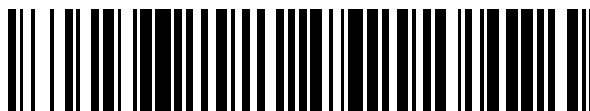


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 432 216**

51 Int. Cl.:

C07D 261/20 (2006.01)

A61K 31/42 (2006.01)

A61P 29/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.07.2010 E 10732689 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2013 EP 2473489**

54 Título: **Derivados de 2-(1,2-Bencisoxazol-3-il)bencilaminas**

30 Prioridad:

07.07.2009 EP 09164724

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

02.12.2013

73 Titular/es:

**MERCK SHARP & DOHME B.V. (100.0%)
Waarderweg 39
2031 BN Haarlem, NL**

72 Inventor/es:

GROVE, SIMON JAMES ANTHONY

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 432 216 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

Derivados de 2-(1,2-Bencisoxazol-3-il) bencilaminas

La presente invención se refiere a derivados de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilaminas, a composiciones farmacéuticas que comprenden los mismos y al uso de estos derivados de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilaminas en el tratamiento del dolor neuropático crónico.

El dolor neuropático, o el dolor espontáneo y la sensibilidad anormal que sigue a una lesión de nervios, normalmente es el resultado de una lesión traumática, una infección o enfermedad, o cirugía, y puede persistir durante un lapso prolongado de tiempo después que ha sanado la lesión inicial. Las opciones de tratamiento actuales son limitadas o inadecuadas para muchas personas.

Los canales de HCN son los sustratos moleculares de las corrientes conocidas como I_h , I_f o I_q . Los canales controlados por nucleótidos cíclicos activados mediante hiperpolarización (HCN), se conocen también como canales marcapasos, identificados en primer lugar como células marcapasos cardíacas (Di Francesco, 1993 Annu Rev Physiol. 55: 455-472), se han encontrado también en una variedad de neuronas periféricas y centrales (por ejemplo, Notomi y Shigemoto 2004 J. Comp. Neurol. 471: 241-276). Estos canales se activan lentamente por hiperpolarización para generar una corriente entrante despolarizante (denominada I_f en células cardíacas e I_h en neuronas) y son permeables a los iones de sodio y potasio. Las cuatro isoformas del canal HCN están presentes en regiones procesadoras del dolor del sistema nervioso incluyendo el tálamo, la amígdala, la médula espinal y las neuronas sensoriales primarias. Es probable que las cuatro subunidades estén presentes en los ganglios de la raíz dorsal (DRG), teniendo HCN1 el nivel de expresión más elevado. Esto es consistente con la cinética de activación de la corriente I_h registrada procedente de DRG (Tu y col., J Neurosci. Res. 2004 76:713-722).

Se ha detectado la corriente I_h en neuronas de muchas regiones del sistema nervioso implicadas en la nocicepción, que incluyen la sustancia gelatinosa de la médula espinal, los ganglios de la raíz dorsal, la amígdala, la corteza cingulada y el tálamo. Las corrientes I_h parecen expresarse de forma preferente por los DRG medios/grandes y pueden estar ausentes de la somata de la mayoría de DRG de tipo C (pequeños) (Scroggs y col., J Neurophysiol. 71: 271-279; Tu y col., J Neurosci. Res. 2004 76:713-722). Además, se ha notificado que la lesión del nervio en ratas (modelo de Chung) aumentó la densidad de la corriente I_h en DRG grandes y produjo potenciales de acción espontáneos impulsados por el marcapasos en el nervio ligado. ZD 7288, un bloqueante del canal I_h , redujo la frecuencia de activación de las descargas ectópicas en las fibras A-beta y A-delta, sin producir el bloqueo de la conducción (Lee y col 2005 J Pain 417-424).

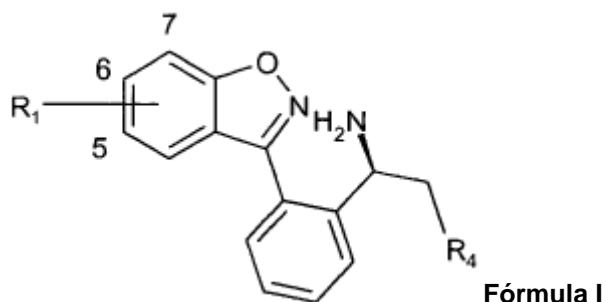
La administración intraperitoneal de un bloqueante de I_h , ZD 7288, en un modelo de dolor neuropático, invierte la alodinia mecánica dependiente de la dosis (Chung/von Frey; Chaplan, y col 2003 J Neurosci. 23: 1169-1178). ZD 7288 suprime también la alodinia en el modelo CFA de rata para el dolor inflamatorio y bloquea el dolor espontáneo en el modelo de lesión térmica moderada en ratas. Otro grupo de investigación ha notificado que la administración local de ZD 7288 en el nervio ciático 4 h después de la cirugía en ratas atenúa la alodinia mecánica en el modelo de Brennan (Dalle y Eisenach 2005 Reg. Anesth. and Pain Med 243-248).

Se ha teorizado que, en las patologías dolorosas crónicas, los nervios aferentes primarios se vuelven hiperexcitables debido a la sensibilización periférica tras la inflamación, y a un cambio en la expresión del canal de iones en el sitio del nervio dañado asociado con neuropatía. La inhibición inducida por ZD 7288 de I_h reduce la actividad espontánea en el DRG mielinizado del nervio lesionado (Yagi y col, 2000 Proc 9^o World Congress on Pain 109-117) reduciendo de esta manera el dolor asociado. Los datos preclínicos actuales indican que los bloqueantes del canal I_h tendrán utilidad en el tratamiento del dolor neuropático crónico.

Se han divulgado los derivados de la 2-(1,2-Bencisoxazol-3-il) bencilamina en las solicitudes de patente internacional WO 97/40027 (Akzo Nobel N.V.) y WO 99/18941 (Akzo Nobel N.V.) como inhibidores del canal I_h , útiles en el tratamiento de trastornos psiquiátricos tales como depresión, ansiedad y psicosis. Aunque estos derivados de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina se han encontrado que eran activos en modelos animales en los que la lesión del nervio periférico produce dolor neuropático (modelo de Chung del dolor neuropático), estos compuestos con elevada penetración en el SNC (sistema nervioso central) producen efectos secundarios tales como ataxia y temblores a dosis similares (múltiplo < 2) a aquellas que son eficaces en roedores.

Sigue habiendo una necesidad de inhibidores del canal de I_h que tengan una actividad preferentemente periférica.

A este fin, la presente invención proporciona derivados 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina que tiene la fórmula I general



en la que

R_1 representa el grupo $CONR_2R_3$ que está presente en una de las posiciones 5, 6 o 7 en el anillo de 1,2-benzisoxazol;

5 R_2 y R_3 son de forma independiente H o alquilo (C_{1-4}); y

R_4 es ciclopropilo, 2-piridilo o fenilo, opcionalmente sustituido con uno o más halógenos; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

10 Se encontró de forma sorprendente que los compuestos de la invención, que difieren en su estructura de los compuestos de la técnica anterior más cercana (documento WO 97/40027) por la presencia del grupo carboxamida $CONR_2R_3$, tenían una penetración restringida del SNC y se encontró que eran eficaces en el modelo del dolor neuropático *in vivo* (Chung) a dosis en las que no se observaron efectos secundarios en el SNC (incluso a un múltiplo de dosis > 5).

15 El término alquilo (C_{1-4}) tal como se usa en la definición de la Fórmula I significa un grupo alquilo ramificado o no ramificado que tiene 1-4 átomos de carbono. De tipo butilo, isobutilo, butilo terciario, propilo, isopropilo, etilo y metilo. Se prefiere metilo.

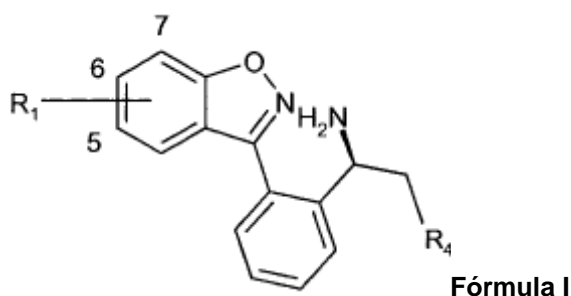
El término halógeno significa F, Cl, Br o I. Un halógeno preferido es F. El término 2-piridilo, tal como se usa en la definición de la Fórmula I significa un anillo de piridina en el que la cadena de alquilo se une al carbono siguiente al nitrógeno.

20 Se prefieren los derivados de 2-(1,2-benzisoxazol-3-il) bencilamina de fórmula I en los que R_1 representa el grupo $CONR_2R_3$ en la posición 6 en el anillo de 1,2-benzisoxazol.

Se prefieren además los compuestos de fórmula I. R_2 y R_3 son ambos metilo o hidrógeno, lo más preferible, R_2 y R_3 son ambos hidrógeno.

Los derivados de 2-(1,2-benzisoxazol-3-il) bencilamina de la invención son enantiómeros individuales que tienen la configuración (S).

25 Una realización de la invención proporciona derivados de 2-(1,2-benzisoxazol-3-il) bencilamina que tienen la fórmula I general



en la que

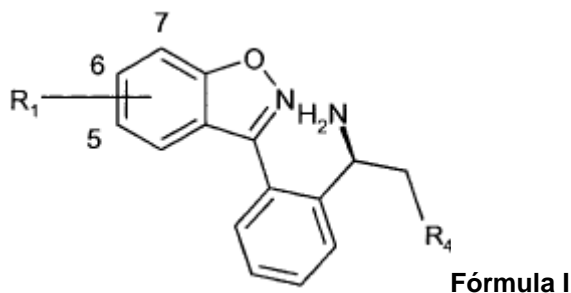
30 R_1 representa el grupo $CONR_2R_3$ que está presente en una de las posiciones 5, 6 o 7 en el anillo 1,2-benzisoxazol;

R_2 y R_3 son de forma independiente H o alquilo (C_{1-4}); y

R_4 es ciclopropilo:

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Otra realización de la invención proporciona derivados de 2-(1,2-benzisoxazol-3-il) bencilamina que tienen la Fórmula I general



en la que

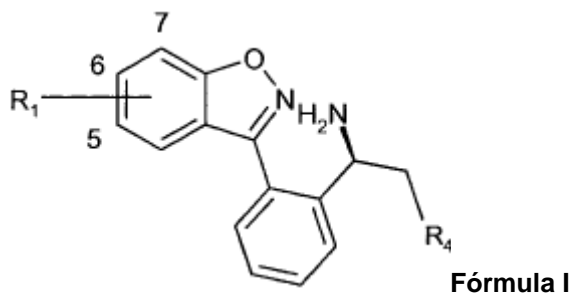
R₁ representa el grupo CONR₂R₃ que está presente en una de las posiciones 5, 6 o 7 en el anillo de 1,2-bencisoxazol;

5 R₂ y R₃ son de forma independiente H o alquilo (C₁₋₄); y

R₄ es 2-piridilo;

o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.

