub>6</sub>, agonistas muscarínicos M1, antagonistas muscarínicos M2 o inhibidores de acetilcolinesterasa. Cuando los  
15 compuestos se utilizan junto con otros agentes terapéuticos, los compuestos pueden administrarse de forma secuencial o simultánea mediante cualquier vía convencional.

Por tanto, la invención proporciona, en otro aspecto, una combinación que comprende un compuesto de fórmula (I) o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable, junto con uno o más agentes terapéuticos.

- 20 Las combinaciones indicadas anteriormente pueden presentarse, de forma conveniente, para utilizar en forma de una formulación farmacéutica y, por tanto, las formulaciones farmacéuticas que comprenden una combinación según se definió anteriormente, junto con un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable comprenden otro aspecto de la invención. Los componentes individuales de estas combinaciones pueden administrarse de forma secuencial o simultánea en formulaciones farmacéuticas separadas o combinadas.

- 25 Cuando un compuesto de fórmula (I) o un derivado del mismo farmacéuticamente aceptable se utiliza en combinación con un segundo agente terapéutico activo contra el mismo estado de enfermedad, la dosis de cada compuesto puede diferir de la utilizada cuando el compuesto se utiliza por sí solo. Un experto en la técnica apreciará con facilidad las dosis apropiadas.

- 30 Una composición farmacéutica de la invención, que puede prepararse mediante mezcla, de forma adecuada a temperatura ambiente y presión atmosférica, está adaptada normalmente para la administración oral, parenteral o rectal y, como tal, puede estar en forma de comprimidos, cápsulas, preparaciones líquidas orales, polvos, gránulos, pastillas, polvos reconstituibles, disoluciones o suspensiones inyectables o infusionables, o supositorios. Las composiciones administrables por vía oral se prefieren en general.

- 35 Los comprimidos y cápsulas para la administración oral pueden estar en una forma de dosificación unitaria, y pueden contener excipientes convencionales, como agentes ligantes, cargas, lubricantes para la formación de comprimidos, disgregantes y agentes humectantes aceptables. Los comprimidos pueden revestirse según métodos muy conocidos en la práctica farmacéutica normal.

- 40 Las preparaciones líquidas orales pueden estar en forma, por ejemplo, de suspensiones, disoluciones, emulsiones, jarabes o elixires acuosos u oleosos, o pueden estar en forma de un producto seco para la reconstitución con agua u otro vehículo adecuado antes del uso. Estas preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales como agentes suspensores, agentes emulsionantes, vehículos no acuosos (que pueden incluir aceites comestibles), conservants y, si se desea, aromatizantes o colorantes convencionales.

- 45 Para la administración parenteral, se preparan formas de dosificación unitaria fluidas utilizando un compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo estéril. El compuesto, dependiendo del vehículo y concentración utilizado, puede suspenderse o disolverse en el vehículo. Para preparar disoluciones, el compuesto puede disolverse para inyección y esterilizarse mediante filtración antes de introducirse en un vial o ampolla adecuado y sellar. De forma ventajosa, se disuelven adyuvantes como anestésicos locales, conservantes y agentes tamponantes en el vehículo. Para mejorar la estabilidad, la composición puede congelarse después de introducirse en el vial, y el agua se puede eliminar al vacío. Las suspensiones parenterales se preparan sustancialmente de la misma manera, excepto que el compuesto se suspende en el vehículo, en lugar de ser  
50 disuelto, y la esterilización no puede realizarse mediante filtración. El compuesto puede esterilizarse mediante exposición a óxido de etileno antes de la suspensión en un vehículo estéril. De forma ventajosa, se incluye un tensioactivo o agente humectante en la composición para facilitar la distribución uniforme del compuesto.

La composición puede contener desde 0,1% a 99% en peso, preferiblemente desde 10% a 60% en peso, del

material activo, dependiendo del método de administración. La dosis del compuesto utilizada en el tratamiento de los trastornos mencionados anteriormente variará de la manera habitual dependiendo de la gravedad de los trastornos, el peso del paciente y otros factores similares. Sin embargo, como guía general, unas dosis unitarias adecuadas pueden ser desde 0,05 a 1000 mg, de forma más adecuada desde 1,0 a 200 mg, y estas dosis unitarias pueden administrarse más de una vez diaria, por ejemplo dos o tres veces diarias. Esta terapia puede extenderse durante una serie de semanas o meses.

Las siguientes descripciones y ejemplos ilustran la preparación de los compuestos de la invención.

### Descripción 1

#### Éster *tert*-butílico del ácido 7-benciloxi-1,2,4,5-tetrahidro-benzo[*d*]azepin-3-carboxílico (D1)

10 Se suspendieron éster *tert*-butílico del ácido 7-hidroxi-1,2,4,5-tetrahidro-benzo[*d*]azepin-3-carboxílico (solicitud internacional PCT (2002), documento WO 02/40471) (790 mg, 3 mmol), carbonato de potasio (1,24 g, 9 mmol) y yoduro de potasio catalítico, en 2-butanona (20 ml). Se añadió bromuro de bencilo (536  $\mu$ l, 4,5 mmol) y la mezcla se calentó a reflujo durante 24 horas. Los sólidos se filtraron y después se lavaron con acetona. El filtrado se concentró al vacío y el aceite bruto se purificó mediante una cromatografía en columna, eluyendo con una mezcla de acetato de etilo y hexano (1:4) para producir el compuesto del título (D1) (1,06 g, 100%), RMN de  $^1\text{C}$  ( $\text{CDCl}_3$ ) 7,44 (5H, m), 7,03 (1H, d, J 8,1 Hz), 6,77 (1H, s), 6,74 (1H, dd, J 8,1 y 2,4 Hz), 3,49 (4H, m), 2,84 (4H, m), 1,48 (9H, s).

