



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 343 348**

② Número de solicitud: 200900225

⑤ Int. Cl.:
C07D 513/04 (2006.01)
A61K 31/433 (2006.01)

⑫

PATENTE DE INVENCION

B1

② Fecha de presentación: **27.01.2009**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **28.07.2010**

Fecha de la concesión: **02.06.2011**

④ Fecha de anuncio de la concesión: **14.06.2011**

④ Fecha de publicación del folleto de la patente:
14.06.2011

⑦ Titular/es: **Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC)** (Titular al 60 %)
c/ Serrano, 117
28006 Madrid, ES
Universidad República de Uruguay (Titular al 40 %)

⑦ Inventor/es:
González Hormaiztegui, María Mercedes;
Campillo Martín, Nuria Eugenia;
Guerra Álvarez, Ángela;
Paez Prosper, Juan Antonio y
Cerecetto Meyer, Hugo

⑦ Agente: **Pons Ariño, Ángel**

⑤ Título: **Una nueva familia de antichagásicos derivados de 2,2-dióxido de imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina.**

⑤ Resumen:

Una nueva familia de antichagásicos derivados de 2,2-dióxido de imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina.

Compuestos derivados de 2,2-dióxidos de imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina, para uso como medicamento o composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades parasitarias, preferiblemente de enfermedades causadas por parásitos del género *Trypanosoma*, y más preferiblemente para el tratamiento de la enfermedad de Chagas. Además, la invención también se refiere a las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos.

ES 2 343 348 B1

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

DESCRIPCIÓN

Una nueva familia de antichagásicos derivados de 2,2-dióxido de imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina.

5 La presente invención se refiere al uso de compuestos derivados de 2,2-dióxidos de imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina con propiedades antichagásicas que modifican, o modulan, la actividad de la cruzipaína, directa o indirectamente, y pueden comportarse como inhibidores de la misma, dependiendo de los sustituyentes del sistema heterocíclico. Por tanto, la invención se engloba dentro del sector farmacéutico.

10 **Estado de la técnica anterior**

La enfermedad de Chagas, también llamada *Tripanosomiasis Americana* es una enfermedad parasitaria causada por un protozoo flagelado llamado *Trypanosoma cruzi*. Este parásito es transmitido a los huéspedes vertebrados por un insecto hematófago, el *Triatoma infestans*, conocido como vinchuca o chinche. La enfermedad de Chagas también puede transmitirse a través de transfusiones de sangre, de madres a hijos durante el embarazo, o con menos frecuencia, a través de transplantes de órganos o alimentos contaminados. El parásito se reproduce en los tejidos internos y causa problemas en el corazón, el esófago, el colon y el sistema nervioso.

20 Esta enfermedad es una endemia parasitaria que afecta a unos 18 millones de personas en Latinoamérica, extendiéndose desde el sur de los Estados Unidos hasta Argentina y Chile. No existe vacuna contra la enfermedad de Chagas y las personas afectadas pueden volverse a infectar después de recibir tratamiento farmacológico.

Los dos únicos medicamentos comercializados hasta el momento para el tratamiento de esta enfermedad son el Nifurtimox® (Nfx; (4-([5-nitrofurfuriliden]-amino)-3-metiltiomorfolina-1,1-dióxido) y el Benznidazol® (Bnz, N-benzil-2-nitro-1-imidazolacetamida), aunque existen problemas de disponibilidad en algunos países sudamericanos. Si bien, tanto el Nfx como el Bnz, vienen siendo usados en el tratamiento de la enfermedad de Chagas desde su introducción en el mercado (en 1965 el Nfx y en 1971 el Bnz), el conocimiento sobre su mecanismo de acción no está completamente esclarecido.

30 Estos medicamentos presentan grandes inconvenientes, ya que si bien resultan efectivos en la forma sanguínea del parásito *T. cruzi*, tienen baja efectividad en la forma intracelular. Asimismo, presentan una elevada toxicidad lo que hace que su utilización sea inadecuada en muchas situaciones como embarazo, insuficiencia hepática y renal. Además, hay que considerar el hecho de la capacidad del parásito a desarrollar resistencia a estos fármacos. Es, por tanto, necesario el desarrollo de nuevos fármacos antichagásicos para el tratamiento de la enfermedad de Chagas.

Existen diferentes estrategias en la búsqueda de nuevos fármacos antichagásicos así como muy diferentes estructuras desde un punto de vista químico que se están estudiando para un mejor tratamiento de la enfermedad de Chagas (Cerecetto, H, González, M. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 2002, 2(11): 1187-1213. Cerecetto H, González M. *Mini Rev. Med. Chem.* 2008, 8(13), 1355-83).

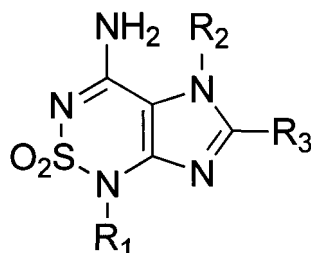
Una de las líneas de investigación en auge surgida como consecuencia de los estudios sobre la bioquímica y metabolismo del *Trypanosoma cruzi* es la que se refiere a los inhibidores de cruzaina. Dicha enzima también conocida como cruzipaína (gp 57/51) es una cisteín-proteasa que es responsable de la actividad proteolítica y, por tanto, sus inhibidores representan una interesante aproximación para el tratamiento de la enfermedad de Chagas (Roush, W. R., Cheng, J., Knapp-Reed, B., Alvarez-Hernandez, A., McKerrow, J. H., Hansell, E. and Engel, J. C. *Bioorg Med Chem Lett.* 2001, 11, 2759-62). Distintas estructuras, tanto de la cruzipaína libre como formando complejos con diferentes inhibidores han sido cristalizadas, lo que ha permitido la determinación de las correspondientes estructuras tridimensionales por rayos X. (Eakin, A. E., McGrath, M. E., McKerrow, J. H., Fletterick, R. J. and Craik, C. S. *J Biol Chem*, 1993, 268, 6115-8; Huang, L., Brinen, L. S. and Ellman, J. A. *Bioorg Med Chem*, 2003, 11, 21-9; McGrath, M. E., Eakin, A. E., Engel, J. C., McKerrow, J. H., Craik, C. S. and Fletterick, R. J., *J Mol Biol*, 1995, 247, 251-9). Los derivados descritos como fármacos antichagásicos son muy variados desde un punto de vista químico e incluyen diversos compuestos heterocíclicos.

55 **Descripción de la invención**

La presente invención proporciona derivados de 2,2-dióxido de imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina con propiedades antichagásicas. Es decir, estos compuestos inhiben el crecimiento de *Trypanosoma cruzi* en forma dosis dependiente con concentraciones inhibitorias (IC₅₀) del orden de 20 micromolar o son capaces de inhibir a la cruzipaína. Sobre estos compuestos se realizaron ensayos *in vitro* donde se estudiaron los efectos de los mismos sobre el crecimiento de la forma epimastigota de la cepa Tulahuen 2 de *Trypanosoma cruzi* (ver ejemplos). Para verificar la selectividad hacia las células del parásito se estudió la citotoxicidad inespecífica de los compuestos más relevantes en células mamíferas, macrófagos murinos J774. Por otra parte, se ensayó la capacidad de esta familia de antichagásicos derivados de 2,2-dióxido de imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina de inhibir *in vitro* a la cruzipaína, una cisteína proteasa que está presente en todos los estadios del parásito.

ES 2 343 348 B1

De esta forma, un primer aspecto de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula general (I) o un isómero, sal farmacéuticamente aceptable y/o solvato del mismo (a partir de ahora compuestos de la invención) para su uso como medicamento o composición farmacéutica,



(I)

donde:

R₁ y R₂, son iguales o distintos, y se seleccionan de la lista que comprende hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo, heterociclo, arilo o aralquilo; y R₃ se selecciona de la lista que comprende, hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo, heterociclo, arilo o aralquilo.