Otra realización adicional de la invención proporciona derivados de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina que tienen la fórmula I general



10

en la que

R₁ representa el grupo CONR₂R₃ que está presente en una de las posiciones 5, 6 o 7 en el anillo de 1,2-bencisoxazol;

R₂ y R₃ son, de forma independiente H o alquilo (C₁₋₄); y

15 R₄ es fenilo, opcionalmente sustituido con uno o más halógenos;

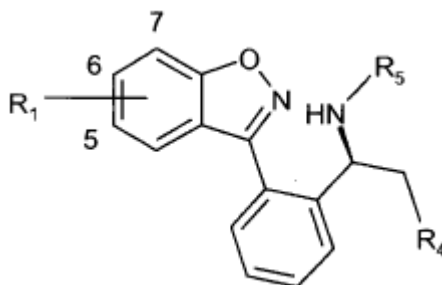
o una de sus sales farmacéuticamente aceptable

Específicamente, se prefiere un derivado de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il)bencilamina, que está seleccionado entre:

- 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida;
- 3-(2-((S)-1-amino-2-feniletíl)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida;
- 20 - 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)-N,N-dimetilbenzo[d] isoxazol-6-carboxamida;
- 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)-N,N-dimetilbenzo[d] isoxazol-7-carboxamida;
- 3-(2-(1-(S)-amino-2-ciclopropiletíl)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida; y
- 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)benzo[d]isoxazol-7-carboxamida;

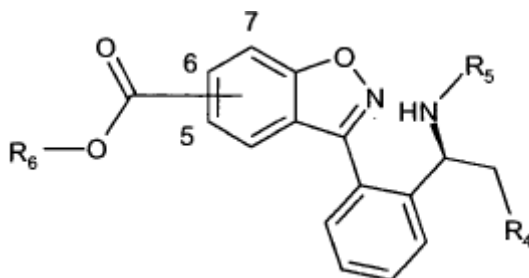
o una de sus sales farmacéuticamente aceptable

25 Los derivados de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina se pueden preparar mediante procedimientos conocidos en la técnica de la química orgánica en general.



Se pueden preparar derivados de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina que tienen la fórmula I general, en la que R₁, R₄ tienen el significado que se ha definido anteriormente, a partir de los compuestos de Fórmula 2 en los que R₅ es un grupo protector tal como un *tert*-butoxicarbonilo (BOC), benciloxycarbonilo (CBZ), tricloroetoxicarbonilo (TROC), (*R*) o (*S*)-*tert*-butilsulfonilo y (*R*)- o (*S*)-*p*-toluensulfonilo. Los expertos en la técnica conocen bien las etapas de desprotección. Se pueden usar los procedimientos descritos en Wuts P. G. M y Greene T. W. 'Protecting Groups in Organic Synthesis' Nueva York, Wiley (2006). Se pueden preparar compuestos de Fórmula 1 a partir de compuestos de Fórmula 2 en la que R₅ es un grupo sulfonilo de fórmula SO₂R₇ en la que R₇ es un grupo alquilo o arilo opcionalmente sustituido tal como un (*R*)- o (*S*)-*tert*-butil sulfonilo o (*R*)- o (*S*)-*p*-toluensulfonilo. Dichos procedimientos incluyen usar un ácido, por ejemplo, ácido clorhídrico en un disolvente alcohólico tal como metanol. Dichos procedimientos están bien descritos en la bibliografía, por ejemplo, los procedimientos descritos en M. Wakayama y J. Ellman J. Org. Chem. 2009, 74, 2646-2650.

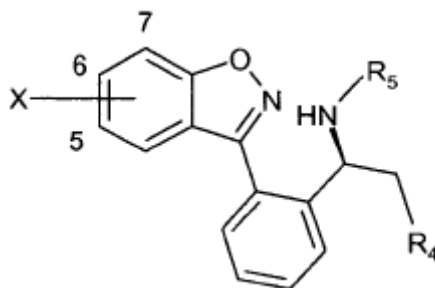
Se pueden preparar compuestos de Fórmula 1 a partir de compuestos de Fórmula 3 en la que R₅ es un átomo de hidrógeno y R₆ es un grupo alquilo que utiliza un reactivo de Fórmula HNR₂R₃, en el que R₂ y R₃ tienen el mismo significado que se ha definido anteriormente. Dichos desplazamientos directos del éster para dar una amida se pueden llevar a cabo a una temperatura elevada o con una catálisis mediante un ácido de Lewis. Los expertos en la técnica conocen bien dichos procedimientos. Se pueden usar los procedimientos descritos en March J. 'Advanced Organic Chemistry' Nueva York, Wiley (2007).



Fórmula 3

Se pueden preparar compuestos de Fórmula 2 en la que R₁ es un grupo amida, en una de las posiciones 5, 6 o 7 de fórmula CONR₂R₃ en el que R₂ y R₃ son, de forma independiente H o alquilo (C₁₋₄), a partir de un compuesto de Fórmula 3 en la que R₆ es un átomo de hidrógeno y un reactivo de amina de fórmula HNR₂R₃ utilizando condiciones de acoplamiento de amida normalizadas tales como la formación de un cloruro ácido utilizando cloruro de tionilo o cloruro de oxalilo o generando una especie de carbonilo activada utilizando un reactivo tal como un 1,1-carbonildiimidazol o dicitohexil-carbodiimida seguido por tratamiento con el reactivo de amina de fórmula HNR₂R₃ en un disolvente tal como una N-metil pirrolidona o diclorometano. Los expertos en la técnica conocen bien dichos procedimientos. Se pueden usar los procedimientos descritos en March J. 'Advanced Organic Chemistry' Nueva York, Wiley (2007).

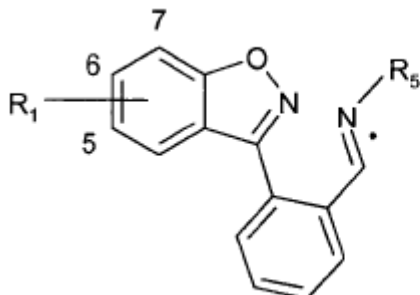
Se pueden preparar compuestos de Fórmula 2 en la que R₁ es un grupo amida, en una de las posiciones 5, 6 o 7, de fórmula CONR₂R₃ a partir de un compuesto de Fórmula 3 en la que R₆ es un grupo alquilo y un reactivo de fórmula HNR₂R₃. Dichos desplazamientos directos del éster para dar una amida pueden llevarse a cabo a temperatura elevada o con una catálisis mediante un ácido de Lewis. Los expertos en la técnica conocen bien dichos procedimientos. Se pueden usar los procedimientos descritos en March J. 'Advanced Organic Chemistry' Nueva York, Wiley (2007)



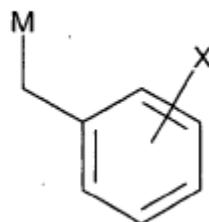
Fórmula 4

Se pueden preparar compuestos de Fórmula 2 en la que R₁ es un grupo amida, en una de las posiciones 5, 6, o 7, de fórmula CONR₂R₃ en la que R₂ y R₃ son de forma independiente H o alquilo (C₁₋₄) a partir de un compuesto de Fórmula 4 en la que X es un átomo de halógeno, preferiblemente bromo o yodo, en una de las posiciones 5, 6 o 7, y R₅ es un grupo protector tal como *tert*-butoxicarbonilo (BOC), benciloxycarbonilo (CBZ), tricloroetoxicarbonilo

(TROC), (R)-o (S)- *tert*-butilsulfinilo y (R)- o (S)-*p*-toluensulfinilo mediante una reacción de carbonilación de amino que utiliza una amina de fórmula HNR_2R_3 en la que R_2 y R_3 son, de forma independiente H o alquilo (C_{1-4}), monóxido de carbono, y un catalizador metálico de transición tal como tetrakis(trifenil-fosfina)paladio (0) o 1,1'-bis(difenilfosfino)ferrocenodichloropaldio (II).

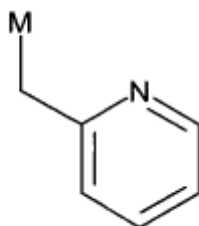


Fórmula 5



Fórmula 6

5 Se pueden preparar compuestos de Fórmula 2 en la que R_1 es un grupo amida, en una de las posiciones 5, 6, o 7, de fórmula CONR_2R_3 en la que uno o ambos de R_2 y R_3 son un átomo de hidrógeno y R_4 es fenilo, opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno, a partir de compuestos de Fórmula 5 en la que R_5 es un auxiliar quiral tal como un grupo sulfinilo enantiómero individual de fórmula SOR_7 en la que R_7 es un grupo alquilo o un grupo arilo opcionalmente sustituido mediante la adición de un reactivo de Fórmula 6 en la que M es una especie metálica tal como un haluro de magnesio o litio y X' es H o uno o más átomos de halógeno. Los compuestos de Fórmula 2 en la que R_4 es fenilo, opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno, se pueden aislar como un diastereómero individual mediante separación del diastereómero deseado del otro diastereómero no deseado mediante cromatografía o cristalización.



Fórmula 7

20 Se pueden preparar compuestos de Fórmula 2 en la que R_1 es un grupo amida, en una de las posiciones 5, 6 o 7, de fórmula CONR_2R_3 siendo uno o ambos de R_2 y R_3 un átomo de hidrógeno y R_4 es 2-piridilo a partir de compuestos de Fórmula 5 en la que R_5 es un auxiliar quiral tal como un grupo (R)- o (S)-sulfinilo de fórmula SOR_7 en la que R_7 es un grupo alquilo o un grupo arilo opcionalmente sustituido mediante la adición de un reactivo de Fórmula 7 en la que M es una especie metálica tal como un haluro de magnesio o de litio. Los compuestos de Fórmula 2 en la que R_4 es 2-piridilo pueden aislarse como un diastereómero individual mediante separación del diastereómero deseado del otro diastereómero no deseado mediante cromatografía o cristalización.

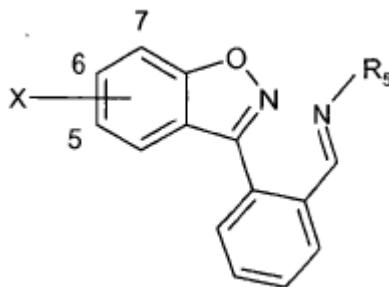
25 Se pueden preparar compuestos de Fórmula 3 en la que R_6 es un átomo de hidrógeno a partir de compuestos de Fórmula 4 en la que X es un átomo de halógeno, preferiblemente bromo o yodo, en una de las posiciones 5, 6, o 7, y R_5 es un grupo protector tal como *tert*-butoxicarbonilo (BOC), benciloxicarbonilo (CBZ), tricloroetoxicarbonilo (TROC), (R)- o (S)-*tert*-butilsulfinilo o (R)- o (S)-*p*-toluensulfinilo metalando un alquilo del reactivo metálico tal como *n*-butil litio en un disolvente tal como dietil éter o tetrahidrofurano a una temperatura menor de 0° C seguido por reacción de las especies metálicas intermedias con dióxido de carbono. Dichas reacciones de intercambio metal-halógeno se pueden llevar a cabo mediante desprotonación inicial del resto NH ácido mediante el uso de una base fuerte tal como hidruro de sodio.

35 Se pueden preparar compuestos de fórmula 3 en la que R_5 es un grupo protector tal como *tert*-butoxicarbonilo (BOC), benciloxicarbonilo (CBZ), tricloroetoxicarbonilo (TROC), (R)- o (S)-*tert*-butilsulfinilo o (R)- o (S)-*p*-toluensulfinilo y R_6 es un átomo de hidrógeno a partir de compuestos de Fórmula 3 en la que R_5 se define como anteriormente y R_6 es un grupo alquilo mediante saponificación utilizando, por ejemplo, una fuente de hidróxido tal como una disolución acuosa de hidróxido de sodio en un disolvente tal como metanol o tetrahidrofurano.

Se pueden preparar compuestos de Fórmula 3 en la que R_6 es un grupo alquilo a partir de un compuesto de Fórmula 4 en la que X es halógeno, preferiblemente bromo o yodo, en una de las posiciones 5, 6, o 7, R_4 es fenilo

opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno o 2-piridilo o ciclopropilo y R_5 es un grupo protector tal como un *tert*-butoxicarbonilo (BOC), benciloxicarbonilo (CBZ), tricloroetoxicarbonilo (TROC), (*R*)- o (*S*)-*tert*-butilsulfinilo y (*R*)- o (*S*)-*p*-toluensulfinilo mediante una reacción de carbonilación de alcoxi utilizando un alcohol de fórmula R_6OH en la que R_6 es un grupo alquilo, monóxido de carbono y un catalizador metálico de transición tal como tetrakis(trifenilfosfina)paladio (0) o 1,1'-bis(difenilfosfino) ferrocenodichloropaladio (II).