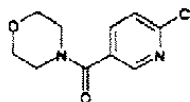
### Descripción 2

#### 7-benciloxi-1,2,4,5-tetrahidro-benzo[*d*]azepina (D2)

20 Se disolvió el éster *tert*-butílico del ácido 7-benciloxi-1,2,4,5-tetrahidro-benzo[*d*]azepin-3-carboxílico (D1) (1,06 g, 3 mmol) en diclorometano (15 ml) y se trató con ácido trifluoroacético (15 ml). La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas, se concentró al vacío y después se coevaporó dos veces con diclorometano. El residuo se disolvió en metanol y se aplicó a una columna de intercambio iónico SCX (Varian bond-elute, 10 g) y se lavó con metanol y después con una mezcla de amoníaco 0,880/metanol. Las fracciones básicas reunidas se redujeron al vacío y el residuo se purificó mediante cromatografía en columna, eluyendo con una mezcla de amoníaco 0,880:etanol:diclorometano (1:9:90) para producir el compuesto del título (D2) (702 mg, 93%), MS (ES+) m/e 254  $[\text{M}+\text{H}]^+$ .

### Descripción 5

#### 1-(6-cloropiridin-3-il)-1-morfolin-4-ilmetanona (D5)



30 Se añadió morfolina (0,2 ml, 2,2 mmol) a una disolución agitada de cloruro de 6-cloronicotinoílo (250 mg, 1,4 mmol) en diclorometano (10 ml). Después de 2 horas se dejó que la reacción se enfriase y la mezcla bruta se aplicó a un cartucho de intercambio iónico SCX (Varian bond-elute, 10 g) y se lavó con metanol. Las fracciones metanólicas se concentraron al vacío para producir el compuesto del título (D5).

### Descripciones 6-31

35 Las descripciones 6-31 (D6-D31) se prepararon y utilizaron sin mayor caracterización utilizando el método descrito para la descripción 5 (D5) a partir del haluro de arilo y la amina apropiados indicados en la tabla:

Descripción	Haluro de arilo	Amina
1-(6-cloropiridin-3-il)-1-pirrolidin-1-ilmetanona (D6)	Cloruro de 6-cloronicotinoílo	Pirrolidina
6-cloronicotinamida (D7)	Cloruro de 6-cloronicotinoílo	Amoníaco
6-cloro- <i>N,N</i> -dimetilnicotinamida (D8)	Cloruro de 6-cloronicotinoílo	Dimetilamina
6-cloro- <i>N</i> -etil- <i>N</i> -metilnicotinamida (D9)	Cloruro de 6-cloronicotinoílo	<i>N</i> -etilmetilamina



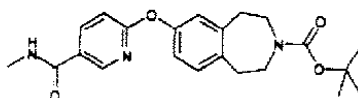
ES 2 401 319 T3

6-cloro- <i>N</i> -metilnicotinamida (D10)	Cloruro de 6-cloronicotinoílo	Metilamina
6-cloro- <i>N</i> -ciclopentil-nicotinamida (D11)	Cloruro de 6- cloronicotinoílo	Ciclopentilamina
1-(6-cloropiridin-3-il)-1-piperidin-1-ilmetanona (D12)	Cloruro de 6-cloronicotinoílo	Piperidina
1-(2-cloropiridin-4-il)-1-piperidin-1-ilmetanona (D13)	Cloruro de 2-cloroisonicotinoílo	Piperidina
1-(2-cloropiridin-4-il)-1-pirrolidin-1-ilmetanona (D14)	Cloruro de 2-cloroisonicotinoílo	Pirrolidina
1-(2-cloropiridin-4-il)-1-morfolin-4-ilmetanona (D15)	Cloruro de 2-cloroisonicotinoílo	Morfolina
1-(6-cloropiridin-2-il)-1-piperidin-1-ilmetanona (D16)	Cloruro de 6-cloro-piridin-2-carbonilo	Piperidina
1-(6-cloropiridin-2-il)-1-(1,1-dioxotiomorfolin-4-il)metanona (D17)	Cloruro de 6-cloro-piridin-2-carbonilo	1,1-dióxido de tiomorfolina
1-(6-cloropiridin-2-il)-1-pirrolidin-1-ilmetanona (D18)	Cloruro de 6-cloro-piridin-2-carbonilo	Pirrolidina
1-(6-cloropiridin-2-il)-1-morfolin-4-ilmetanona (D19)	Cloruro de 6-cloro-piridin-2-carbonilo	Morfolina
1-(2-cloropiridin-3-il)-1-morfolin-4-ilmetanona (D20)	Cloruro de 2-cloronicotinoílo	Morfolina
1-(2-cloropiridin-3-il)-1-piperidin-1-ilmetanona (D21)	Cloruro de 2-cloronicotinoílo	Piperidina
1-(4-yodofenil)-1-morfolin-4-ilmetanona (D22)	Cloruro de 4-yodobenzoílo	Morfolina
4-yodo- <i>N</i> -ciclopropilmetil-benzamida (D23)	Cloruro de 4-yodobenzoílo	Ciclopropil-metilamina
1-(4-yodofenil)-1-pirrolidin-1-ilmetanona (D24)	Cloruro de 4-yodobenzoílo	Pirrolidina
4-yodo- <i>N</i> -ciclobutil-benzamida (D25)	Cloruro de 4-yodobenzoílo	Ciclobutilamina
4-yodo- <i>N,N</i> -dietilbenzamida (D26)	Cloruro de 4-yodobenzoílo	Dietilamina
4-yodo- <i>N</i> -(2-cianoetil)- <i>N</i> -metilbenzamida (D27)	Cloruro de 4-yodobenzoílo	3-metilamino-propionitrilo
1-(3-yodofenil)-1-morfolin-4-ilmetanona (D28)	Cloruro de 3-yodobenzoílo	Morfolina
3-yodo- <i>N</i> -ciclopropilmetil-benzamida (D29)	Cloruro de 3-yodobenzoílo	Ciclopropil-metilamina
4-(4-yodobencensulfonil)-morfolina (D30)	Cloruro de 4-yodobencensulfonilo	Morfolina
4-yodo- <i>N,N</i> -dietilbencen-sulfonamida (D31)	Cloruro de 4-yodobencensulfonilo	Dietilamina