El término “alquilo” se refiere en la presente invención a cadenas alifáticas, lineales o ramificadas, que tienen de 1 a 6 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *terc*-butilo, *sec*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo. Preferiblemente el grupo alquilo tiene entre 1 y 3 átomos de carbono. Los grupos alquilo pueden estar opcionalmente sustituidos por uno o más sustituyentes tales como halógeno, hidroxilo, azida, ácido carboxílico arilo, hidroxilo, amino, amido, éster, carboxílico, éter, tiol, acilamino o carboxamido, que a su vez pueden opcionalmente estar sustituidos.

El término “arilo” se refiere en la presente invención a una cadena carbocíclica aromática, que tiene de 6 a 18 átomos de carbono, pudiendo ser de anillo único ó múltiple, en este último caso con anillos separados y/o condensados. Un ejemplo, no limitante, de arilo es un grupo fenilo, naftilo, indenilo, etc... Preferiblemente el grupo arilo es un fenilo, en donde el grupo fenilo puede contener 1 o más sustituyentes del grupo formado por alquilo, hidroxilo, nitro, amino o halógeno. Preferiblemente un halógeno y más preferiblemente sustituido al menos por un átomo de cloro o flúor.

El término “aralquilo” se refiere, en la presente invención, a una cadena alifática en el que al menos uno de los hidrógenos se ha sustituido por un grupo arilo, con las acepciones anteriores. Como por ejemplo, pero sin limitarse, un grupo bencilo o fenetilo. Estos grupos aralquilo pueden, a su vez, estar opcionalmente sustituidos por un grupo alquilo, hidroxilo, nitro, amino o halógeno. Preferiblemente un halógeno y más preferiblemente sustituido al menos por un átomo de cloro o flúor.

“Cicloalquilo” se refiere a un radical estable monocíclico o bicíclico de 3 a 10 miembros, que está saturado o parcialmente saturado, y que sólo consiste en átomos de carbono e hidrógeno, tal como ciclopentilo, ciclohexilo o adamantilo.

El término “heterociclo” se refiere, en la presente invención, a un radical de cadena carbocíclica y que consiste en átomos de carbono y de al menos un heteroátomo con 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno o azufre. Esta cadena carbocíclica puede estar insaturada, saturada o parcialmente saturada. Cuando la cadena carbocíclica está saturada, el radical se refiere a un grupo cicloalquilo, tal y como se ha definido anteriormente, con al menos un heteroátomo en su cadena seleccionado de entre nitrógeno, oxígeno y/o azufre. Un ejemplo de este tipo de grupos, pero sin limitarse, es el tetrahidrofurilo. Cuando la cadena esta insaturada o parcialmente saturada se denomina heteroarilo.

El término “heteroarilo” se refiere en la presente invención a una cadena carbocíclica aromática, que tiene de 6 a 18 átomos de carbono, pudiendo ser de anillo único ó múltiple, en este último caso con anillos separados y/o condensados, con 1 a 3 heteroátomos seleccionados del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y/o azufre. Un ejemplo, no limitante, de heteroarilo es tienilo, furilo, pirrolidinilo, pirazolinilo, piridinilo, piperidinilo o piperazinilo. El grupo heteroarilo, y el grupo heterociclo en general, puede contener 1 o más sustituyentes del grupo formado por alquilo, hidroxilo, nitro, amino o halógeno. Preferiblemente un nitro o amina sustituida.

En una realización preferida de los compuestos de la invención, R₁ y/o R₂ son hidrógeno, metilo, bencilo o bencilo sustituido, preferiblemente bencilo sustituido por un halógeno, más preferiblemente por un átomo de flúor o de cloro.

En otra realización preferida de los compuestos de la invención, R₃ es un fenilo, fenilo sustituido, cicloalquilo (C₅-C₆), bencilo, bencilo sustituido, fenetilo, fenetilo sustituido, alquilo (C₁-C₃) o un heterociclo. El grupo fenilo bencilo

ES 2 343 348 B1

o fenetilo sustituido, está preferiblemente sustituido por un halógeno, más preferiblemente por un átomo de flúor o de cloro. El heterociclo es preferiblemente piridilo, tienilo, furilo o tetrahydrofurilo.

5 En una realización más preferida del uso de los compuestos de la invención, estos compuestos se seleccionan de la lista que comprende:

- 2,2-dióxido de 4-amino-6-bencil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-(5-nitro-2-furil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
10 2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-piridil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-(2-fluorofenil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
15 2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-tienil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-(4-dimetilaminofenil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclopentil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
20 2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclohexil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-tetrahydrofuril)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
25 2,2-dióxido de 4-amino-6-etil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-fenetil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1-(4-clorobencil)-6-(2-fluorofenil)-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
30 2,2-dióxido de 4-amino-6-fenil-1-metil-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1-metil-6-(3-tienil)-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
35 2,2-dióxido de 4-amino-1,5-dibencil-6-fenilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1,5-dibencil-6-ciclohexilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclohexil-1-(4-clorobencil)-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
40 2,2-dióxido de 4-amino-1,5-bis(4-clorobencil)-6-ciclohexilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1-(4-clorobencil)-6-(2-fluorofenil)-5-(2-naftil)imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
45 2,2-dióxido de 4-amino-6-fenil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-metil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1-bencil-6-fenil-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
50 2,2-dióxido de 4-amino-1-bencil-5-(4-clorobencil)-6-fenilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina ó
2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclohexil-5-(4-clorobencil)-1-bencilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina.

55 Otro aspecto de la presente invención se refiere a los compuestos de la fórmula general (I) para su uso en la elaboración de un medicamento o composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades parasitarias, en general, de enfermedades producidas por parásitos del género *Trypanosoma*, como por ejemplo la enfermedad de Chagas, y en particular, enfermedades asociadas con la actividad de la cruzipaina y/o susceptibles de beneficiarse de las actividades biológicas mostradas por los productos descritos en la presente invención, o bien de una sal, derivado,
60 profármacos o solvato farmacéuticamente aceptables del mismo.

Los compuestos de la presente invención representados por la fórmula (I) pueden incluir isómeros, incluyendo isómeros ópticos o enantiómeros, dependiendo de la presencia de centros quirales. Los isómeros, enantiómeros o diastereoisómeros individuales y las mezclas de los mismos caen dentro del alcance de la presente invención. Los enantió-
65 meros o diastereoisómeros individuales, así como sus mezclas, pueden separarse mediante técnicas convencionales.

Tal como aquí se utiliza, el término “derivado” incluye tanto a compuestos farmacéuticamente aceptables, es decir, derivados del compuesto de fórmula (I) que pueden ser utilizados en la elaboración de un medicamento, como

derivados farmacéuticamente no aceptables ya que éstos pueden ser útiles en la preparación de derivados farmacéuticamente aceptables. La naturaleza del derivado farmacéuticamente aceptable no es crítica, siempre y cuando sea farmacéuticamente aceptable.