Se pueden preparar compuestos de fórmula 3 en la que R_6 es un grupo alquilo y R_5 es un átomo de hidrógeno a partir de compuestos de fórmula 3 en la que R_5 es un grupo protector tal como un *tert*-butoxicarbonilo (BOC), benciloxicarbonilo (CBZ), tricloroetoxicarbonilo (TROC), (*R*)- o (*S*)-*tert*-butilsulfinilo y (*R*)- o (*S*)-*p*-toluensulfinilo. Los expertos en la técnica conocen bien dichas etapas de desprotección. Se pueden usar los procedimientos descritos en Wuts P. G. M y Greene T. W. 'Protecting Groups in Organic Synthesis' Nueva York, Wiley (2006)

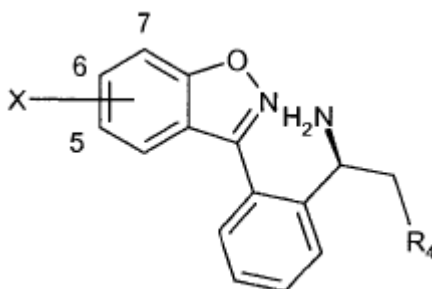


Fórmula 8

Se pueden preparar compuestos de Fórmula 4 en la que x es un halógeno, preferiblemente bromo o yodo, en una de las posiciones 5, 6, o 7, y R_4 es fenilo opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno a partir de compuestos de Fórmula 8, en la que R_5 es un auxiliar quiral tal como un grupo (*R*) o (*S*)-sulfinilo de fórmula SOR_7 en la que R_7 es un alquilo, preferiblemente *t*-butilo, o un grupo arilo opcionalmente sustituido mediante la adición de un reactivo de Fórmula 6 en la que M y X' son como se ha definido anteriormente. Los compuestos de Fórmula 4 en la que R_4 es fenilo opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno y R_5 es un auxiliar quiral tal como un grupo (*R*)- o (*S*)-sulfinilo de Fórmula SOR_7 en la que R_7 es un alquilo, preferiblemente *t*-butilo, o se puede aislar un grupo arilo opcionalmente sustituido como un diastereómero individual mediante separación del diastereómero deseado del otro diastereómero no deseado mediante cromatografía o cristalización.

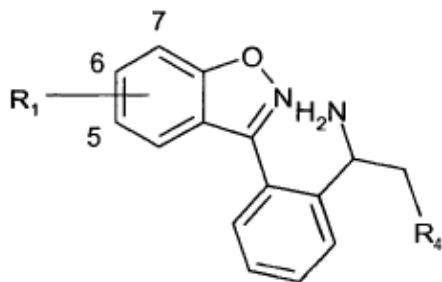
Se pueden preparar compuestos de Fórmula 4 en la que X es un halógeno, preferiblemente bromo o yodo, en una de las posiciones 5, 6, o 7, y R_4 es 2-piridilo a partir de compuestos de Fórmula 5 en la que R_5 es un auxiliar quiral tal como un grupo (*R*)- o (*S*)-sulfinilo de fórmula SOR_7 en la que R_7 es un alquilo, preferiblemente *t*-butilo, o un grupo arilo opcionalmente sustituido mediante la adición del reactivo de Fórmula 7 en la que M es una especie metálica tal como haluro de magnesio o de litio. Los compuestos de Fórmula 4 en la que R_4 es 2-piridilo y R_5 es un auxiliar quiral tal como un grupo (*R*)- or (*S*)-sulfinilo de fórmula SOR_7 en la que R_7 es un alquilo, preferiblemente *t*-butilo, o un grupo arilo opcionalmente sustituido se pueden aislar como un diastereómero individual mediante separación del diastereómero deseado del otro diastereómero no deseado mediante cromatografía o cristalización.

Se pueden preparar compuestos de Fórmula 4 en la que X es un halógeno, preferiblemente bromo o yodo, en una de las posiciones 5, 6, o 7, y R_4 es fenilo opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno o R_4 es 2-piridilo o R_4 es ciclopropilo y R_5 es un grupo protector tal como un grupo *tert*-butoxicarbonilo (BOC) a partir de compuestos de Fórmula 9, en la que X y R_4 tienen los anteriores significados, se pueden utilizar procedimientos de protección bien conocidos por los expertos en la técnica tales como los descritos en Wuts P. G. M y Greene T. W. 'Protecting Groups in Organic Synthesis' Nueva York, Wiley (2006).

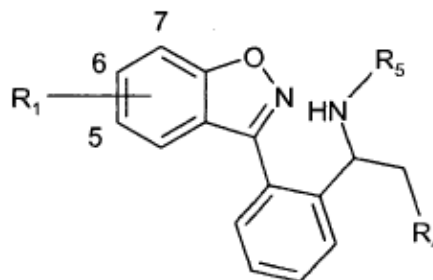


Fórmula 9

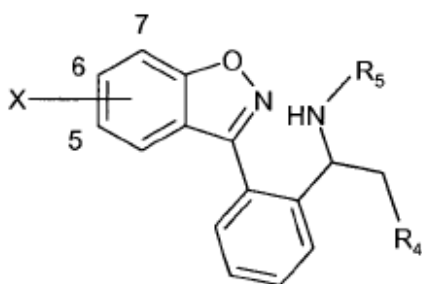
Se pueden aislar compuestos de Fórmula 1, 2, 3, 4 y 9 en la que R_1 es un grupo amida, en una de las posiciones 5, 6, o 7, de fórmula $CONR_2R_3$, en la que R_2 y R_3 son de forma independiente H o alquilo (C_{1-4}), R_4 es fenilo opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno o 2-piridilo o ciclopropilo, R_5 es un grupo protector tal como *tert*-butoxicarbonilo (BOC), benciloxicarbonilo (CBZ) y tricloroetoxicarbonilo (TROC) y X es un halógeno, preferiblemente bromo o yodo, en una de las posiciones 5, 6, o 7, como enantiómeros individuales a partir de los correspondientes compuestos racémicos de Fórmula 10, 11, 12 y 13 respectivamente en la que X, R_1 , R_4 y R_5 tienen los anteriores significados mediante los procedimientos bien conocidos por los expertos en la técnica. Estos procedimientos incluyen la separación del enantiómero requerido mediante cromatografía líquida de alto rendimiento con una fase estacionaria quiral, cromatografía de fluido supercrítico (SFC) con una fase estacionaria quiral y resolución de las sales diastereoméricas utilizando ácidos o bases homquirales mediante cristalización selectiva.



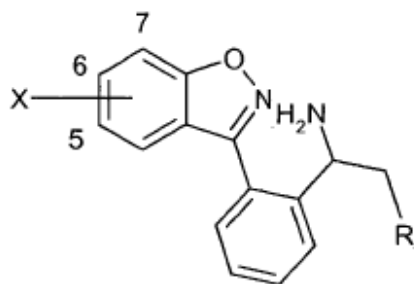
Fórmula 10



Fórmula 11



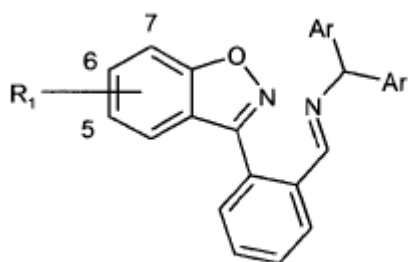
Fórmula 12



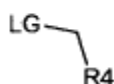
Fórmula 13

Se pueden preparar compuestos de Fórmula 10 en la que R_4 es fenilo opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno o R_4 es ciclopropilo, a partir de compuestos de Fórmula 14 en la que R_1 se define como anteriormente y Ar es un anillo aromático tal como fenilo opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno mediante tratamiento con una base tal como *tert*-butóxido de potasio en un disolvente tal como tetrahidrofurano a una temperatura entre -78°C y temperatura ambiente seguido por la adición de un reactivo de Fórmula 15 en la que LG es un grupo saliente tal como un halógeno, preferiblemente bromo o yodo o un sulfonato tal como un grupo tosilato y R_4 es fenilo opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno o R_4 es ciclopropilo. Tras la adición de la base y la adición de un compuesto de Fórmula 14, la reacción se acidifica, para hidrolizar la imina intermedia, basificándose a continuación a fin de aislar el producto deseado.

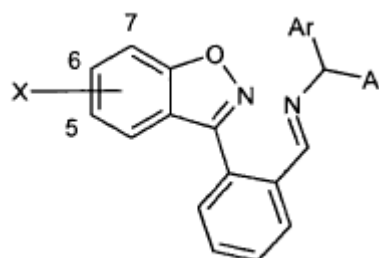
De una manera similar, se pueden preparar compuestos de Fórmula 13 en la que R_4 es fenilo opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno o R_4 es ciclopropilo a partir de compuestos de fórmula 16 en la que X y Ar tienen los mismos significados anteriores y un compuesto de Fórmula 15 en la que R_4 es fenilo opcionalmente sustituido con uno o más átomos de halógeno o R_4 es ciclopropilo.



Fórmula 14



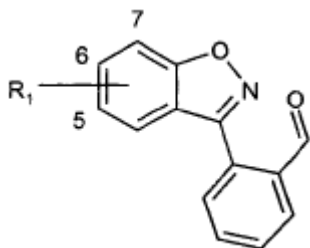
Fórmula 15



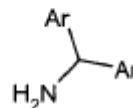
Fórmula 16

Se pueden preparar compuestos de Fórmula 14 a partir de compuestos de Fórmula 17 en la que R_1 es un grupo amida, en una de las posiciones 5, 6, o 7, de fórmula $CONR_2R_3$ en la que R_2 y R_3 son de forma independiente H o alquilo (C_{1-4}) condensándolos con una amina de Fórmula 18. Los expertos en la técnica conocen bien dichos procedimientos e incluyen, utilizar, por ejemplo, sulfato de magnesio anhidro como agente deshidratante en un disolvente tal como diclorometano.

5



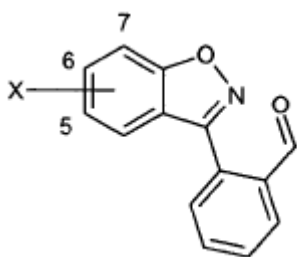
Fórmula 17



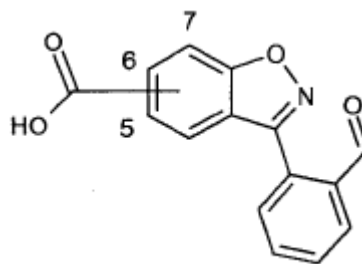
Fórmula 18

Se pueden preparar compuestos de Fórmula 16 a partir de compuestos de Fórmula 19 en la que X es un halógeno, preferiblemente bromo o yodo, en una de las posiciones 5, 6, o 7 condensándolos con una amina de Fórmula 18. Los expertos en la técnica conocen bien dichos procedimientos e incluyen, por ejemplo, utilizar sulfato de magnesio con agente deshidratantes en un disolvente tal como diclorometano.