**Descripción 39**

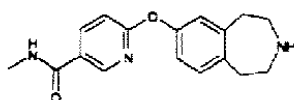
**7-({5-[(metilamino)carbonil]-2-piridinil}oxi)-1,2,4,5-tetrahidro-3*H*-3-benzazepin-3-carboxilato de 1,1-dimetiletilo**

(D39)



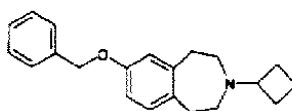
5 Se disolvió éster *tert*-butílico del ácido 7-hidroxi-1,2,4,5-tetrahidro-benzo[*d*]azepin-3-carboxílico (solicitud internacional PCT (2002), documento WO 02/40471) (8,7 g, 33 mmol) en *tert*-butanol y se trató con *tert*-butóxido de potasio (4 g, 36 mmol). Después de agitar durante 30 minutos a temperatura ambiente, se añadió 6-cloro-*N*-metilnicotinamida (D10) (5,1 g, 30 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a reflujo durante 20 horas. La mezcla de reacción se enfrió hasta la temperatura ambiente y se concentró al vacío. Se añadió hielo/agua al residuo bruto, produciéndose un precipitado que se recogió mediante filtración. El precipitado sólido se disolvió en acetato de etilo, se lavó con salmuera y se secó (sulfato de magnesio). La capa orgánica se filtró, se concentró al vacío y el residuo

10 resultante se purificó mediante una cromatografía en columna, eluyendo con una mezcla de acetato de etilo:hexano (1:1) para producir el compuesto del título (D39). RMN (CDCl<sub>3</sub>) 8,52 (1H, d, J = 2,4), 8,12 (1H, dd, J = 8,8), 7,16 (1H, m), 6,95-6,81 (3H, m), 6,02 (1H, a), 3,57 (4H, a), 3,02 (3H, d, J = 2,4), 2,89 (4H, a), 1,49 (9H, s).

**Descripción 40*****N*-metil-6-(2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-benzazepin-7-iloxy)-3-piridincarboxamida (D40)**

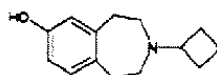
15

Se disolvió 7-((5-[(metilamino)carbonil]-2-piridinil)oxi)-1,2,4,5-tetrahidro-3*H*-3-benzazepin-3-carboxilato de 1,1-dimetiletilo (D39) (3,98 g, 10 mmol) en dioxano (40 ml) y se trató con una disolución de cloruro de hidrógeno 4 M en dioxano (35 ml). La mezcla de reacción se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 6 horas y después se concentró al vacío para producir el compuesto del título (D40), MS (ES+) m/e 298 [M+H]<sup>+</sup>.

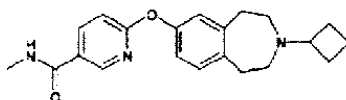
20 **Ejemplo de referencia 1****7-benciloxi-3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]azepina (E1)**

25 Se disolvió 7-benciloxi-1,2,4,5-tetrahidro-benzo[*d*]azepina (D2) (25,3 g, 100 mmol) en ácido acético al 2,5% en diclorometano (400 ml) a 0°C y se trató gota a gota con ciclobutanona (11,2 ml, 150 mmol). La mezcla se agitó durante 30 minutos y después se añadió de forma discontinua triacetoxiborohidruro de sodio (31,8 g, 150 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas, se basificó con una disolución de carbonato de sodio saturada y se extrajo con diclorometano. Los extractos reunidos se lavaron con agua, salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío. El residuo bruto se trituró con hexano y se filtró para producir el producto del título (E1), MS (ES+) m/e 308 [M+H]<sup>+</sup>.

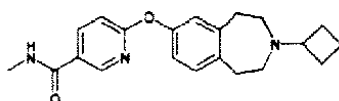
30

**Ejemplo de referencia 3****3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-ol (E3)**

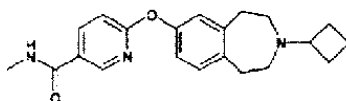
- 5 Se disolvió 7-benciloxi-3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepina (E1) (9,22 g, 30 mmol) en etanol (150 ml) y tetrahidrofurano (50 ml). Se añadió paladio (1,5 g, al 10% sobre pasta de carbón) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente bajo una atmósfera de hidrógeno (1 atmósfera) durante 5 horas. La mezcla de reacción se filtró a través de celite y el filtrado se concentró al vacío. El residuo bruto se trituró con éter dietílico y se filtró para producir el producto del título (E3), MS (ES+) m/e 218 [M+H]<sup>+</sup>.