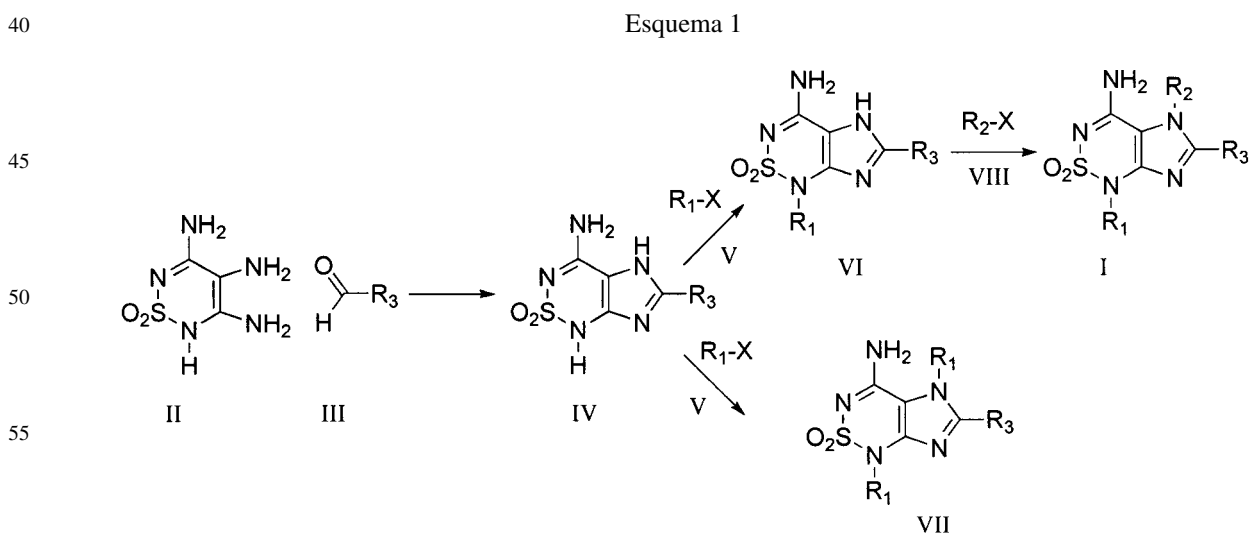
5 Asimismo, dentro del alcance de esta invención se encuentran los profármacos de los compuestos de fórmula (I). El término "profármaco" tal como aquí se utiliza incluye a cualquier compuesto derivado de un compuesto de fórmula (I), por ejemplo, ésteres, incluyendo ésteres de ácidos carboxílicos, ésteres de aminoácidos, ésteres de fosfato, ésteres de sulfonato de sales metálicas, etc., carbamatos, amidas, etc., que, cuando se administra a un individuo es capaz de proporcionar, directa o indirectamente, dicho compuesto de fórmula (I) en dicho individuo. Ventajosamente, dicho derivado es un compuesto que aumenta la biodisponibilidad del compuesto de fórmula (I) cuando se administra a un individuo o que potencia la liberación del compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico. La naturaleza de dicho derivado no es crítica siempre y cuando pueda ser administrado a un individuo y proporcione el compuesto de fórmula (I) en un compartimento biológico de un individuo. La preparación de dicho profármaco puede llevarse a cabo mediante métodos convencionales conocidos por los expertos en la materia.

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

25 Para su aplicación en terapia, los compuestos de fórmula (I), sus isómeros, sales, profármacos o solvatos, se encontrarán, preferentemente, en una forma farmacéuticamente aceptable o sustancialmente pura, es decir, que tiene un nivel de pureza farmacéuticamente aceptable excluyendo los aditivos farmacéuticos normales tales como diluyentes y portadores, y no incluyendo material considerado tóxico a niveles de dosificación normales. Los niveles de pureza para el principio activo son preferiblemente superiores al 50%, más preferiblemente superiores al 70%, más preferiblemente superiores al 90%. En una realización preferida, son superiores al 95% del compuesto de fórmula (I), o de sus sales, solvatos o profármacos.

Los compuestos de la presente invención de fórmula (I) pueden ser obtenidos o producidos mediante una vía sintética química u obtenidos a partir de una materia natural de distinto origen.

35 En una realización preferida de la presente invención el procedimiento de obtención de los compuestos de la invención de fórmula (I) o un isómero, sal farmacéuticamente aceptable y/o solvato del mismo, comprende los siguientes pasos de reacción, según el esquema 1:



La ruta sintética descrita en el esquema 1 comprende diferentes etapas:

65 La preparación de los derivados N-1H, N-5H de fórmula general IV consiste en la reacción del 1,1-dióxido de 3,4,5-triamino-2H-1,2,6-tiadiazina de fórmula (II) con aldehídos de fórmula general (III), donde R₃ está descrito anteriormente.

ES 2 343 348 B1

El 1,1-dióxido de 3,4,5-triamino-2*H*-1,2,6-tiadiazina fue preparado, según un procedimiento descrito en dos etapas de reacción, a partir del 1,1-dióxido de 3,5-diamino-4*H*-1,2,6-tiadiazina (Ochoa, C. and Stud, M., 1978, *J. Heterocycl. Chem.*, 15, 221-224).

5 La preparación de los derivados N-1 sustituidos de fórmula general (VI) consiste en la reacción del 2,2-dióxido de 4-amino-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina de estructura (IV) con haluros de fórmula general (V), en donde R₁ está descrito anteriormente.

10 Finalmente, la preparación de los derivados N-1, N-5 disustituidos puede realizarse mediante dos procedimientos distintos.

El primero consiste en la reacción de los derivados de 2,2-dióxido de 4-amino-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina de fórmula general (IV) con haluros de fórmula general (V), para dar los compuestos de fórmula general (VII), donde R₂ es igual a R₁ en el compuesto de fórmula general (I) y R₁ y R₃ están definidos anteriormente.

15 El segundo procedimiento consiste en la preparación de compuestos de fórmula general (I) a partir de los derivados N-1 sustituidos de fórmula general (VI), por reacción con los correspondientes haluros de fórmula general (VIII), donde R₁, R₂ y R₃ están definidos anteriormente.

20 Otro aspecto más de la presente invención se refiere a una composición farmacéutica útil para el tratamiento de enfermedades parasitarias, en adelante composición farmacéutica de la invención, que comprende un compuesto, en cantidad terapéuticamente efectiva, de fórmula (I), o mezclas de los mismos, una sal, profármaco, solvato o estereoisómero farmacéuticamente aceptable del mismo junto con un portador, adyuvante o vehículo farmacéuticamente aceptable, para la administración a un paciente.

25 Los adyuvantes y vehículos farmacéuticamente aceptables que pueden ser utilizados en dichas composiciones son los adyuvantes y vehículos conocidos por los técnicos en la materia y utilizados habitualmente en la elaboración de composiciones terapéuticas.

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

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

40 En otra realización particular, dicha composición terapéutica se prepara en forma de una forma sólida o suspensión acuosa, en un diluyente farmacéuticamente aceptable. La composición terapéutica proporcionada por esta invención puede ser administrada por cualquier vía de administración apropiada, para lo cual dicha composición se formulará en la forma farmacéutica adecuada a la vía de administración elegida. En una realización particular, la administración de la composición terapéutica proporcionada por esta invención se efectúa por vía oral, tópica, rectal o parenteral (incluyendo subcutánea, intraperitoneal, intradérmica, intramuscular, intravenosa, etc.).

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

Otro aspecto más de la presente invención se refiere a los compuestos de fórmula:

55 2,2-dióxido de 4-amino-6-bencil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-(2-fluorofenil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-tienil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

60 2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-piridil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-(4-dimetilaminofenil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

65 2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclopentil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclohexil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

ES 2 343 348 B1

- 2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-tetrahidrofuril)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-etil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
5 2,2-dióxido de 4-amino-6-fenetil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1-(4-clorobencil)-6-(2-fluorofenil)-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-fenil-1-metil-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
10 2,2-dióxido de 4-amino-1-metil-6-(3-tienil)-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1,5-dibencil-6-fenilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1,5-dibencil-6-ciclohexilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
15 2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclohexil-1-(4-clorobencil)-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina
2,2-dióxido de 4-amino-1,5-bis(4-clorobencil)-6-ciclohexilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
20 2,2-dióxido de 4-amino-1-bencil-5-(4-clorobencil)-6-fenilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina ó
2,2-dióxido de 4-amino-1-bencil-6-ciclohexil-5-(4-clorobencil)imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina.