10



Fórmula 19

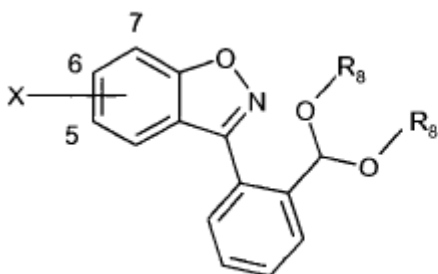


Fórmula 20

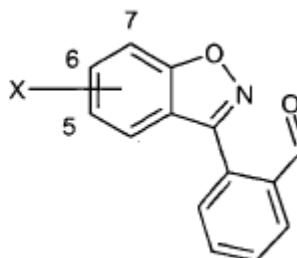
Se pueden preparar compuestos de fórmula 17 en la que R_1 es un grupo amida, en una de las posiciones 5, 6 o 7, de fórmula $CONR_2R_3$ a partir de compuestos de Fórmula 20 en la que el resto de ácido carboxílico está en una de las posiciones 5, 6, o 7 de anillo de bencisoxazol condensándolos con un reactivo de amina de fórmula HNR_2R_3 en la que R_2 y R_3 son de forma independiente H o alquilo (C_{1-4}) utilizando condiciones de acoplamiento de amida normalizadas tales como la formación de un cloruro ácido utilizando cloruro de tionilo o cloruro de oxalilo o generando una especie de carbonilo activado utilizando un reactivo tal como 1,1-carbonildiimidazol seguido por tratamiento con el reactivo de amina de fórmula HNR_2R_3 en un disolvente tal como N-metil pirrolidona o diclorometano. Los expertos en la técnica conocen bien dichos procedimientos. Se pueden usar los procedimientos descritos en March J. 'Advanced Organic Chemistry' Nueva York, Wiley (2007).

15

20



Fórmula 21



Fórmula 22

Se pueden preparar compuestos de Fórmula 20 a partir de compuestos de Fórmula 21 en la que R_8 es un grupo alquilo o arilo o ambos grupos R_8 se unen juntos para formar un sistema de anillo de alquilo y en la que X es un átomo de halógeno, preferiblemente bromo o yodo, en una de las posiciones 5, 6, o 7 mediante el intercambio de metal-halógeno usando un alquilo de un reactivo metálico, por ejemplo, n-butil litio en un disolvente tal como dietiléter a baja temperatura, preferiblemente menos de 0°C , seguido detención rápida de la especie metálica con dióxido de carbono. La reacción se desarrolla con la adición de una etapa de hidrólisis ácida proporciona, si es necesario, el producto deseado.

25

30

Se pueden preparar compuestos de Fórmula 21 a partir de compuestos de Fórmula 22 mediante procedimientos bien conocidos por los expertos en la técnica y que se describen en March J. 'Advanced Organic Chemistry' New York, Wiley (2007), los ejemplos incluyen el uso de un ortoformiato de trialquilo de fórmula general $\text{CH}(\text{OR})_3$ en presencia de un catalizador ácido tal como ácido p-toluensulfónico.

5 Se pueden preparar compuestos de Fórmula 5 en la que R_5 es un auxiliar quiral tal como un grupo (*R*)- o (*S*)-sulfínilo de fórmula SOR_7 en la que R_7 es un alquilo, preferiblemente un grupo *tert*-butilo o un grupo arilo opcionalmente sustituido condensando un compuesto de Fórmula 17 en la que R_1 es un grupo amida, en una de las posiciones 5, 6, o 7, de fórmula CONR_2R_3 en la que R_2 y R_3 son, de forma independiente, H o alquilo (C_{1-4}) condensándolos con una amina de R_5NH_2 . Un procedimiento tal como utilizando sulfato de magnesio o tetraóxido de titanio como un agente deshidratante en un disolvente tal como diclorometano o tetrahidrofurano o un procedimiento al que se hace referencia en P. Zhou y col, Tetrahedron, 2004, 60, 8003.

15 Se pueden preparar compuestos de Fórmula 8 en la que R_5 es un auxiliar quiral tal como un grupo (*R*)- o (*S*)-sulfínilo de fórmula SOR_7 en la que R_7 es un alquilo, preferiblemente un grupo *tert*-butilo o un grupo arilo opcionalmente sustituido condensando los compuestos de Fórmula 22 en la que X es un átomo de halógeno, preferiblemente bromo o yodo, en una de las posiciones 5, 6, o 7, con una amina de fórmula NH_2R_5 en la que R_5 tiene la anterior definición. Los expertos en la técnica conocen bien dichos procedimientos e incluyen, por ejemplo, utilizar sulfato de magnesio anhidro o tetraóxido de titanio como un agente deshidratantes en un disolvente tal como diclorometano o tetrahidrofurano.

20 Se pueden preparar los compuestos de Fórmula 22 utilizando procedimientos de la técnica anterior tales como los descritos en el documento WO 97/40027 (Akzo Nobel N.V.).

25 Los derivados de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilaminas de Fórmula I que tienen la configuración (*S*) y sus sales pueden contener un centro adicional de quiralidad, y pueden existir por tanto como estereoisómeros, incluyendo diastereómeros. La presente invención incluye los estereoisómeros anteriormente mencionados comprendidos en el alcance de cada uno de los isómeros *R/S* y *S/S* individuales de los compuestos de Fórmula I y sus sales, sustancialmente libres, es decir asociadas con menos de un 5%, preferiblemente menos de un 2%, en particular menos de un 1% de otro estereoisómero, y las mezclas de dichos estereoisómeros en cualquier proporción.

30 Se pueden obtener estereoisómeros purificados utilizando procedimientos como la cristalización de las formas salinas quirales, resolución cromatográfica quiral o resolución utilizando procedimientos enzimáticos. Los expertos en la técnica conocen bien dichos procedimientos. Se pueden utilizar los procedimientos descritos en 'Advanced Organic Chemistry' (March J., Nueva York, Wiley (1985) y en "Chirality in Industry" (Editado por A.N. Collins, G.N. Sheldrake y J. Cosby, 1992; John Wiley).

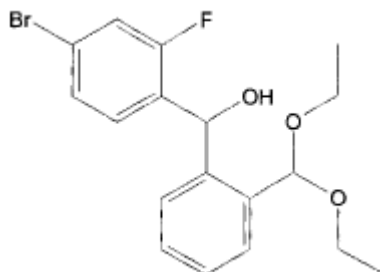
35 La presente invención abarca también los derivados de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina de Fórmula I de la presente invención isotópicamente marcados que son idénticos a los enumerados en el presente documento, pero se diferencian por el hecho de que uno o más átomos están sustituidos por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico diferentes de la masa atómica o número másico que se encuentran usualmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que se pueden incorporar a los compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ^2H , ^3H , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{18}O , ^{17}O , ^{18}F , y ^{36}Cl , respectivamente. Determinados compuestos isotópicamente marcados de Fórmula (I) (por ejemplo, aquellos marcados con ^3H y ^{14}C) son útiles en los ensayos de distribución del compuesto y/o del sustrato del tejido. Se prefieren de forma particular los isótopos tritados (es decir, ^3H y carbono-14 (es decir, ^{14}C) por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio (es decir, ^2H), puede dar como resultado determinadas ventajas terapéuticas resultantes de la mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, aumento de la semivida in vivo o reducción de los requerimientos de dosificación) y por tanto, pueden preferirse en algunas circunstancias. Se pueden preparar de forma general compuestos de Fórmula (I) isotópicamente marcados mediante los siguientes procedimientos análogos a los dados a conocer en los Esquemas y/o en los Ejemplos siguientes del presente documento, sustituyendo un reactivo isotópicamente marcado adecuado por un reactivo no marcado isotópicamente.

45 Se pueden obtener sales farmacéuticamente aceptables tratando una base libre de un compuesto de Fórmula I con un ácido mineral tal como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico y ácido sulfúrico, o un ácido orgánico tal como, por ejemplo, ácido ascórbico, ácido cítrico, ácido tartárico, ácido láctico, ácido maleico, ácido malónico, ácido fumárico, ácido glicólico, ácido succínico, ácido propiónico, ácido acético y ácido metanosulfónico. Se prefieren las sales obtenidas mediante ácido clorhídrico y ácido L-(+)-tartárico.

55 Los compuestos de la invención pueden existir en formas no solvatadas así como solvatadas con disolventes farmacéuticamente aceptables tales como agua, etanol y similares. En general, las formas solvatadas se consideran equivalentes a las formas no solvatadas a fines de la invención.

La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden derivados de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina de acuerdo con la Fórmula I general, o una de sus sales farmacéuticamente aceptable, en premezcla con auxiliares farmacéuticamente aceptables, y opcionalmente, otros agentes terapéuticos.

- 5 El término "aceptable" significa que es compatible con los diferentes ingredientes de la composición y no es perjudicial para los receptores de la misma, las composiciones incluyen, por ejemplo, aquellas adecuadas para la administración oral, sublingual, subcutánea, intravenosa, epidural, intratecal, intramuscular, transdérmica, pulmonar, local, ocular o rectal, y similares, todas en formas de dosificación unitarias para la administración. Una ruta de administración preferida es la ruta oral.
- Para la administración oral, el principio activo se puede presentar como unidades discretas, tales como comprimidos, cápsulas, polvos, granulados, disoluciones, suspensiones, y similares.
- 10 Para la administración parenteral, la composición farmacéutica de la invención puede presentarse en recipientes monodosis o multidosis, por ejemplo, líquidos para inyección en cantidades predeterminadas, por ejemplo, en viales y ampollas cerrados herméticamente, y se pueden almacenar también en un estado criodesecado (liofilizado) que requiere solo la adición de un vehículo líquido estéril, por ejemplo, agua, antes del uso.
- 15 Mezclado con dichos auxiliares farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, tal como los que se describen en la referencia normalizada Gennaro, A.R. y col, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (20ª Edición, Lippincott Williams & Wilkins, 2000, véase de forma especial la Parte 5: Pharmaceutical Manufacturing), el principio activo puede estar comprimido en unidades de dosificación sólidas, tales como píldoras, comprimidos, o procesarse en cápsulas, supositorios o parches. Por medio de líquidos farmacéuticamente aceptables, el agente activo puede aplicarse como una composición fluida, por ejemplo, como una preparación para inyección, en la forma de una disolución, suspensión, emulsión, o como una pulverización, por ejemplo, una pulverización nasal.
- 20 Para preparar las unidades de dosificación sólidas, se contempla el uso de aditivos convencionales tales como cargas, colorantes, aglutinantes poliméricos y similares. En general, se puede usar cualquier aditivo farmacéuticamente aceptable que no interfiera con la función de los compuestos activos que se van a utilizar. Los vehículos adecuados con los cuales se puede administrar el agente activo como composiciones sólidas incluyen lactosa, almidón, derivados de celulosa y similares, o sus mezclas, utilizados en cantidades adecuadas. Para la administración parenteral se pueden usar suspensiones acuosas, soluciones salinas isotónicas y disoluciones inyectables estériles, que contienen agentes dispersantes farmacéuticamente aceptables y/o agentes humectantes, tales como propilenglicol o butilenglicol.
- 25 La invención incluye además una composición farmacéutica tal como se ha descrito anteriormente, en combinación con material de envasado adecuado para dicha composición, incluyendo dicho material de envasado instrucciones para el uso de la composición para el uso tal como se ha descrito anteriormente.
- 30 Los derivados de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilaminas de la invención se han encontrado ser inhibidores del canal I_h tal como se midió mediante electrofisiología de fijación de membranas usando el canal HCN1 humano (véase la solicitud de patente internacional WO 01/090142: "Full length human HCN1 I_h channel subunits and variants" - Akzo Nobel N.V.) expresadas en células HEK.
- 35 Los compuestos de la invención tienen utilidad en el tratamiento del dolor que está mediado a través de la modulación del canal I_h , preferiblemente dolor neuropático o inflamatorio, tal como el dolor neuropático que se produce en estadios del tipo de la neuralgia del trigémino, neuralgia posterior a herpes (dolor tras herpes zoster), neuropatía diabética, dolor en miembro imaginario que sigue a la amputación, esclerosis múltiple, dolor tras quimioterapia, fibromialgia (trastorno crónico de dolor muscular), infección por VIH, alcoholismo, cáncer (como un resultado directo de cáncer en nervios periféricos o como un efecto secundario de algunos fármacos de quimioterapia) y dolor facial atípico.
- 40 Los compuestos de la invención pueden también utilizarse junto con otros fármacos, por ejemplo, fármacos analgésicos tales como opioides y fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), que incluyen inhibidores selectivos de COX-2.
- 45 Los compuestos de la invención pueden administrarse a seres humanos en una cantidad suficiente durante una cantidad suficiente de tiempo para aliviar los síntomas, los niveles de dosificación para seres humanos pueden estar en el intervalo de 0,001-50 mg por kg de peso corporal, preferiblemente en una dosificación de 0,01-20 mg por kg de peso corporal.