**10 Ejemplo 121****6-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)-N-metilnicotinamida (E121)**

- 15 Se añadió hidruro de sodio (dispersión al 60% en aceite mineral, 60 mg, 1,5 mmol) a una disolución agitada de 3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-ol (E3) (200 mg, 0,9 mmol) en sulfóxido de dimetilo (10 ml). Después de 0,5 horas, se añadió 6-cloro-N-metilnicotinamida (D10) (400 mg, 2,5 mmol) y la mezcla de reacción se calentó hasta 120°C durante 6 horas. Se dejó que la reacción se enfriase y la mezcla bruta se aplicó a un cartucho de intercambio iónico SCX (Varian bond-elute, 10 g) y se lavó con metanol y después con una mezcla de amoníaco 0,880:metanol (1:9). Las fracciones básicas reunidas se redujeron al vacío para producir el compuesto del título (E121), RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,56 (1H, dd, J = 2,4, 0,4 Hz), 8,48 (1H, ma), 8,20 (1H, dd, J = 8,4, 2,4 Hz), 7,16 (1H, d, J = 8,0 Hz), 7,03 (1H, dd, J = 8,4, 0,4 Hz), 6,91 (1H, d, J = 2,4 Hz), 6,86 (1H, dd, J = 8,0, 2,4 Hz), 2,87-2,77 (8H, m), 2,36 (4H, m), 2,00 (2H, m), 1,78 (2H, m), 1,58 (2H, m), MS (ES+) m/e 352 [M+H]<sup>+</sup>.
- 20

**Ejemplo 121 (procedimiento alternativo 1)****6-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)-N-metilnicotinamida (E121)**

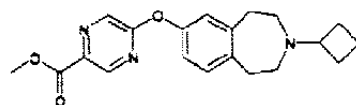
- 25 Se añadió hidruro de sodio (dispersión al 60% en aceite mineral, 0,331 g, 8,28 mmol) a una disolución agitada de 3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-ol (E3) (1,5 g, 6,9 mmol) en sulfóxido de dimetilo (15 ml). Después de 0,5 horas, se añadió 6-cloro-N-metilnicotinamida (D10) (2,34 g, 13,8 mmol) y la mezcla de reacción se calentó hasta 100°C durante 18 horas. Se dejó que la reacción se enfriase hasta la temperatura ambiente y después se repartió entre acetato de etilo y agua. La capa de acetato de etilo se separó y la capa acuosa se lavó con más volúmenes de acetato de etilo. Las capas orgánicas reunidas entonces se lavaron con agua, salmuera, se secaron (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) y después se filtraron. La mezcla se concentró al vacío y el residuo resultante se purificó mediante una cromatografía en columna, eluyendo con una mezcla de amoníaco 0,880:etanol:diclorometano (0,5:4,5:9,5, después 1:9:90) para producir el compuesto del título (E121), que después se recristalizó en tolueno, RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) δ 8,56 (1H, dd, J = 2,4, 0,4 Hz), 8,48 (1H, ma), 8,20 (1H, dd, J = 8,4, 2,4 Hz), 7,16 (1H, d, J = 8,0 Hz), 7,03 (1H, dd, J = 8,4, 0,4 Hz), 6,91 (1H, d, J = 2,4 Hz), 6,86 (1H, dd, J = 8,0, 2,4 Hz), 2,87-2,77 (8H, m), 2,36 (4H, m), 2,00 (2H, m), 1,78 (2H, m), 1,58 (2H, m), MS (ES+) m/e 352 [M+H]<sup>+</sup>.
- 30
- 35

**Ejemplo 121 (procedimiento alternativo 2)****6-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)-N-metilnicotinamida (E121)**

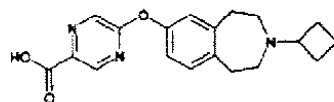
- 5 Una mezcla de *N*-metil-6-(2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-3-benzazepin-7-iloxi)-3-piridincarboxamida (D40) (1,04 g, 3,5 mmol) en diclorometano (12 ml) que contiene ácido acético (240  $\mu$ l) a 0°C se trató gota a gota con ciclobutanona (400  $\mu$ l, 5,3 mmol) y después se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla entonces se enfrió hasta 0°C y se trató de forma discontinua con triacetoxiborohidruro de sodio (1,11 g, 5,3 mmol) y se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La disolución se basificó cuidadosamente con hidróxido de sodio 2 N, se agitó durante 30 minutos,
- 10 y después se extrajo con diclorometano. Los extractos reunidos se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de sodio anhidro y se concentraron al vacío. El material bruto se purificó mediante una cromatografía en columna, eluyendo con diclorometano, y después con una mezcla de amoníaco 0,880:metanol:diclorometano (1:9:90) para producir el compuesto del título (E121), MS (ES+) m/e 352 [M+H]<sup>+</sup>.