A lo largo de la descripción y las reivindicaciones la palabra “comprende” y sus variantes no pretenden excluir otras características técnicas, aditivos, componentes o pasos. Para los expertos en la materia, otros objetos, ventajas y características de la invención se desprenderán en parte de la descripción y en parte de la práctica de la invención. Los siguientes ejemplos y figuras se proporcionan a modo de ilustración, y no se pretende que sean limitativos de la presente invención.

30 Ejemplos

A continuación se ilustrará la invención mediante unos ensayos realizados por los inventores, que pone de manifiesto la especificidad y efectividad de los compuestos de la invención.

35 Ejemplo 1

*Procedimiento general de obtención de 2,2-dióxidos de 4-amino-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina*

A una suspensión de 1,1-dióxido de 3,4,5-triamino-2*H*-1,2,6-tiadiazina en agua ligeramente ácida (HAc glacial) se adicionó, bajo agitación y en pequeñas fracciones, el aldehído correspondiente. Transcurrido el tiempo de reacción, el sólido formado se filtró a vacío, se lavó con el disolvente apropiado y se purificó por recristalización. Los tiempos de reacción, así como las condiciones y tratamientos específicos se describen a nivel individual para cada compuesto.

Ejemplo 1a

*Preparación y obtención de 2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclohexil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina*

A partir de 1,500 g (8,5 mmol) de 1,1-dióxido de 3,4,5-triamino-2*H*-1,2,6-tiadiazina, 3,2 ml (25,5 mmol) de ciclohexanocarboxaldehído, 30 ml de H₂O y 4 ml de ácido acético glacial. Tiempo de Reacción: 24 h. Lavado con EtOH. Recristalizado de EtOH/H₂O Rendimiento: 1,047 g (46%) P.f. = 263 - 265°C. ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 11,82, 11,00 (sa, 2H, NH); 7,42 (sa, 2H, NH₂); 2,67 (sa, 1H, 1'-H); 1,94-1,18 (m, 10H, 2'-H/3'-H/4'-H). ¹³C-RMN (100 MHz, DMSO-d₆) δ: 155,8 (C-4); 152,9 (C-7a); 150,4 (C-6); 101,2 (C-4a); 37,2 (C-1'); 30,9 (2C, C-2'); 25,4, 25,2 (3C, C-3'/C-4'). Anal. (C₁₀H₁₅N₅O₂S) % teórico (% experimental) C: 44,60 (44,33); H: 5,61 (5,54); N: 26,00 (26,24); S: 11,91 (11,82). EM (ES⁺) m/z (int. rel.): 270 (100%) [M+H], HPLC: MeCN/H₂O 5:95, t.r. 5,80 min., 97%.

55 Ejemplo 1b

*Preparación y obtención de 2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-tetrahidrofuril)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina*

A partir de 0,300 g (1,69 mmol) de 1,1-dióxido de 3,4,5-triamino-2*H*-1,2,6-tiadiazina, 0,49 ml (2,54 mmol) de tetrahidrofuran-3-carboxaldehído, 30 ml de H₂O y 2 ml de ácido acético glacial. Transcurrido el tiempo de reacción la mezcla se llevó a sequedad y el sólido obtenido se lavó con hexano y se filtró a vacío. Tiempo de Reacción: 48 h. Lavado con Hexano. Recristalizado de EtOH. Rendimiento: 0,181 g (41,2%) P.f. = 238 - 240°C. ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 11,97, 11,00 (sa, 2H, NH); 7,63 - 7,22 (sa, 2H, NH₂); 3,98 - 3,74 (m, 4H, 2'-H/4'-H); 3,54 - 3,45 (sa, 1H, 1'-H); 2,30 - 2,23 (m, 1H, 5_a'-H); 2,12 - 2,05 (m, 1H, 5_b'-H). ¹³C-RMN (125 MHz, DMSO-d₆) δ: 152,9 (2C, C-4/C-7a); 150,3 (C-6); 101,9 (C-4a); 71,2 (C-2'); 67,4 (C-4'); 38,3 (C-1'); 31,3 (C-5'). Anal. (C₈H₁₁N₅O₃S) % teórico (% experimental) C: 37,35 (37,24); H: 4,31 (4,29); N: 27,22 (27,05); S: 12,46 (12,21). EM (ES⁺) m/z (int. rel.): 258 (100%) [M+H], HPLC: MeCN/H₂O 5:95, t.r. 1,20/1,63 min. (1,6: 1), 100% pureza; MeCN/H₂O 1:99, t.r. 1,23/2,42 min. (1,6: 1), 100%.

ES 2 343 348 B1

Ejemplo 1c

Preparación y obtención de 2,2-dióxido de 4-amino-6-fenetil-1H,5H-imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina

5 A partir de 0,300 g (1,69 mmol) de 1,1-dióxido de 3,4,5-triamino-2H-1,2,6-tiadiazina, 0,34 ml (2,54 mmol) de 3-fenilpropionaldeído, 12 ml de H₂O y 2 ml de ácido acético glacial. Transcurrido el tiempo de reacción se filtró a vacío el bruto de reacción y se lavó con hexano. Tiempo de Reacción: 24 h. Lavado con Hexano. Recristalizado de EtOH/H₂O. Rendimiento: 0,369 g (74,9%) P.f. = 190 - 192°C. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ: 12,09, 11,96, 11,03 (sa, 2H, NH); 7,81, 7,66 (sa, 2H, NH₂); 7,27 - 7,17 (m, 5H, Ph); 2,99, 2,96 (2s, 4H, CH₂CH₂). ¹³C-RMN (125 MHz, DMSO-d₆) δ: 154,2 (C-7a); 152,7 (C-4); 150,5 (C-6); 140,5 (C-1'); 128,5 (2C, C-3'); 128,3 (2C, C-2'); 126,2 (C-4'); 101,5 (C-4a); 32,9 (CH₂CH₂Ph); 29,9 (CH₂CH₂Ph). Anal. (C₁₂H₁₃N₅O₂S) % teórico (% experimental) C: 49,47 (49,38); H: 4,50 (4,38); N: 24,04 (23,89); S: 11,01 (10,85). EM (ES⁺) m/z (int. rel.): 292 (100%) [M+H], HPLC: MeCN/H₂O 5:95, t.r. 6,72 min., 98%.

15 Ejemplo 2

Procedimiento general de obtención de 2,2-dióxidos de 4-amino-5H-imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina N-1 sustituidos

Una suspensión del N(H) derivado en acetona y en presencia de trietilamina o carbonato potásico se calentó bajo agitación y una vez alcanzado el reflujo se añadió una cantidad catalítica de yoduro potásico y el agente alquilante correspondiente. Tras observarse la completa desaparición del N(H) derivado de partida, se eliminó el disolvente a vacío y la mezcla obtenida se trató en cada caso para su purificación. Las condiciones, disolventes y medios específicos son detallados a nivel individual para cada compuesto.