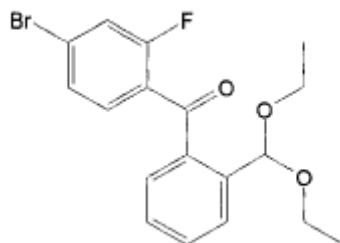
Parte experimental**Compuesto 1a:** (4-bromo-2-fluorofenil)(2-(dietoximetil)fenil)metanol

5 A una disolución agitada mecánicamente de 1-bromo-2-(dietoximetil) benceno (266 g) en dietil éter seco (1,5 l) enfriada a -70° C con nitrógeno se añadió una disolución 2,5 M de n-butil litio en hexanos (414 ml) gota a gota durante 30 min. La mezcla de reacción se agitó a una temperatura por debajo de -60° C durante 45 min y a continuación se añadió gota a gota una disolución de 4-bromo-2-fluorobenzaldehído en dietil éter seco (1,5 l) durante 1 h manteniendo la temperatura baja. Se retiró el baño de enfriamiento permitiendo a la reacción calentarse a + 10° C durante 3 h. La reacción se detuvo rápidamente mediante la adición de agua (500 ml). La capa orgánica se separó y la capa acuosa se lavó con acetato de etilo (2 x 500 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, a continuación se secaron con sulfato de sodio anhidro y se evaporaron para dar como resultado el producto del título (371,1 g) como un aceite amarillo.

De una manera similar se preparó partiendo de 3-bromo-2-fluorobenzaldehído:

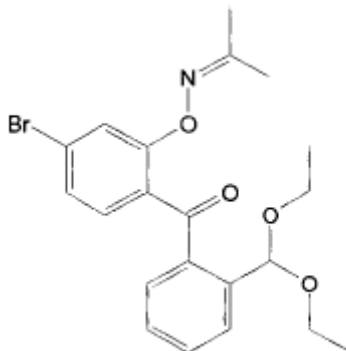
Compuesto 1b: (3-bromo-2-fluorofenil) (2-(dietoximetil)fenil) metanol

15 **Compuesto 2a:** (4-bromo-2-fluorofenil) (2-(dietoximetil)fenil) metanona



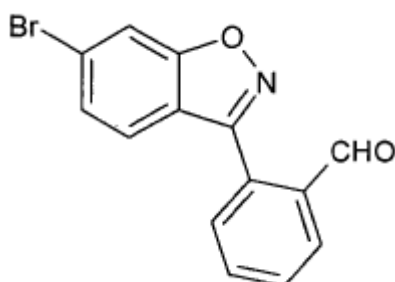
(4-bromo-2-fluorofenil) (2-(dietoximetil)fenil) metanol (Compuesto **1a**) (116 g) se disolvió en t-butanol (680 ml) con agitación y a la disolución resultante se añadió agua (1,4 l) seguido por bicarbonato de sodio (54,2 g). Utilizando un baño de agua usado para mantener la temperatura alrededor de 20° C, se añadieron 1,3-dibromo-5,5-dimetilhidantoína (48,3 g) y a continuación TEMPO (0,51 g) y la suspensión turbia de color amarillo se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Se añadieron disolución saturada de bicarbonato de sodio (360 ml) y tiosulfato de sodio (48 g en agua). La mezcla resultante se agitó durante 10 min, a continuación se extrajo con acetato de etilo, los extractos se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato de sodio anhidro y se evaporaron para dar el producto del título (118) g como un aceite de color amarillo oscuro.

25 De una manera similar se preparó partiendo de (3-bromo-2-fluorofenil) (2-(dietoximetil)fenil) metanol (Compuesto **1b**): **Compuesto 2b** (3-bromo-2-fluorofenil) (2-(dietoximetil)fenil) metanona

Compuesto 3a: (4-bromo-2-(propan-2-ilidenoaminoxy)fenil) (2-(dietoximetil) fenil) metanona

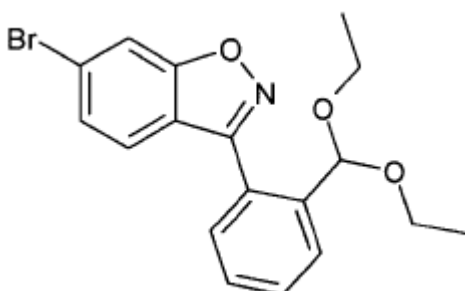
- 5 A una disolución agitada mecánicamente de acetona oxima (20.33 g) en tetrahidrofurano (500 ml) con nitrógeno se añadió una disolución de *tert*-butóxido de potasio 1 M en tetrahidrofurano (325 ml) enfriando a la vez en un baño de agua con hielo. La suspensión espesa de color blanco se agitó a 20° C durante 20 min, a continuación, se añadió una disolución de (4-bromo-2-fluorofenil) (2-(dietoximetil)fenil) metanona (Compuesto **2a**) (118 g) en tetrahidrofurano (400 ml) durante 20 min y la suspensión de color naranja pálido resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 h, a continuación se mantuvo a reflujo durante 2 h. La mezcla de reacción se diluyó con agua (680 ml) y se extrajo en acetato de etilo. Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato de magnesio anhidro y se evaporaron para dar el compuesto del título (116 g).

10 De una manera similar se preparó partiendo de (3-bromo-2-fluorofenil) (2-(dietoximetil)fenil) metanona (Compuesto **2b**): **Compuesto 3b** (3-bromo-2-(propan-2-ilidenoaminoxy)fenil) (2-(dietoximetil) fenil) metanona

Compuesto 4a: 2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il) benzaldehído

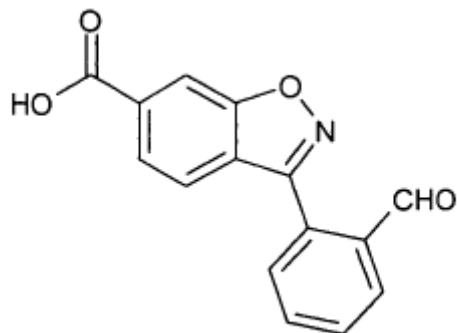
- 15 A una disolución agitada de (4-bromo-2-(propan-2-ilidenoaminoxy)fenil)(2-(dietoximetil)fenil) metanona (Compuesto **3a**) (18 g) en etanol (50 ml) a 70° C se añadió ácido clorhídrico 2M (25 ml). La mezcla se agitó a 70° C durante 20 min formando una suspensión espesa. Se añadió agua (500 ml) y el sólido resultante se eliminó mediante filtración y se secó al vacío a 50° C para dar el compuesto del título (12 g).

20 De una manera similar se preparó partiendo de (3-bromo-2-(propan-2-ilidenoaminoxy)fenil) (2-(dietoximetil)fenil) metanona (Compuesto **3b**):

Compuesto 4b: 2-(7-bromobenzo[d]isoxazol-3-il) benzaldehído**Compuesto 5:** 6-bromo-3-(2-(dietoximetil)fenil)benzo[d]isoxazol

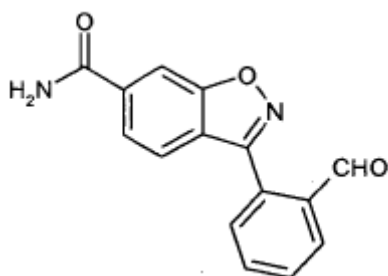
5 A una suspensión agitada de 2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il) benzaldehído (Compuesto **4a**) (10 g) en etanol seco (100 ml) se añadió ácido p-toluensulfónico (0,315 g) seguido por ortoformiato de trietilo (11,01 ml, 9,81 g). La suspensión se agitó a 45° C hasta que dio como resultado una disolución transparente y a continuación se mantuvo a 45° C durante 45 min. El disolvente se eliminó a vacío y a continuación la mezcla se diluyó con acetato de etilo y a continuación se lavó con disolución saturada de carbonato de sodio, salmuera, y a continuación se secó con sulfato de sodio anhidro, se filtró y se evaporó para dar el producto del título (12,6 g).

Compuesto 6: ácido 3-(2-formilfenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxílico

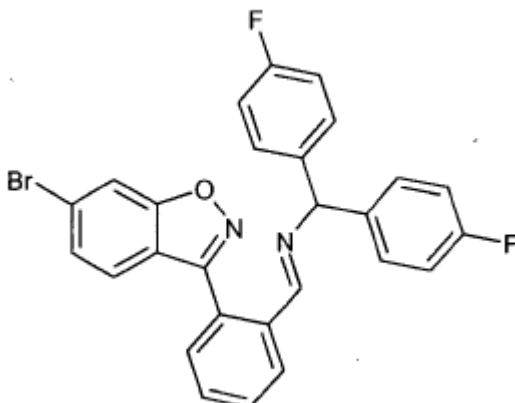


10 A una disolución de 6-bromo-3-(2-(dietoximetil)fenil)benzo[d]isoxazol (Compuesto **5**) (50 g) en éter seco (330 ml) con nitrógeno a -78 °C se añadió gota a gota una disolución 2,5 M de n-butil litio en hexanos (55,8 ml) y con agitación continua a -78° C durante 45 min. La suspensión de color marrón espesa se transfirió mediante cánula a una mezcla agitada mecánicamente de lentejas de dióxido de carbono sólido en éter (250 ml, con nitrógeno y enfriado en acetona / baño de hielo seco) y la mezcla de reacción resultante se recargó con lentejas de dióxido de carbono adicionales y se mantuvo en agitación en un baño frío con nitrógeno a la vez que se calentaba a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se detuvo rápidamente con HCl 2 N (100 ml) y se eliminó el éter a presión reducida y se añadió etanol (300 ml). La suspensión de color amarillo resultante se agitó a 60° C durante 15 min, a continuación se enfrió a temperatura ambiente y se agitó en un baño de hielo durante 30 min y el sólido de color amarillo resultante se aisló mediante filtración y se secó en un horno a vacío a 45° C para dar el producto del título (29,76 g).

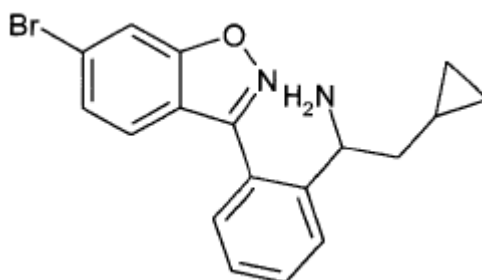
20 **Compuesto 7:** 3-(2-formilfenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida



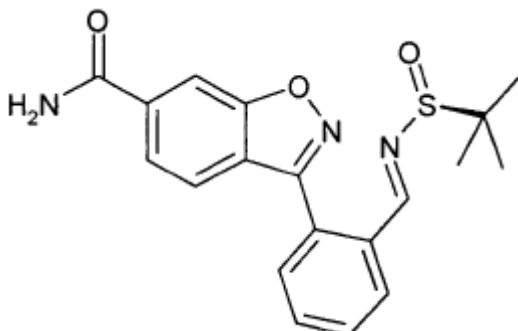
25 A una disolución de ácido 3-(2-formilfenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxílico Compuesto **6**) (60,2 g) en N-metil-2-pirrolidinona (600 ml) a temperatura ambiente se añadió en una porción 1,1'-carbonildiimidazol (40,2 g) y la disolución se agitó a temperatura ambiente con nitrógeno durante 2 h, a continuación se vertió en una disolución acuosa de amoníaco con una densidad específica de 0,880. La suspensión se agitó mecánicamente a temperatura ambiente durante 2 h, a continuación se filtró. El sólido recogido aún húmedo se trituroó en metanol (200 ml) a temperatura ambiente y a continuación se filtró, este material se trituroó de nuevo con metanol (100 ml), a continuación se filtró y se secó a vacío para dar el producto del título (54,92 g)

Compuesto 8: *(E)-N*-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)encilideno)-1,1-bis(4-fluoro-fenil)metanamina

5 A una disolución agitada de 2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il) benzaldehído (compuesto **7**) (2 g) en diclorometano (33 ml) se añadió bis(4-fluorofenil) metanamina (1,74 g) y sulfato de magnesio anhidro y se agitó con nitrógeno a temperatura ambiente durante 18 h. la filtración y la evaporación del filtrado y la cristalización a partir de diclorometanol proporcionaron el compuesto del título (2,4 g).