**Ejemplo de referencia 122**

- 15 **Éster metílico del ácido 5-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)pirazin-2-carboxílico (E122)**

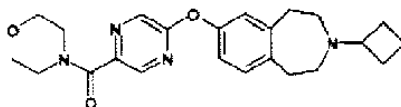


- 20 Se añadió hidruro de sodio (dispersión al 60% en aceite mineral, 332 mg, 8,3 mmol) a una disolución agitada de 3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-ol (E3) (1,64 g, 7,5 mmol) en dimetilformamida (4 ml). Después de 0,5 horas, se añadió una disolución del éster metílico del ácido 5-cloropirazin-2-carboxílico (1,95 g, 11,3 mmol) en dimetilformamida (8 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se diluyó con diclorometano, y la capa orgánica se lavó con agua, salmuera, y se secó sobre sulfato de magnesio. La capa orgánica se filtró, se concentró al vacío, y el residuo resultante se purificó mediante
- 25 cromatografía en columna, eluyendo con una mezcla de amoníaco 0,880:etanol:diclorometano (1:9:90) para producir el compuesto del título (E122), MS (ES+) m/e 354 [M+H]<sup>+</sup>.

**Ejemplo de referencia 123a****Ácido 5-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)pirazin-2-carboxílico (E123a)**

- 30 Se disolvió el éster metílico del ácido 5-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)pirazin-2-carboxílico (E122) (880 mg, 2,5 mmol) en una mezcla de etanol (15 ml) e hidróxido de sodio 2 N (4 ml). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 0,5 y después se concentró al vacío para eliminar los disolventes orgánicos. La mezcla de reacción entonces se acidificó hasta pH 5 (ácido clorhídrico 2 N) y los precipitados resultante se filtraron, se lavaron con agua y se secaron al vacío para producir el compuesto del título (E123a), MS (ES+) m/e 340 [M+H]<sup>+</sup>.

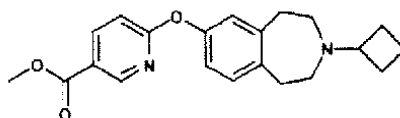
35

**Ejemplo de referencia 123****1-[5-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)pirazin-2-il]-1-morfolin-4-ilmetanona (E123)****Etapas 1: Cloruro de 5-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)pirazin-2-carbonilo**

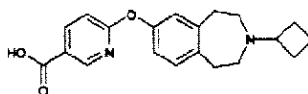
- 5 Se añadió cloruro de tionilo (5 ml) lentamente al ácido 5-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)pirazin-2-carboxílico (E123a) (485 mg). La mezcla de reacción resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora y después se calentó a reflujo durante otra hora más. La mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con tolueno y se concentró al vacío para producir el compuesto del título, que se utilizó sin mayor caracterización.

**Etapas 2: 1-[5-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-iloxi)pirazin-2-il]-1-morfolin-4-ilmetanona**

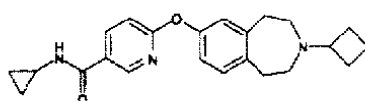
- 10 Se añadió morfolina (0,17 ml, 2,0 mmol) a una disolución agitada del producto de la etapa 1 (394 mg, 1 mmol) y poli(dietilaminometilostireno) (1,88 g, 3,2 mmol/g, 6 mmol) en diclorometano (10 ml). La mezcla resultante se dejó en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas y se filtró. El filtrado se concentró al vacío y el residuo bruto resultante se purificó mediante una cromatografía en columna, eluyendo con una mezcla de amoníaco 0,880:etanol:diclorometano (1:9:90) para producir el compuesto del título (E123), MS (ES+) m/e 409 [M+H]<sup>+</sup>.

**15 Ejemplo de referencia 196a****Éster metílico del ácido 6-[(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepin-7-il)oxi]-3-piridincarboxílico (E196a)**

- 20 El compuesto del título se preparó a partir de 3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-benzo[d]azepin-7-ol (E3) y 6-cloro-3-piridincarboxilato de metilo de una manera análoga a la descrita para E122, MS (ES+) m/e 353 [M+H]<sup>+</sup>.

**Ejemplo de referencia 196b****Ácido 6-[(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepin-7-il)oxi]-3-piridincarboxílico (E196b)**

- 25 El compuesto del título se preparó a partir del ejemplo de referencia 196a (E196a) utilizando un método análogo al descrito para el ejemplo de referencia 123a (E123a), MS (ES+) m/e 339 [M+H]<sup>+</sup>.

**Ejemplo de referencia 196****6-[(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepin-7-il)oxi]-N-ciclopropil-3-piridincarboxamida (E196)**

- 30 Se añadió carbonildiimidazol (142 mg, 0,88 mmol) a una disolución agitada del ácido 6-[(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1H-3-benzazepin-7-il)oxi]-3-piridincarboxílico (E196b) (150 mg, 0,44 mmol) en diclorometano (5 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 3 horas se añadió ciclopropilamina (0,15 ml, 2,2 mmol) y se dejó

la mezcla en agitación durante 18 horas más. La mezcla de reacción se aplicó a un cartucho de intercambio iónico SCX (Varian bond-elute, 10 g) y se lavó con metanol y después con una mezcla de amoníaco 0,880:metanol (1:9). Las fracciones básicas reunidas se concentraron al vacío para producir el compuesto del título (E196), MS (ES+) m/e 378 [M+H]<sup>+</sup>.

## 5 Datos biológicos

Puede prepararse una preparación de membrana que contiene receptores de histamina H3 según el siguiente procedimiento.