25 Ejemplo 2a

Preparación y obtención de 2,2-dióxido de 4-amino-1-(4-clorobencil)-6-(2-fluorofenil)-5H-imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina

30 A partir de 0,500 g (1,78 mmol) de 2,2-dióxido de 4-amino-6-(2-fluorofenil)-1H,5H-imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina 1H,5H, 0,740 g (3,56 mmol) de bromuro de bencilo, 100 ml de acetona y 1 ml (7,12 mmol) de trietilamina. Transcurrido el tiempo de reacción, se eliminó el disolvente a vacío y la mezcla obtenida se recristalizó con una mezcla acetona/H₂O. Tiempo de Reacción: 5 días. Recristalizado de mezcla: acetona/H₂O. Rendimiento: 0,158 g (39%) P.f. = 304 - 305°C. ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 12,47 (sa, 1H, NH); 8,21, 7,96 (sa, 2H, NH₂); 8,10 (t, 1H, 6'-H, J = 7,0); 7,58 - 7,37 (m, o-FPh/p-CIPh); 5,02 (s, 2H, CH₂). ¹³C-RMN (125 MHz, DMSO-d₆) δ: 159,1 (d, C-2, J = 250,0); 152,4 (C-4); 150,7 (C-7a); 143,4 (C-6); 136,5 (C-1''); 132,4 (d, C-4', J = 8,2); 132,0 (C-4''); 129,8 (2C, C-2'' ó C-3'') 129,8 (d, C-6', J = 6,4); 128,2 (2C, C-2'' ó C-3''); 125,4 (C-5'); 116,5 (d, C-3', J = 22,0); 116,2 (d, C-1', J = 11,9); 103,7 (C-4a). Anal. (C₁₇H₁₃ClFN₅O₂S₂) % teórico (% experimental) C: 50,31 (50,30); H: 3,23 (3,35); N: 17,26 (17,05); S: 7,90 (7,65). EM (ES⁺) m/z (int. rel.): 354 (100%) [M+H], HPLC: MeCN/H₂O 5:95, t.r. 13,90 min., 100%.

40 Ejemplo 2b

Preparación y obtención de 2,2-dióxido de 4-amino-1-metil-6-(3-tienil)-5H-imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina

45 A partir de 0,300 g (1,11 mmol) de 2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-tienil)-5H-imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina, 0,7 ml (11,1 mmol) de yoduro de metilo, 40 ml de acetona y 0,30 ml (2,22 mmol) de trietilamina. Transcurrido el tiempo de reacción se eliminó el disolvente a vacío y se añadió H₂O ácida. El precipitado obtenido se filtró a vacío y se purificó por cromatografía en columna empleando como eluyente CH₂Cl₂:MeOH (100:1). Tiempo de Reacción: 4 días. Rendimiento: 0,197 g (63%). P.f. = 305 - 308°C. ¹H-RMN (400 MHz; DMSO-d₆) δ: 13,04 (sa, 1H, NH); 8,00 - 7,20 (sa, 2H, NH₂); 8,04 (dd, 2'-H, J_{2'-H,5'-H} = 1,2/J_{2'-H,4'-H} = 2,9); 7,70 (dd, 4'-H, J_{2'-H,4'-H} = 2,9/J_{4'-H,5'-H} = 5,0); 7,55 (dd, 5'-H, J_{2'-H,5'-H} = 1,2/J_{4'-H,5'-H} = 5,0). ¹³C-RMN (100 MHz; DMSO-d₆) δ: 153,7 (C-4); 149,4 (C-7a); 143,9 (C-6); 131,0 (C-1'); 128,6 (C-4'); 125,7 (C-5'); 125,5 (C-2'); 104,2 (C-4a). Anal. (C₉H₉N₅O₂S₂) % teórico (% experimental) C: 38,15 (38,39); H: 3,20 (2,90); N: 24,72 (25,28); S: 22,63 (23,02). EM (ES⁺) m/z (int. rel.): 284 (100%) [M+H], HPLC: MeCN/H₂O 5:95, t.r. 9,42 min., 100%.

55 Ejemplo 3

Preparación de 2,2-dióxidos de 4-aminoimidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina sustituidos en N-1 y N-5

60 Método A

A partir de 2,2-dióxidos de 4-amino-1H,5H-imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina

65 Una suspensión del N(H) derivado en acetona y carbonato potásico se calentó bajo agitación y una vez alcanzado el reflujo se añadió una cantidad catalítica de yoduro potásico y el haluro de alquilo correspondiente. Tras observarse la completa desaparición del N(H) derivado de partida, se eliminó el disolvente a vacío. Una vez eliminadas las sales en medio acuoso ácido, el bruto de reacción fue purificado por cromatografía de columna. Obtención de mezcla de productos mono N1-R y disustituidos N1-R/N5-R.

ES 2 343 348 B1

Ejemplo 3a

Preparación y obtención de 2,2-dióxido de 4-amino-1,5-dibencil-6-fenilimidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina

- 5 A partir de 0,600 g (2,28 mmol) de 2,2-dióxido de 4-amino-6-fenil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina, 0,98 ml (7,98 mmol) de bromuro de bencilo, 50 ml de acetona y 0,398 g (2,85 mmol) de carbonato potásico. El bruto obtenido se purificó por cromatografía en columna compactada CH₂Cl₂ y empleando como eluyente la mezcla CH₂Cl₂:MeOH (100:1). Tiempo de Reacción: 5 días. Rendimiento: 0.075 g (8%).
- 10 P.f. = 238 - 240°C. ¹H-RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ: 8,0 - 7,0 (sa, 2H, NH₂); 7,63 - 7,60 (m, 2H, Ph); 7,54 - 7,50 (m, 3H, Ph); 7,39 - 7,20 (m, 10H, N1-Bn/N5-Bn); 5,53 (s, 2H, N5-CH₂Ph); 5,02 (s, 2H, N1-CH₂Ph). ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃) δ: 153,7 (C-4); 152,8 (C-7a); 152,1 (C-6); 137,4 (C-1'' ó C-1'''); 136,2 (C-1'' ó C-1'''); 130,9 (C-1'); 129,6, 129,2, 129,1, 128,5, 128,4, 128,2, 127,9, 127,5 (11C, Ph/N1-Bn/N5-Bn); 125,9 (C-2'); 105,0 (C-4a). Anal. (C₂₄H₂₁N₅O₂S) % teórico (% experimental) C: 64,99 (64,79); H: 4,77 (4,56); N: 15,79 (15,61); S: 7,23 (6,98). EM (ES⁺) m/z (int. rel.): 444 (100%) [M+H], HPLC: MeCN/H₂O 20:80, t.r. 12,63 min., 100%.
- 15

Método B

A partir de 2,2-dióxidos de 4-amino-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina N-1 sustituidos

- 20 Una suspensión del N(H) derivado en acetona y en presencia de carbonato potásico se calentó bajo agitación y una vez alcanzado el reflujo se añadió una cantidad catalítica de yoduro potásico y el agente alquilante correspondiente. Tras observarse la completa desaparición del N(H) derivado de partida, se eliminó el disolvente a vacío y la mezcla obtenida se trató en cada caso para su purificación. Las condiciones, disolventes y medios específicos son detallados a nivel individual para cada compuesto.
- 25

Ejemplo 3b

- 30 Preparación y obtención de 2,2-dióxido de 4-amino-1-bencil-5-(4-clorobencil)-6-fenilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina

- 35 A partir de 0,200 g (0,57 mmol) de 2,2-dióxido de 4-amino-1-bencil-6-fenil-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina, 0,191 g (1,13 mmol) de bromuro de *p*-clorobencilo, 40 ml de acetona y 0,157 g (1,13 mmol) de carbonato potásico. El producto se purificó por cromatografía en columna compactada CH₂Cl₂ y empleando como eluyente la mezcla CH₂Cl₂:MeOH (200:1). Tiempo de Reacción: 5 días. Rendimiento: 0.035 g (13%).