Compuesto 9: 1-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-ciclopropiletanamina

10 A una disolución de *(E)-N*-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)encilideno)-1,1-bis(4-fluorofenil)metanamina (Compuesto **8**) (1,34 g) en tetrahidrofurano seco (15 ml) con nitrógeno se enfrió a -78 °C con agitación y se añadió gota a gota una disolución 1 M de *tert*-butóxido de potasio en tetrahidrofurano (3,2 ml). La disolución viró a un color púrpura oscuro. Tras 20 min, se añadió (yodometil)ciclopropano (1,45 g) en una porción y la disolución se calentó lentamente a temperatura ambiente, se agitó a esta temperatura durante 1,5 h, a continuación se detuvo rápidamente mediante la adición de agua (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo. El extracto orgánico se secó con sulfato de magnesio anhidro y se evaporó para dejar una goma de color rojo oscuro que se disolvió en acetona (20 ml) y se añadió una disolución acuosa de HCl 2 N (15 ml) y la mezcla se agitó durante la noche. La acetona se eliminó mediante evaporación y se extrajo la disolución acuosa con diclorometano. La disolución acuosa se hizo básica con bicarbonato de sodio y se extrajo con diclorometano, se secó con sulfato de magnesio anhidro y se evaporó a presión reducida. L purificación SCX (eluyendo con metanol, a continuación con amoníaco en metanol) seguido por la cromatografía instantánea sobre gel de sílice eluyendo con 0 a 5% de metanol en diclorometano proporcionó el producto del título (0,39 g).

Compuesto 10: 3-(2-((*E*)-((*S*)-*tert*-butilsulfinilimino)metil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida

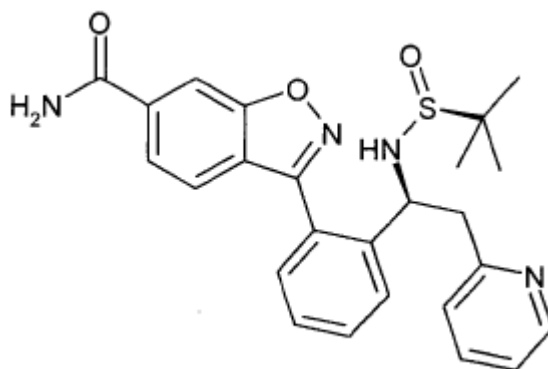
A una suspensión de 3-(2-formilfenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida (Compuesto **7**) (4,12 g) en tetrahidrofurano (50 ml) se añadió (S)-(-)-t-butilsulfonamida (1,97 g) seguido por etóxido de titanio (IV) (4,8 ml). La mezcla se agitó durante tres días, a continuación se vertió en agua con hielo agitada (200 ml) y se añadió acetato de etilo (200 ml) y se filtró a través de dicalita y a continuación el tapón del sólido se lavó con acetato de etilo caliente (200 ml), la capa orgánica se secó con sulfato de magnesio anhidro y se evaporó para dar el compuesto del título (5,7 g) como una goma parcialmente solidificada.

De una manera similar, se prepararon los siguientes:

Compuesto 11a: (S,E)-N-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)encilideno)-2-metilpropano-2-sulfonamida partiendo de bromobenzo[d]isoxazol-3-il)benzaldehído (Compuesto **4a**).

Compuesto 11b: (S,E)-N-(2-(7-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)encilideno)-2-metilpropano-2-sulfonamida partiendo de 7-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)benzaldehído (Compuesto **4b**).

Compuesto 12: 3-(2-((S)-1-((S)-1,1-dimetiletilsulfonamido)-2-(piridin-2-il)etil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida



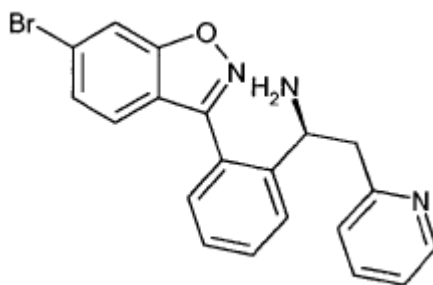
A una disolución de 2-picolina (22,6 ml, 21,3 g) en tetrahidrofurano (280 ml) enfriada con nitrógeno a -72 °C se añadió una disolución de n-butil litio 2,5 M en hexanos (98 ml) gota a gota durante 40 min manteniendo la temperatura interna por debajo de -70° C. la mezcla se agitó a esta temperatura durante 45 min, a continuación se añadió gota a gota una disolución de 3-(2-((E)-((S)-*tert*-butilsulfonilimino)metil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida (Compuesto **10**) (28,2 g) en tetrahidrofurano (280 ml) durante 45 min (la temperatura interna menor de -70° C) a continuación se agitó a esta temperatura durante 30 min. Se dejó calentar la mezcla de reacción a -30° C y se añadió una disolución saturada acuosa de cloruro de amonio (500 ml). Las capas se separaron y la capa acuosa se lavó con éter (3 x 300 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato de sodio anhidro y los disolventes se eliminaron. La cromatografía instantánea sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo, a continuación con 1 a 5% de metanol en acetato de etilo proporcionó tres fracciones de producto que se cristalizaron a partir del mínimo de acetato de etilo para dar el producto del título (17,2 g).

De una manera similar se prepararon los siguientes:

Compuesto 13: 3-(2-((S)-1-((S)-1,1-dimetiletilsulfonamido)-2-feniletil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida partiendo de-*tert*-butilsulfonilimino)metil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida (Compuesto **10**) y cloruro deencil magnesio.

Compuesto 14a: (S)-N-((1S)-1-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etil)-2-metilpropano-2-sulfonamida partiendo de (S,E)-N-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)encilideno)-2-metilpropano-2-sulfonamida (Compuesto **11a**) and 2-picolina.

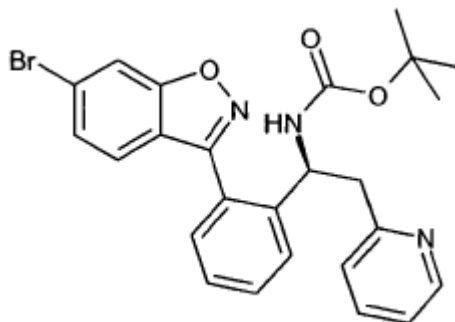
Compuesto 14b: (S)-N-((1S)-1-(2-(7-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etil)-2-metilpropano-2-sulfonamida partiendo de (S,E)-N-(2-(7-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)encilideno)-2-metilpropano-2-sulfonamida (Compuesto **11b**) y 2-picolina.

Compuesto 15a: 1-(S)-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etanamina

5 A una disolución de (S)-N-((1S)-1-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etil)-2-metilpropano-2-sulfinamida (Compuesto **14a**) (1,76 g) disuelto en diclorometano (10 ml) se añadió ácido clorhídrico 2 N (10 ml) y la mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente. La mezcla resultante se capturó en metanol y se cargó en una columna SCX de 20 g y se eluyó con etanol puro, seguido por amoníaco-metanol y las fracciones que contenían el producto se evaporaron para dar el producto del título (1,25 g) como un aceite trasparente de color amarillo.

De una manera similar se preparó:

10 **Compuesto 15b:** 1-(S)-(2-(7-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etanamina partiendo de (S)-N-((1S)-1-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etil)-2-metilpropano-2-sulfinamida (Compuesto **14b**).

Compuesto 16a: 1-(S)-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etilcarbamato de *terc*-butilo

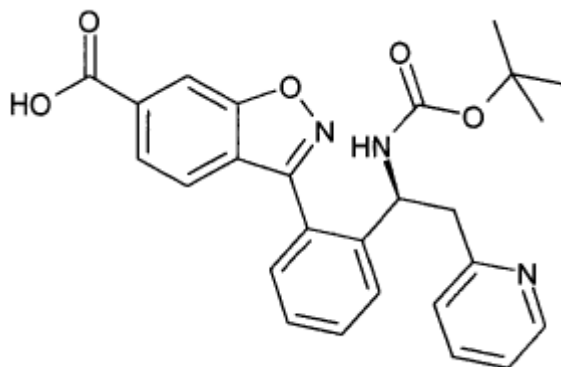
15 A una disolución de 1-(S)-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etanamina (Compuesto **15a**) (2,13 g) en diclorometano seco (10 ml) se añadió dicarbonato de di-*terc*-butilo (1,24 g) y la disolución se agitó a temperatura ambiente durante dos días. Se añadió una disolución acuosa de ácido cítrico 0,5 M y se extrajo la mezcla de reacción con diclorometano, los extractos se lavaron con salmuera, se secaron con sulfato de sodio anhidro, se filtraron y se evaporaron para dar un aceite de color marrón oscuro que se purificó en una columna de gel de sílice de 40 g eluyendo con acetato de etilo al 25% en heptano para dar el producto del título (1,72 g).

De una manera similar se preparó:

20 **Compuesto 16b:** 1-(S)-(2-(7-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etilcarbamato de *terc*-butilo partiendo de 1-(S)-(2-(7-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etanamina (Compuesto **15b**).

Compuesto 17: 1-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-ciclopropiletilcarbamato de *terc*-butilo partiendo de 1-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-ciclopropiletanamina (Compuesto **9**).

Compuesto 18a: ácido 3-(2-(1-(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(piridin-2-il)etil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxílico



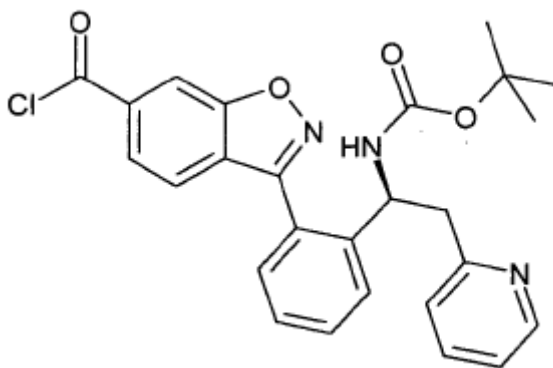
5 A una disolución de 1-(S)-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etilcarbamato de *terc*-butilo (Compuesto **16a**) (1,72 g) en dietil éter (30 ml) a 5 °C se añadió una dispersión al 60% de hidruro de sodio en aceite mineral (3,34 g). La suspensión se agitó a 5° C durante 10 min y a continuación se enfrió a -65° C y se añadió una
10 disolución de *n*-butillitio 2,5 M en hexanos (5,57 ml). La suspensión se agitó a -70° C durante 30 min y a continuación se vertió sobre lentejas de dióxido de carbono sólido y se dejó reposar hasta que la mezcla alcanzó la temperatura ambiente. A esto se añadió agua y se acidificó con ácido cítrico y se extrajo con éter (3 x 200 ml), las capas orgánicas se secaron con sulfato de magnesio anhidro y se evaporaron, La cromatografía instantánea eluyendo con metanol al 10% en diclorometano proporcionó el producto del título (0,71 g).