### (i) Generación de una línea celular de histamina H3

Se clonó DNA que codifica el gen de histamina H3 humano (Huvar, A. *et al.* (1999), *Mol. Pharmacol.*, **55(6)**, 1101-1107) en un vector soporte, pCDNA3.1 TOPO (InVitrogen) y su cDNA se aisló a partir de este vector mediante digestión de restricción del DNA del plásmido con las enzimas BamH1 y Not-1, y se acopló al vector de expresión inducible pGene (InVitrogen) digerido con las mismas enzimas. El sistema GeneSwitch™ (un sistema en el que la expresión de un transgén se desconecta en ausencia de un inductor y se conecta en presencia de un inductor) se realizó según se describe en las patentes de EEUU nº 5.364.791, 5.874.534 y 5.935.934. El DNA acoplado se transformó en células bacterianas hospedantes de *E. coli* DH5 $\alpha$  competentes y se colocaron en placas en agar Luria Broth (LB) que contenía Zeocin™ (un antibiótico que permite la selección de células que expresan el gen *sh ble*, que está presente en pGene y pSwitch) a 50  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ . Las colonias que contenían el plásmido reacoplado se identificaron mediante análisis de restricción. El DNA para la transfección en células de mamífero se preparó a partir de 250 ml de cultivos de la bacteria hospedante que contenía el plásmido pGeneH3, y se aislaron utilizando un kit de preparación de DNA (Qiagen Midi-Prep) según las directrices de los fabricantes (Qiagen). Células CHO K1 previamente transfectadas con el plásmido regulador pSwitch (InVitrogen) se sembraron a 2 x 10<sup>6</sup> células por matraz T75 en medio completo, que contenía medio Hams F12 (GIBCOBRL, Life Technologies) suplementado con suero bovino fetal dializado al 10% v/v, L-glutamina e higromicina (100  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ ) 24 horas antes de su utilización. El DNA del plásmido se transfectó en las células utilizando Lipofectamine plus, según las directrices del fabricante (InVitrogen). A las 48 horas después de la transfección, las células se colocaron en medio completo suplementado con Zeocin™ 500  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$ .

De 10-14 días después de la selección se añadió mifepristona 10 nM (InVitrogen) al medio de cultivo para inducir la expresión del receptor. A las 18 horas después de la inducción, las células se separaron del matraz utilizando ácido etilendiaminotetraacético (EDTA, 1:5000, InVitrogen), después de varios lavados con disolución salina tamponada con fosfato, pH 7,4, y se resuspendieron en medio de selección que contenía medio esencial mínimo (MEM), sin rojo de fenol, y se suplementó con sales de Earles y clon fetal II al 3% (Hyclone). Se examinaron aproximadamente 1 x 10<sup>7</sup> células para detectar la expresión del receptor mediante tinción con un anticuerpo policlonal de conejo, 4a, producido contra el dominio N-terminal del receptor H3 de histamina, se incubó en hielo durante 60 minutos, seguido de dos lavados en medio de selección. Se detectó el anticuerpo unido al receptor mediante la incubación de las células durante 60 minutos en hielo con un anticuerpo de cabra anticonejo, conjugado con el marcador de fluorescencia Alexa 488 (Molecular Probes). Después de dos lavados más con medio de selección, las células se filtraron a través de un Filcon™ de 50  $\mu\text{m}$  (BD Biosciences) y después se analizaron en un citómetro de flujo FACS Vantage SE equipado con una unidad de depósito de células automática. Las células control eran células no inducidas tratadas de una manera similar. Las células que se tiñeron de modo positivo se seleccionaron como células individuales en placas de 96 pocillos, que contenían medio completo que contenía Zeocin™ 500  $\mu\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$  y se dejaron expandir antes del reanálisis para detectar la expresión del receptor mediante estudios de unión de anticuerpo y ligando. Se seleccionó un clon, 3H3, para la preparación de membranas.

### (ii) Preparación de membranas a partir de células cultivadas

Se realizaron todas las etapas del protocolo a 4°C con reactivos preenfriados. El sedimento celular se resuspendió en 10 volúmenes de tampón A2 que contenía ácido N-2-hidroxietilpiperazin-N'-2-etansulfónico (HEPES) (pH 7,40) suplementado con leupeptina 10<sup>-4</sup> M (acetil-leucil-leucil-arginal, Sigma L2884), bacitracina 25  $\mu\text{g}/\text{ml}$  (Sigma B0125), ácido etilendiaminotetraacético 1 mM (EDTA), fluoruro de fenilmetilsulfonilo 1 mM (PMSF) y pepstatina A 2 x 10<sup>-6</sup> M (Sigma). Las células entonces se homogeneizaron mediante 2 x 15 segundos de golpes en un mezclador Waring de vidrio de 1 litro, seguido de centrifugación a 500 g durante 20 minutos. El sobrenadante entonces se centrifuga a 48.000 g durante 30 minutos. El sedimento se resuspende en 4 volúmenes de tampón A2 mediante la creación de un vórtice durante 5 segundos, seguido de una homogeneización en un homogeneizador Dounce (10-15 golpes). En este punto se toman partes alícuotas de la preparación en tubos de polipropileno y se conservan a -70°C.

Los compuestos de la invención pueden ensayarse para detectar actividad biológica in vitro según los siguientes ensayos.