- 40 P.f. = 245 - 247°C. ¹H-RMN (500 MHz, CDCl₃) δ: 7,63 - 7,18 (m, 14H_{arom}); 5,24 (s, 2H, N1-CH₂Ph); 4,90 (s, 2H, N5-CH₂-(*p*-ClPh)). ¹³C-RMN (125 MHz, CDCl₃) δ: 154,3 (C-4); 153,5 (C-7a); 152,0 (C-6); 136,6 (C-1'' ó C-1'''); 135,5 (C-1'' ó C-1'''); 133,5 (C-4'''); 131,2 (C-1'); 130,6 (2C_{arom}); 129,1 (2C_{arom}), 129,0 (2C_{arom}), 129,0 (2C_{arom}), 128,4 (2C_{arom}), 127,7 (2C_{arom}), 126,8 (2C_{arom}); 105,4 (C-4a); 49,6 (CH₂Ph); 47,8 (CH₂-(*p*-ClPh)). Anal. (C₂₄H₂₁N₅O₂S) % teórico (% experimental) C: 60,31 (); H: 4,22 (); N: 14,65 (); S: 6,71 (). EM (ES⁺) m/z (int. rel.): 478 (100%) [M+H], HPLC: MeCN/H₂O 20:80, t.r. 13,58 min., 94%.

Ejemplo 4

- 50 Los estudios de la actividad antichagásica fueron realizados *in vitro* contra *Trypanosoma cruzi*, sobre la forma epimastigota de las cepas Tulahuen 2, (de la colección de cepas del Laboratorio de Físicoquímica Biológica, del Instituto de Química Biológica de la Facultad de Ciencias, Universidad de la República Oriental del Uruguay, Uruguay). Dichas cepas se cultivaron a 28°C en un medio axénico (BHI-triptosa), complementado con 5% de suero fetal bovino. Se partió de células de un cultivo de 5-7 días (fase exponencial) que se inocularon con 50 mL de medio de cultivo fresco dando una concentración inicial de 1x10⁶ células/mL. El crecimiento del parásito fue seguido durante 11 días por medidas de absorbancia del cultivo a 600 nm, proporcional al número de células presentes.

- 55 Previo a la inoculación, se incorporó al medio una cantidad preestablecida de cada compuesto de la invención a ensayar, disuelto en DMSO (dimetilsulfóxido). La concentración final de DMSO en el medio de cultivo nunca excedió el 0.4%, utilizando un blanco (ausencia de producto o compuesto de la invención) con 0.4% de DMSO. Los compuestos se incorporaron al medio de cultivo a una concentración final de 25 μM y para aquellos que resultaron más activos se disminuyó la dosis progresivamente hasta 1 nM. El porcentaje de inhibición (PI) de crecimiento del parásito se evaluó en comparación con el blanco, utilizando Nfx (Nifurtimox) como fármaco de referencia tripanosomicida. El PI de crecimiento se calculó de la siguiente manera:
- 60

$$PI = \{1 - [(A_p - A_{op}) / (A_c - A_{oc})]\} \times 100$$

- 65 donde:

A_p=A_{600 nm} del cultivo conteniendo el producto en el día 5.

ES 2 343 348 B1

$A_{op}=A_{600\text{ nm}}$ del cultivo conteniendo el producto justo después de la adición al cultivo (día 0).

$A_c=A_{600\text{ nm}}$ del blanco en el día 5.

5 $A_{oc}=A_{600\text{ nm}}$ del blanco al día 0.

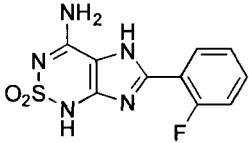
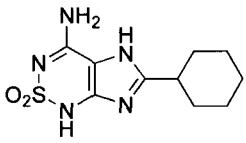
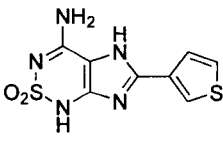
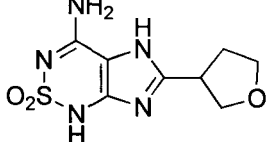
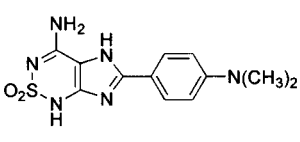
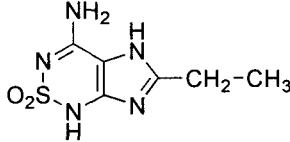
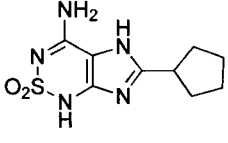
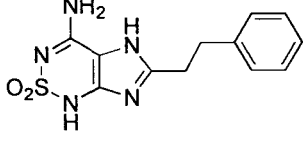
La $A_{600\text{ nm}}$ tomada al día 5 corresponde a la fase exponencial tardía en la curva de crecimiento del cultivo.

10 La determinación de la IC_{50} (concentración inhibitoria del 50%) se realizó siguiendo el crecimiento del parásito en ausencia (control) y presencia de concentraciones crecientes de los correspondientes productos. Se midió la absorbancia al día 5 y se relacionó con el control. La IC_{50} (concentración inhibitoria 50) se define como la concentración de producto requerida para dar un PI del 50%, cuanto más bajo es este valor, mayor es la potencia de los compuestos.

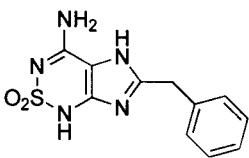
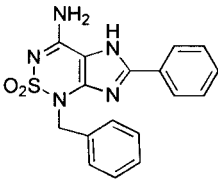
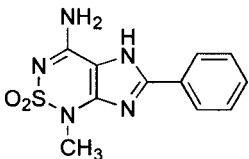
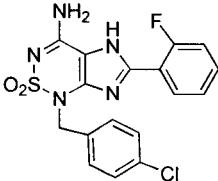
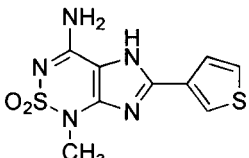
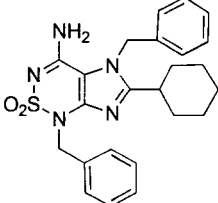
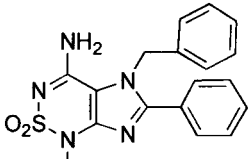
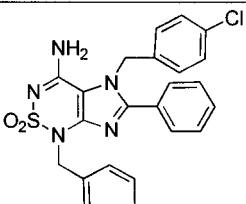
15 En la Tabla 1 se presentan, como ejemplos, los datos de IC_{50} de algunos de los derivados de 2,2-dióxido de imidazo[4,5-c][1,2,6]tiadiazina reivindicados en la presente invención. Se incluye el Nifurtimox y el Benznidazol como fármacos de referencia. Los compuestos presentan una excelente actividad tripanosomicida *in vitro*. Siendo la potencia, en algunos casos, superior a la de los fármacos de referencia.

TABLA 1

Estructuras y Actividad Anti-T. cruzi de la forma epimastigota de la cepa Tulahuen 2

Compuestos	IC_{50} (μM)	Compuestos	IC_{50} (μM)
Nifurtimox	7.7	Benznidazol	7.4
	20.2		12.7
	22.2		20.3
	28.5		28.5
	28.9		11.5

ES 2 343 348 B1

5		16.2		29.5
10		16.7		7.0
15		26.2		28.7
20		4.5		10.0
25				
30				
35				

^a El ensayo se lleva a cabo por duplicado con un error de $\pm 3\%$.

40

La citotoxicidad inespecífica frente a macrófagos murinos J774 se ensayó en los productos que presentaron un porcentaje de inhibición del crecimiento, de la forma epimastigota de *T. cruzi* de la cepa Tulahuen 2, mayor al 50% a 25 μM al día 5 del estudio. Para ello, se cultivaron macrófagos murinos en atmósfera de CO_2 al 5% y 95% de aire a 37°C durante 48 horas con los productos a ensayar disueltos en DMSO a tres concentraciones 100, 200 y 400 μM . La viabilidad celular se determinó en base a la conservación de la actividad mitocondrial por el método del MTT/formazan. En este ensayo se incluyeron Nifurtimox, Ketoconazol y Terbinafine como fármacos de referencias. En la tabla 2 se muestran a modo de ejemplo algunos resultados.