De una manera similar se preparó:

Compuesto 18b: ácido 3-(2-(1-(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(piridin-2-il)etil)fenil)benzo[d]isoxazol-7-carboxílico partiendo de 1-(S)-(2-(7-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etilcarbamato de *terc*-butilo (Compuesto **16b**).

15 **Compuesto 19:** ácido 3-(2-(1-(terc-butoxicarbonilamino)-2-ciclopropiletil)fenil)-benzo[d]isoxazol-6-carboxílico partiendo de 1-(2-(6-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-ciclopropiletilcarbamato de *terc*-butilo (Compuesto **17**).

Compuesto 20a: 1-(S)-(2-(6-(clorocarbonil)benzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etilcarbamato de *terc*-butilo

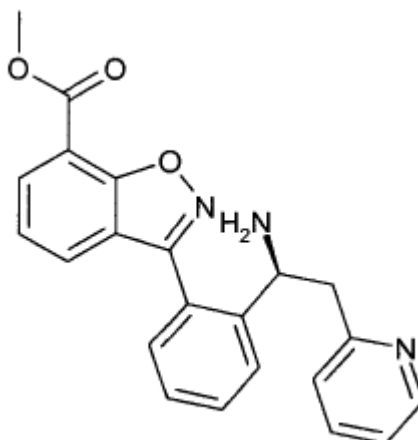


20 A una disolución de ácido 3-(2-(1(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(piridin-2-il)etil)-fenil) benzo[d]isoxazol-6-carboxílico (compuesto **18a**) (45 mg) disuelta en diclorometano seco (2 ml) con nitrógeno, se enfrió en un baño con hielo, se añadió trietilamina (127 µl), a continuación cloruro de tionilo (35,5 µl). Después de 10 min se eliminaron los disolventes a presión reducida para dar el compuesto del título.

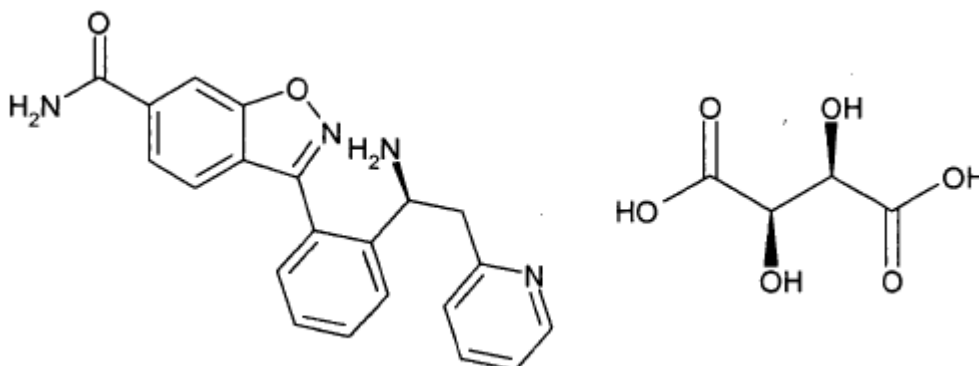
De una manera similar se preparó:

25 **Compuesto 20b:** 1-(S)-(2-(7-(clorocarbonil)benzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etilcarbamato de *terc*-butilo partiendo de ácido 3-(2-(1-(S)-(terc-butoxicarbonilamino)-2-(piridin-2-il)etil)fenil) benzo[d]isoxazol-7-carboxílico (Compuesto **18b**).

Compuesto 21: 1-(2-(6-(clorocarbonil)benzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-ciclopropiletilcarbamato de *terc*-butilo partiendo de ácido 3-(2-(1-(terc-butoxicarbonilamino)-2-ciclopropiletil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxílico (Compuesto **19**).

Compuesto 22: 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)benzo[d]isoxazol-7-carboxilato de metilo

5 A una disolución de (S,E)-N-(2-(7-bromobenzo[d]isoxazol-3-il)encilideno)-2-metilpropano-2-sulfonamida (Compuesto **11_b**) (145 mg) disuelta en metanol seca (1 ml) y N,N-dimetilformamida seca (3 ml) se añadió 1,1'-bis (difenilfosfino)ferroceno-dicloropaladio (II) (42 mg), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (32 mg) y trietilamina (0,2 ml). La disolución se agitó de 80 a 90° C con una atmósfera de monóxido de carbono gas durante la noche. La cromatografía instantánea eluyendo con 0 a 5% de metanol en diclorometano seguido por evaporación, tratamiento con HCl 2 N en éter (1 ml) durante 10 minutos, a continuación purificación mediante cromatografía SCX eluyendo con metanol, a continuación amoníaco en metanol seguido por cromatografía instantánea eluyendo con 2 a 10% de metanol en diclorometano proporcionó el compuesto del título (22 mg).

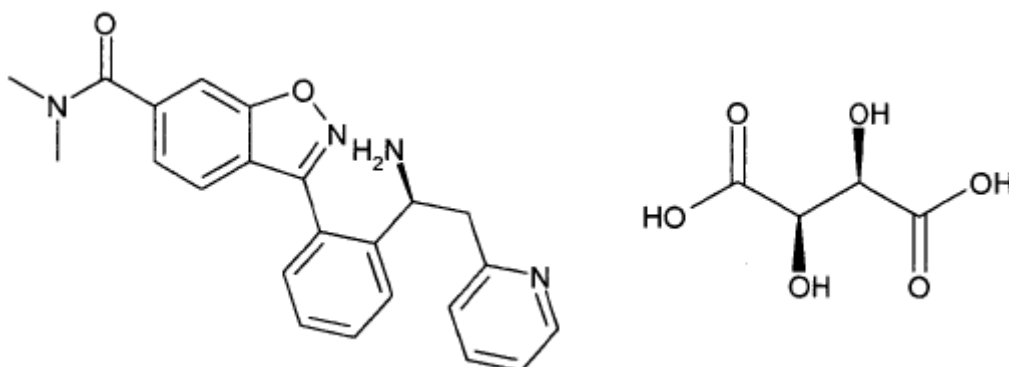
Ejemplo 1: sal de L-(+)- tartrato de la 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida

15 A una disolución de 3-(2-((S)-1-((S)-1,1-dimetiletilsulfonamido)-2-(piridin-2-il)-etil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida (compuesto **12**) (63 g) en metanol (700 ml) se añadió HCl 2 N en dietil éter (350 ml) en una porción. La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 2,5 h, a continuación se añadió éter (2 l) seguido por disolución saturada acuosa de carbonato de sodio (ca 1,5 l) hasta aproximadamente pH 10. Las capas se separaron y se extrajo la disolución acuosa con éter (x6), a continuación diclorometano (x3) y las fracciones orgánicas combinadas se secaron con sulfato de sodio anhidro y los disolventes se eliminaron a presión reducida para dar una espuma de color amarillo, que se cromatografió sobre gel de sílice (800 g) eluyendo con acetato de etilo-metanol-amoníaco 7 M en metanol (90:10:0,3) para dar 35 g de una espuma de color blanco que se convirtió en la sal de L-(+)-tartrato y cristalizó a partir de etanol para dar el compuesto del título (52 g), MS (ES) : m/z 359 [M + H]⁺; [α]_D (MeOH, c = 4,4) +8,4.

De una manera similar se preparó lo siguiente:

25 **Ejemplo 2:** sal de clorhidrato de 3-(2-((S)-1-amino-2-feniletil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida partiendo de 3-(2-((S)-1-((S)-1,1-dimetiletilsulfonamido)-2-feniletil)fenil)benzo[d] isoxazol-6-carboxamida (Compuesto **13**), MS (ES) : m/z 358 [M + H]⁺; [α]_D (MeOH, c = 2,1) +34,3.

Ejemplo 3: sal de L-(+)-tartrato de la 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)-N,N-dimetilbenzo[d]isoxazol-6-carboxamida

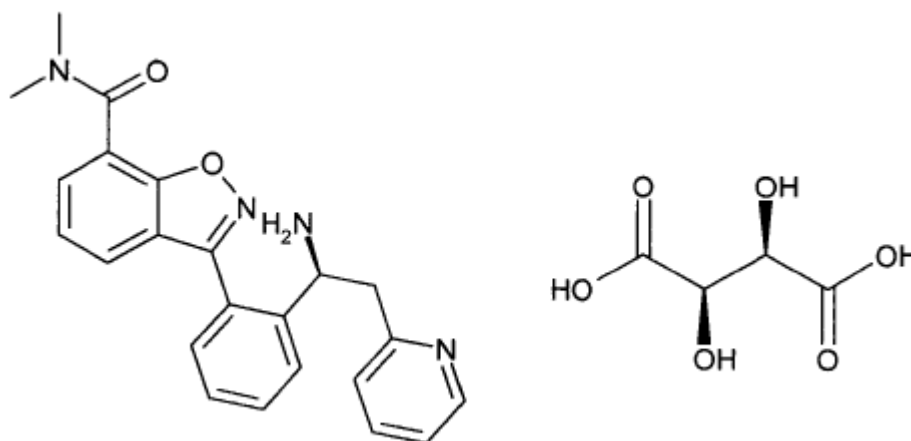


5 A una disolución agitada del 1-(S) (2-(6-(clorocarbonil)benzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etilcarbamato de *terc*-butilo (Compuesto 20a) disuelto en diclorometano seco (2 ml) enfriado en un baño de hielo se añadió un exceso de dimetilamina (2 M en tetrahidrofurano), a continuación la reacción se calentó a temperatura ambiente. Después de 1 h, el disolvente se eliminó a presión reducida y el residuo se purificó mediante cromatografía instantánea eluyendo con 1 a 4% de metanol en diclorometano. Las fracciones puras de la amida terciaria se evaporaron, a continuación se disolvieron en diclorometano (2,5 ml) y se trataron con ácido trifluoroacético (0,5 ml). La evaporación y la purificación mediante cromatografía SCX eluyendo con metanol, a continuación amoniaco en metanol proporcionaron 207 mg de la base exenta de amina que se trató con ácido L-(+)- tartárico para dar el compuesto del título (16 mg), MS (ES): m/z 387 [M + H]⁺.

De una manera similar se prepararon

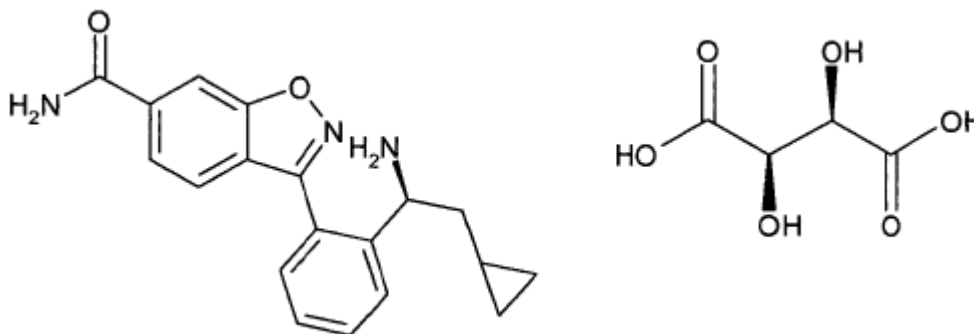
15 **Compuesto 23:** 3-(2-(1-amino-2-ciclopropiletil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida partiendo del 1-(2-(6-(clorocarbonil)benzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-ciclopropiletil carbamato de *terc*-butilo (Compuesto 21) y amoniaco.