**(I) Ensayo de unión de histamina H3**

Para cada compuesto ensayado, en una placa de 96 pocillos transparente de paredes blancas, se añade:

5 (a) 10 µl del compuesto de ensayo (o 10 µl de yodofenpropit (un conocido antagonista de histamina H3) a una concentración final de 10 mM) diluido hasta la concentración requerida en DMSO al 10%

10 (b) 10 µl de <sup>125</sup>I-4-[3-(4-yodofenilmetoxi)propil]-1H-imidazolio (yodoproxifan) (Amersham, 1,85 MBq/µl o 50 µCi/ml, actividad específica: aproximadamente 2000 Ci/mmol) diluido hasta 20 pM en tampón de ensayo (tampón Tris(hidroximetil)aminometano (TRIS) 50 mM, pH 7,4, ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) 0,5 mM) para producir una concentración final de 20 pM; y

15 (c) 80 µl de una mezcla de esferas/membranas preparada suspendiendo esferas de ensayo de proximidad de centelleo (SPA) tipo WGA-PVT a 100 mg/ml en tampón de ensayo, seguido de una mezcla con membranas (preparadas según la metodología descrita anteriormente) y diluyendo en tampón de ensayo para producir un volumen final de 80 µl que contiene 7,5 µg de proteínas y 0,25 mg de esferas por pocillo (la mezcla se premezcló a temperatura ambiente durante 60 minutos en un rodillo).

La placa se agita durante 5 minutos y después se deja en reposo a temperatura ambiente durante 3-4 horas antes de realizar la lectura en un contador Wallac Microbeta mediante un protocolo de cuentas de tritio normalizado de 1 minuto. Los datos se analizaron utilizando una ecuación logística de 4 parámetros.

**(II) Ensayo de antagonistas funcionales de histamina H3**

20 Para cada compuesto ensayado, en una placa de 96 pocillos transparente de paredes blancas, se añade:

(a) 10 µl del compuesto de ensayo (o 10 µl de guanosina 5'-trifosfato (GTP) (Sigma) como control no específico) diluido hasta la concentración requerida en tampón de ensayo (ácido N-2-hidroxiethylpiperazin-N'-2-etansulfónico (HEPES) 20 mM + NaCl 100 mM + MgCl<sub>2</sub> 10 mM, pH 7,4, NaOH);

25 (b) 60 µl de una mezcla de esferas/membranas/GDP preparada suspendiendo esferas de ensayo de proximidad de centelleo (SPA) de aglutinina de germen de trigo-poliviniltolueno (WGA-PVT) a 100 mg/ml en tampón de ensayo, seguido de una mezcla con membranas (preparadas según la metodología descrita anteriormente) y diluyendo en tampón de ensayo para producir un volumen final de 60 µl que contiene 10 µg de proteínas y 0,5 mg de esferas por pocillo (la mezcla se premezcló a 4°C durante 30 minutos en un rodillo, y justo antes de la adición a la placa se añade guanosina 5'-difosfato (GDP, Sigma, diluida en tampón de ensayo) a una concentración final de 10 µM).

30 La placa se incuba a temperatura ambiente para equilibrar el antagonista con el receptor/esferas mediante agitación durante 30 minutos, seguido de la adición de:

(c) 10 µl de histamina (Tocris) a una concentración final de 0,3 µM; y

35 (d) 20 µl de la sal de trietilamina de guanosina 5'[γ-<sup>35</sup>S]tiotriofosfato (Amersham, concentración de radiactividad = 37 kBq/µl o 1 mCi/ml, actividad específica: 1160 Ci/mmol) diluida hasta 1,9 nM en tampón de ensayo para producir una concentración final de 0,38 nM.

40 La placa entonces se incuba en un agitador a temperatura ambiente durante 30 minutos, seguido de una centrifugación durante 5 minutos a 1500 rpm. La placa se lee entre 3 y 6 horas después de terminar la centrifugación en un contador Wallac Microbeta mediante un protocolo de cuentas de tritio normalizado de 1 minuto. Los datos se analizaron utilizando una ecuación logística de 4 parámetros. La actividad basal utilizada como mínimo, es decir, histamina, no se añade al pocillo.

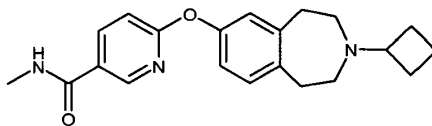
**Resultados**

Los compuestos del ejemplo 121 y del Ejemplo de Referencia 1 se ensayaron en el ensayo de antagonistas funcionales de histamina H3 y mostraron antagonismo en el siguiente intervalo: 9,0-10,5 pK<sub>b</sub>. Aún más en concreto, el compuesto del ejemplo 121 mostró antagonismo > 9,5 pK<sub>b</sub>.

45

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto que es 6-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]azepin-7-iloxi)-*N*-metil-nicotinamida

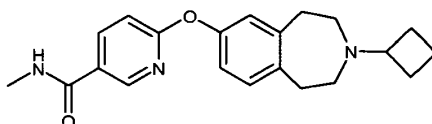


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5 2. Una sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 1, que es una sal de adición de ácido formada a partir de 6-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]azepin-7-iloxi)-*N*-metil-nicotinamida y un ácido.

3. Una sal farmacéuticamente aceptable según la reivindicación 2, en donde el ácido es ácido maleico, clorhídrico, bromhídrico, fosfórico, acético, fumárico, salicílico, sulfúrico, cítrico, láctico, mandélico, tartárico o metanosulfónico.

10 4. Una composición farmacéutica que comprende 6-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]azepin-7-iloxi)-*N*-metil-nicotinamida



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un vehículo o excipiente farmacéuticamente aceptable.