50

(Tabla pasa a página siguiente)

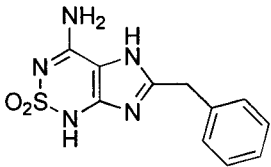
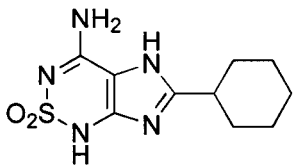
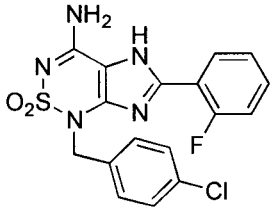
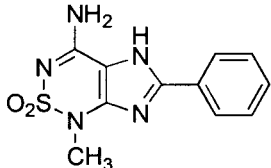
55

60

65

TABLA 2

Evaluación biológica de citotoxicidad inespecífica en macrófagos murinos J774

Compuestos	PC ^a macrófagos J774 (%)			IC ₅₀ (μM) ^c
	100 μM ^b	200 μM ^b	400 μM ^b	
	17.6	24.3	29.4	> 400
	1.4	8.0	11.5	> 400
	100.0	100.0	100.0	< 100
	22.5	77.5	99.0	128.4
Nifurtimox	1.0	13.0	90.0	316.0
Terbinafina	10.0	26.0	60.0	339.0
Ketoconazol	86.0	98.0	87.0	<100

^a Porcentaje de citotoxicidad inespecífica frente a macrófagos murinos J774.

^b Concentración de compuesto ensayado.

^c IC₅₀ concentración de compuesto que reduce el crecimiento de macrófagos en un 50%. Los resultados son el promedio de dos evaluaciones independientes con un error menor al 3%.

Se observa claramente que los derivados reivindicados en la presente invención poseen una selectividad hacia las células del parásito del orden o mejor que los compuestos de referencia.

Por otra parte se determinó la capacidad de inhibir la actividad de la enzima cruzipaína con el fin de estudiar un posible mecanismo de acción de los compuestos más activos. La capacidad de inhibir la enzima cruzipaína se realizó según el protocolo que se detalla a continuación: se incubó cruzipaína (10 μL) con una mezcla de reacción que contenía una concentración final de 50 mM de solución tampón Tris-HCl, pH 7.6, 10 mM β-mercaptoetanol y 25, 50 ó 100 μM del inhibidor durante 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se agregó el sustrato cromogénico Bz-Pro-Phe-Arg-p-NA, a una concentración final de 150 μM, y se siguió el incremento de absorbancia a 410 nm por

ES 2 343 348 B1

5 min a temperatura en un espectrofotómetro Beckman DU 650. Los inhibidores se adicionaron disueltos en DMSO y los controles (100% de actividad enzimática) contenían la misma concentración de disolvente. El volumen final del ensayo es 100 μL . Los valores representaron al menos tres ensayos independientes. A modo de ejemplo se muestran los datos obtenidos para algunos de los derivados en la tabla 3.

5

TABLA 3

Resultados de inhibición de cruzipaina

10

15

20

25

30

35

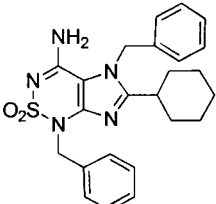
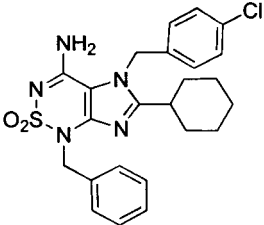
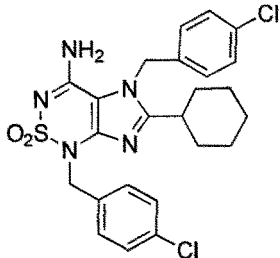
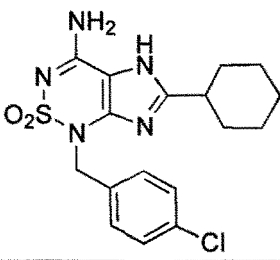
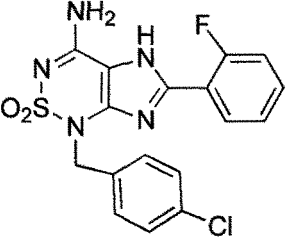
40

45

50

55

60

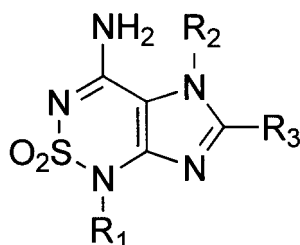
Compuestos	% Inhibición CP		
	25 μM	50 μM	100 μM
	0	30	58
	10	39	40
	nd	nd	31
	0	7	28
	7	30	30

65

De este estudio se demuestra que uno de las posibles mecanismos de acción a través del cual actúan los compuestos de la invención como antichagásicos sea la inhibición de la enzima cruzipaina ya que esta es inhibida en forma dosis dependiente.

REIVINDICACIONES

1. Uso del compuesto de fórmula general (I):



(I)

donde:

R₁ y R₂ son iguales o distintos, y se seleccionan de la lista que comprende hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo, heterociclo, arilo o aralquilo; y

R₃ se seleccionan de la lista que comprende hidrógeno, alquilo (C₁-C₆), cicloalquilo, heterociclo, arilo, o aralquilo, o un isómero, sal farmacéuticamente aceptable y/o solvato del mismo, para la elaboración de una composición farmacéutica.

2. Uso de los compuestos según la reivindicación 1, donde R₁ y/o R₂ se selecciona de entre hidrógeno, alquilo (C₁-C₃) o bencilo.

3. Uso de los compuestos según la reivindicación 2, donde R₁ y/o R₂ son bencilo sustituido por un grupo halógeno.

4. Uso de los compuestos según la reivindicación 1, donde R₃ se selecciona de entre alquilo (C₁-C₃), fenilo, bencilo, fenetilo, cicloalquilo (C₅-C₆) o heterociclo.

5. Uso de los compuestos según la reivindicación 4, donde R₃ es tetrahydrofurilo, piridilo, tienilo o furilo.

6. Uso de los compuestos según la reivindicación 4, donde R₃ es fenilo, bencilo o fenetilo sustituidos por un grupo halógeno.

7. Uso de los compuestos según cualquiera de las reivindicaciones 3 ó 6, donde el grupo halógeno es cloro o flúor.

8. Uso de los compuestos según la reivindicación 1, seleccionados de la lista que comprende los compuestos de fórmula:

2,2-dióxido de 4-amino-6-bencil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-(5-nitro-2-furil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-piridil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-(2-fluorofenil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-tienil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-(4-dimetilaminofenil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclopentil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclohexil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-tetrahydrofuril)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-etil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

ES 2 343 348 B1

2,2-dióxido de 4-amino-6-fenetil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1-(4-clorobencil)-6-(2-fluorofenil)-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
5 2,2-dióxido de 4-amino-6-fenil-1-metil-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1-metil-6-(3-tienil)-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1,5-dibencil-6-fenilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
10 2,2-dióxido de 4-amino-1,5-dibencil-6-ciclohexilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclohexil-1-(4-clorobencil)-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
15 2,2-dióxido de 4-amino-1,5-bis(4-clorobencil)-6-ciclohexilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1-(4-clorobencil)-6-(2-fluorofenil)-5-(2-naftil)imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-fenil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
20 2,2-dióxido de 4-amino-6-metil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-1-bencil-6-fenil-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
25 2,2-dióxido de 4-amino-1-bencil-5-(4-clorobencil)-6-fenilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina ó
2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclohexil-5-(4-clorobencil)-1-bencilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina.