5. Un compuesto según la reivindicación 1 para uso en terapia.

15 6. El uso de 6-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]azepin-7-iloxi)-*N*-metil-nicotinamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para uso en el tratamiento de una enfermedad neurológica o un trastorno psiquiátrico.

20 7. El uso según la reivindicación 6, en donde el medicamento es para uso en el tratamiento de: una enfermedad neurológica que es la enfermedad de Alzheimer, demencia, disfunción de la memoria relacionada con la edad, déficit cognitivo débil, déficit cognitivo, epilepsia, dolor neuropático, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple o apoplejía; o un trastorno psiquiátrico que es el déficit cognitivo de la esquizofrenia, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, depresión, o adicción.

8. El uso según la reivindicación 6, en donde el medicamento es para uso en el tratamiento de déficit cognitivo en una enfermedad.

25 9. El uso según la reivindicación 8, en donde el medicamento es para uso en el tratamiento de déficit cognitivo en la enfermedad de Alzheimer o un trastorno neurodegenerativo relacionado.

10. 6-(3-Ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]azepin-7-iloxi)-*N*-metil-nicotinamida según la reivindicación 2 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para uso como sustancia terapéutica en el tratamiento de una enfermedad neurológica o un trastorno psiquiátrico.

30 11. 6-(3-Ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]azepin-7-iloxi)-*N*-metil-nicotinamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 10, para uso como sustancia terapéutica en el tratamiento de: una enfermedad neurológica que es enfermedad de Alzheimer, demencia, disfunción de la memoria relacionada con la edad, déficit cognitivo débil, déficit cognitivo, epilepsia, dolor neuropático, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple o apoplejía; o un trastorno psiquiátrico que es el déficit cognitivo de la esquizofrenia, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, depresión, o adicción.

35 12. 6-(3-Ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]azepin-7-iloxi)-*N*-metil-nicotinamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo según la reivindicación 10 para uso como sustancia terapéutica en el tratamiento de déficit cognitivo en una enfermedad.

40 13. 6-(3-Ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]azepin-7-iloxi)-*N*-metil-nicotinamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 12, para uso como sustancia terapéutica en el tratamiento de déficit cognitivo en enfermedad de Alzheimer o un trastorno neurodegenerativo relacionado.

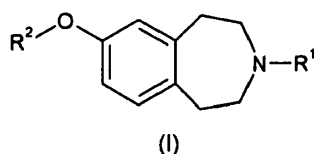


14. 6-(3-Ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]azepin-7-iloxi)-*N*-metil-nicotinamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, según la reivindicación 13, para uso como sustancia terapéutica en el tratamiento de déficit cognitivo en la enfermedad de Alzheimer.

5 15. Una composición farmacéutica para uso en el tratamiento de enfermedades neurológicas que comprende 6-(3-ciclobutil-2,3,4,5-tetrahidro-1*H*-benzo[*d*]azepin-7-iloxi)-*N*-metil-nicotinamida o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

16. Una composición farmacéutica según la reivindicación 15, en donde la enfermedad neurológica es enfermedad de Alzheimer, demencia, disfunción de la memoria relacionada con la edad, déficit cognitivo débil, déficit cognitivo, epilepsia, dolor neuropático, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple o apoplejía.

10 17. Un procedimiento para la preparación de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo:

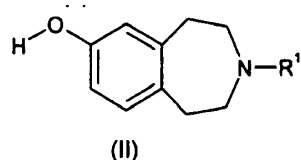


en donde:

R<sup>1</sup> representa ciclobutilo no sustituido; y

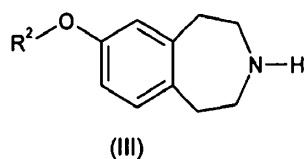
15 R<sup>2</sup> representa 2-piridinilo sustituido con un grupo CON(H)(Me), y representa 4-metilaminocarbonilpiridin-2-ilo; donde dicho procedimiento comprende:

(a) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (II)



20 en la que R<sup>1</sup> es como se definió anteriormente, con un compuesto de fórmula R<sup>2</sup>-L<sup>1</sup>, en la que R<sup>2</sup> es como se definió anteriormente para R<sup>2</sup> o un grupo convertible en éste, y L<sup>1</sup> representa un grupo saliente adecuado; o

(b) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (III)



en la que R<sup>2</sup> es como se definió anteriormente, con un compuesto de fórmula R<sup>1</sup>-L<sup>2</sup>, en la que R<sup>1</sup> es como se definió anteriormente para R<sup>1</sup> o un grupo convertible en éste, y L<sup>2</sup> representa un grupo saliente adecuado; o

25 (c) hacer reaccionar un compuesto de fórmula (III) como se definió anteriormente, con una cetona de fórmula R<sup>1</sup>=O, en la que R<sup>1</sup> es como se definió anteriormente para R<sup>1</sup> o un grupo convertible en éste; o

(d) desproteger un compuesto de fórmula (I) que está protegido.

18. Un procedimiento según la reivindicación 17, en el que

30 en la etapa (a), R<sup>2</sup> es como se definió anteriormente para R<sup>2</sup> y L<sup>1</sup> representa un grupo saliente adecuado que es un átomo de halógeno o un grupo hidroxilo activado; y

en la etapa (b), R<sup>1</sup> es como se definió anteriormente para R<sup>1</sup> y L<sup>2</sup> representa un grupo saliente adecuado que es un átomo de halógeno.