30 9. Uso de los compuestos según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, para la elaboración de una composición farmacéutica para el tratamiento de enfermedades parasitarias.

10. Uso de los compuestos según la reivindicaciones 9, donde la enfermedad parasitaria es causada por parásitos del género *Trypanosoma*.

35 11. Uso de los compuestos según cualquiera de las reivindicaciones 9 o 10, donde la enfermedad parasitaria es la enfermedad de Chagas.

12. Composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula general (I) descrito en las 40 reivindicaciones 1 a 8 además de un vehículo farmacéuticamente aceptable.

13. Composición farmacéutica según la reivindicación 12, que además comprende otro principio activo.

14. Compuesto seleccionado de la lista que comprende los compuestos de fórmula:

45 2,2-dióxido de 4-amino-6-bencil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-(2-fluorofenil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
50 2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-piridil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-tienil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-(4-dimetilaminofenil)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
55 2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclopentil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclohexil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
60 2,2-dióxido de 4-amino-6-(3-tetrahidrofuril)-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-etil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-fenetil-1*H*,5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
65 2,2-dióxido de 4-amino-1-(4-clorobencil)-6-(2-fluorofenil)-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,
2,2-dióxido de 4-amino-6-fenil-1-metil-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

ES 2 343 348 B1

2,2-dióxido de 4-amino-1-metil-6-(3-tienil)-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-1,5-dibencil-6-fenilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

5 2,2-dióxido de 4-amino-1,5-dibencil-6-ciclohexilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclohexil-1-(4-clorobencil)-5*H*-imidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina

10 2,2-dióxido de 4-amino-1,5-bis(4-clorobencil)-6-ciclohexilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina,

2,2-dióxido de 4-amino-1-bencil-5-(4-clorobencil)-6-fenilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina ó

2,2-dióxido de 4-amino-6-ciclohexil-5-(4-clorobencil)-1-bencilimidazo[4,5-*c*][1,2,6]tiadiazina.

15

20

25

30

35

40

45

50

55

60

65



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 343 348

② Nº de solicitud: 200900225

③ Fecha de presentación de la solicitud: 27.01.2009

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ Int. Cl.: **C07D 513/04** (2006.01)
A61K 31/433 (2006.01)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	⑥ Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	MARTINEZ, A. et al. "Imidazothiadiazine Dioxides: Synthesis and Antiviral Activity". Bioorganic & Medicinal Chemistry, 1999, Vol. 7, páginas 1617-1623. Ver página 1617, resumen; página 1618, esquema 1; página 1619, figura 1, compuestos 13 y 16; página 1621, columna 1, párrafo 3.	1,2,4-8, 12-14
X	HERRERO, A. et al. "2,2-Doóxidos de 4-amino-pirazino[2,3-c]-1,2,6-tiadiazina 6,7-diaril sustituidos: una nueva serie de antihelmínticos". Anales de la Real Academia de Farmacia, 1989, Vol. 55, páginas 451-459. Ver página 451, Introducción; página 457, tabla 1, compuestos a, j y k.	1-9,12-13
A	MUELAS, S. et al. "New thiadiazine derivatives with activity against tripanosoma cruzi amastigotes". Folia Parasitologica, 2001, Vol. 48, páginas 105-108. Ver página 105, columna 1.	1-14
A	CORO, J. et al. "Synthesis and antiprotozoan evaluation of new alkyl-linked bis(2-thioxo-[1,3,5]thiadiazinan-3-yl) carboxylic acids". Bioorganic & Medicinal Chemistry, 2005, Vol. 13, páginas 3413-3421. Ver página 3413, resumen.	1-14

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

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

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

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

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

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
18.05.2010

Examinador
N. Martín Laso

Página
1/4

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

C07D, A61K

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

INVENES, EPODOC, WPI, XPESP, NPL, CAS.

Fecha de Realización de la Opinión Escrita: 18.05.2010

Declaración

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	3,10,11	SÍ
	Reivindicaciones	1,2,4-9,12-14	NO
Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986)	Reivindicaciones	10,11	SÍ
	Reivindicaciones	1-9, 12-14	NO

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

Base de la Opinión:

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

1. Documentos considerados:

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

Documento	Número Publicación o Identificación	Fecha Publicación
D01	Bioorganic & Medicinal Chemistry, 1999, Vol. 7, páginas 1617-1623.	1999
D02	Anales de la Real Academia de Farmacia, 1989, Vol. 55, páginas 451-459.	1989

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

La solicitud se refiere a dióxidos de imidazo-tiazinas de fórmula general I, a composiciones farmacéuticas que los contienen y a su uso en el tratamiento de enfermedades parasitarias.

Novedad (Art. 6.1 LP 11/1986):

El documento D01 divulga dióxidos de imidazo-tiazinas acordes con la fórmula I de la solicitud donde R1=H, R2=H y R3=clorofenil (página 1619, figura 1, compuesto 13) ó R1=H, R2=H y R3=2-tienil (página 1619, figura 1, compuesto 16). Divulga igualmente el 2,2 dióxido de 4-amino-6-bencil-1H,5H-imidazo-[4,5-c]-1,2,6-thiazina (página 1618, esquema 1; página 1621, columna 1, párrafo 3). Los dióxidos de imidazo-tiazinas fueron evaluados como agentes antivirales (resumen).

Las características de las reivindicaciones 1,2,4-8 y 12-14 de la solicitud son conocidas del documento D01, por lo tanto dichas reivindicaciones carecen de novedad.

El documento D02 divulga un dióxido de imidazo-tiazina acorde con la fórmula general I de la solicitud donde R1=H, R2=H y R3=5-nitro-2-furil (página 457, tabla 1, compuesto 1c). Divulga igualmente un dióxido de imidazo-tiazina donde R1=bencil, R2=H y R3=clorofenil (página 457, tabla 1, compuesto 1k). Dichos compuestos se sintetizaron para estudiar su actividad como agentes antihelmínticos (página 451, Introducción).

Las características de las reivindicaciones 1,2,4-9,12 y 13 de la solicitud se encuentran recogidas en el documento D02, en consecuencia dichas reivindicaciones carecen de novedad.

Actividad inventiva (Art. 8.1 LP 11/1986):

La reivindicación 3 de la solicitud se refiere al uso en la elaboración de composiciones farmacéuticas de dióxidos de imidazo-tiazinas de fórmula general I donde R1 y/o R2 es un bencilo sustituido por un grupo halógeno.

La diferencia entre lo definido en dicha reivindicación y el documento D01 reside en que en dicho documento se divulgan con fines farmacológicos dióxidos de imidazo-tiazinas en los que el bencilo que constituye el sustituyente R1 no se encuentra sustituido por un grupo halógeno.

Dado que es conocida la actividad farmacológica de compuestos estructuralmente semejantes y no se especifica una aplicación concreta del grupo de compuestos definidos en la reivindicación 3, se considera que es una selección arbitraria entre los distintos compuestos definidos en la reivindicación 1 de la solicitud.

Por lo tanto, la invención definida en la reivindicación 3 de la solicitud carece de actividad inventiva.

Sin embargo, no se han encontrado en el estado de la técnica documentos que, solos o en combinación, divulguen o dirijan al experto en la materia hacia el uso de los dióxidos de imidazo-tiazinas de fórmula general I para el tratamiento de enfermedades causadas por parásitos del género Trypanosoma.

En consecuencia, la invención definida en las reivindicaciones 10 y 11 de la solicitud es nueva y posee actividad inventiva (Art. 6.1 y 8.1 LP 11/1986).