Ejemplo 4 sal de L-(+)- tartrato de la 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)-N,N-dimetilbenzo[d]isoxazol-7-carboxamida partiendo del 1-(S)-(2-(7-(clorocarbonil)benzo[d]isoxazol-3-il)fenil)-2-(piridin-2-il)etilcarbamato de *terc*-butilo (Compuesto 20b)



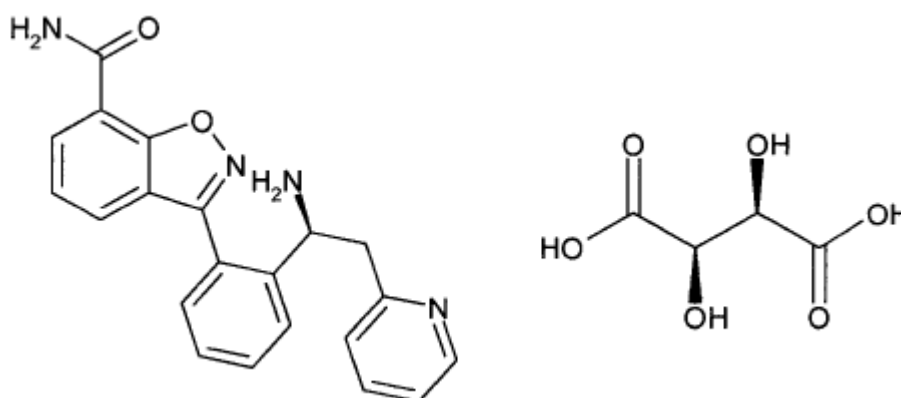
20

Ejemplo 5: sal de L-(+)- tartrato de la 3-(2-(1-(S)-amino-2-ciclopropiletil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida



La 3-(2-(1-amino-2-ciclopropiletil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida (Compuesto **23**) (280 mg) se disolvió en metanol (50 ml), se separó en los enantiómeros componentes mediante cromatografía SFC preparativa (40 ml/min, detección a 220 nm, 35 °C, 100 Bar (1000 kPa) en una columna ADH con Isopropanol al 25 % / Isopropilamina al 0,1 % como modificador). La conversión de la base libre del primer pico de elución en la sal de L-(+)- tartrato proporcionó el compuesto del título (73 mg), MS (ES): m/z 359 [M+ H]⁺. Este enantiómero es el primer pico de elución cuando se compara con el racemato utilizando la cromatografía SFC analítica (100 bar (1000 kPa), 4ml/min, Isopropanol al 25 % / Isopropilamina al 0,1 %, 35 °C, columna Chiralpak AD-H 25 cm X 0.46 cm, detección a 220 nm UV).

Ejemplo 6: sal de L-(+)- tartrato de la 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)benzo[d]isoxazol-7-carboxamida



Una disolución de 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)benzo-[d]isoxazol-7-carboxilato de metilo (Compuesto **22**) (22 mg) una disolución de amoníaco 7 M en metanol (1 ml) se colocó en un tubo cerrado herméticamente y se agitó a 75° C durante 4 días, a continuación se evaporó a presión reducida y se purificó mediante cromatografía instantánea eluyendo con 3 a 8% de metanol en diclorometano seguido por la conversión de la sal de L-(+)- tartrato para dar el compuesto del título (17 mg) MS (ES) : m/z 359 [M + H]⁺.

Ejemplo 7

Ensayo biológico utilizando electrofisiología de fijación de membranas automatizada

20 **A:** Cultivo celular

Se cultivaron células HEK-hHCN1-2H10 en matraces de 225 cm², en MEM (con sales de Earle) suplementado con Fetalclon II al 10% + 0,1 mM de aminoácidos no esenciales + piruvato de sodio 1 mM + HEPES 10 mM + 0,5 mg/ml de G418. Las células se mantuvieron de forma rutinaria a 37° C en una atmósfera de CO₂ al 5% y una humedad relativa del 100% hasta que fueron confluentes en un 50%. 24 horas antes del uso, se incubaron las células a 30° C para aumentar la expresión de HCN1 de la membrana y se cosecharon inmediatamente antes de los experimentos de fijación de membranas. El medio de crecimiento se aspiró a vacío y las células se lavaron en 50 ml de disolución salina tamponada con fosfato de Dulbecco (sin CaCl₂ y MgCl₂; D-PBS). A continuación se disociaron las células incubándolas con 5 ml de una mezcla 1:1 de 0,1 % de Tripsina / 0,04 % de EDTA y tampón de disociación celular (CDS), a 37° C durante 2 minutos. La disociación celular se terminó mediante la adición de 5 ml de medio de crecimiento tras lo cual, las células se disociaron mecánicamente triturando suavemente 3-4 veces utilizando una pipeta de 10 ml. Las células se contaron utilizando un hemocitómetro, se recuperaron mediante centrifugación a 212 g durante 1¹/₂ minutos y se volvieron a suspender en 5 ml de disolución de registro externa filtrada (véase a

continuación). Las células se recuperaron de nuevo mediante centrifugación tal como anteriormente y se volvieron a suspender en disolución extracelular filtrada a una densidad de 2×10^6 células por ml, triturando 4 – 5 veces. Las células se transfirieron inmediatamente a IonWorks.

B: Registros de fijación de membranas

5 Se llevaron a cabo los registros automatizados de fijación de membranas utilizando el equipo IonWorks Quattro (MDS Analytical Technologies). El equipo IonWorks Quattro se cebó con disolución intracelular (en mM: gluconato de K, 130; NaCl, 10; MgCl₂, 1; EGTA, 1; HEPES, 10, pH 7,35) y disolución extracelular (in mM: gluconato de Na, 104; NaCl, 10; KCl, 30; MgCl₂, 1; CaCl₂, 1,8; Hepes, 10; glucosa, 5; pH 7,35) como disoluciones de registro. Se establecieron registros de fijación de membranas perforadas con 0,1 mg/ml de anfotericina B (en DMSO al 0,36%) y el voltaje a las células se fijó en -40 mV. Se llevaron a cabo los registros de fijación de membranas perforadas de células completas en dos ciclos separados, con etapas de voltaje de -80 mV y -120 mV durante 1 s; se llevó a cabo la sustracción del pico utilizando un pulso de voltaje de -10 mV antes de la activación del canal. Los compuestos se ensayaron a 12 concentraciones (intervalos semilogarítmicos; DMSO al 1%) y se incubaron durante 10 minutos entre los registros de la corriente. Se excluyeron las células con corrientes de células completas inferiores a 100 pS, resistencias de sellado < 50 MΩ o si la resistencia de sellado varió en > 50% durante el curso del experimento. Se midió la amplitud de las corrientes dependientes del tiempo mediada por HCN, antes y después de la adición del compuesto, como la diferencia entre la corriente registrada inmediatamente después de la transición de la capacidad en la etapa del voltaje de ensayo y se midió la corriente después que se alcanzó una amplitud en estado estacionario. Se procesaron los datos utilizando el software del sistema IonWorks Quattro versión 2 y se analizaron en la base de actividad con XLFit 4.1, utilizando una función logística de 4 parámetros normalizada. Se generaron curvas de concentración respuesta y se registró la potencia del compuesto en el canal hHCN1 como la pCE₅₀ con los intervalos de confianza adecuados.

Los compuestos de la invención tienen una actividad pCE₅₀ de más de 4 en la etapa de voltaje de -80 mV y los compuestos preferidos de la invención tienen una actividad pCE₅₀ mayor de 5 en la etapa de voltaje de -80 mV.

Ejemplo 8.

El modelo de rata (Chung) de dolor neuropático

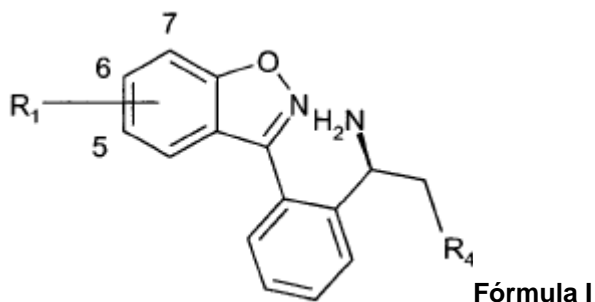
En este modelo, se indujo la alodinia mecánica mediante una ligadura estrecha del nervio espinal L5 izquierdo. Este ensayo se ha empleado con éxito para demostrar los efectos antialodínicos de los anticonvulsivos (gabapentina), antidepresivos (duloxetina) y analgésicos opioides (morfina) que se utilizan clínicamente en el tratamiento del dolor neuropático.

Se emplearon ratas Wistar macho (228-301 g de peso corporal en el momento de la cirugía) en el estudio. Las ratas se colocaron sobre un suelo de malla elevado (~ 40 cm) en jaulas perspex y se midió el umbral de retirada de las ratas frente a un estímulo mecánico (filamentos de von Frey calibrados) utilizando filamentos de fuerza creciente (2,6-167 mN). Los filamentos de von Frey se aplicaron a la superficie plantar de la pata y se determinó la respuesta al umbral utilizando el procedimiento de por encima y por debajo (Chaplan S.R. y col., J. Neurosci. Methods 53: 55-63, 1994; Dixon, J. Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 20: 441-462, 1980). Se señaló una respuesta positiva si la pata se retiró bruscamente. Se seleccionó un corte de 15 g como el límite superior del ensayo. Tras las medidas de los valores iniciales se anestesió cada animal y se ligó estrechamente el nervio espinal L5. Se dejó que los animales se recuperaran de la cirugía durante un periodo de al menos tres días. En el día de la administración del fármaco se volvieron a medir los umbrales de retirada de las patas (0 min). Inmediatamente después de esta lectura, se dosificó a las ratas por vía oral con vehículo o compuesto de ensayo y se midieron las lecturas en diversos puntos temporales tras la administración del compuesto.

Se expresaron los datos como promedio \pm s.e.m. Se llevaron a cabo los análisis estadísticos utilizando el análisis de la varianza de una vía de Kruskal-Wallis, un ensayo estadístico no paramétrico. A continuación se compararon cada uno de los grupos de tratamiento frente al grupo del vehículo, utilizando el test no paramétrico de Dunn. Se calculó también el valor de la DE₅₀ (dosis a la cual se invirtió la alodinia en aproximadamente un 50%) a una t_{max} utilizando una regresión lineal (dosis respuesta sigmoidal; pendiente variable) con constantes de 0 y 15 g (corte) para la parte inferior y la parte superior, respectivamente (software XLFit).

REIVINDICACIONES

1. Derivados de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina que tienen la Fórmula I general



en la que

- 5 R_1 representa el grupo $CONR_2R_3$ que está presente en una de las posiciones 5, 6 o 7 del anillo de 1,2-bencisoxazol;
 R_2 y R_3 son de forma independiente H o alquilo (C_{1-4}); y
 R_4 es ciclopropilo, 2-piridilo o fenilo, opcionalmente sustituido con uno o más halógenos; o una de sus sales farmacéuticamente aceptables.
- 10 2. El derivado de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina de la reivindicación 1, en el que R_4 es ciclopropilo.
3. El derivado de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina de la reivindicación 1, en el que R_4 es 2-piridilo.
4. El derivado de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina de la reivindicación 1, en el que R_4 es fenilo, opcionalmente sustituido con uno o más halógenos.
- 15 5. El derivado de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que R_1 representa el grupo $CONR_2R_3$ en la posición 6 del anillo de 1,2-bencisoxazol.
6. El derivado de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina de la reivindicación 5, en el que R_2 y R_3 son ambos metilo o hidrógeno, lo más preferible R_2 y R_3 son ambos hidrógeno.
7. El derivado de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina de la reivindicación 1 que está seleccionado entre:
- 20 - 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida;
 - 3-(2-((S)-1-amino-2-fenilet)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida;
 - 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)-N,N-dimetilbenzo[d]isoxazol-6-carboxamida;
 - 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)-N,N-dimetilbenzo[d]isoxazol-7-carboxamida;
 - 3-(2-(1-(S)-amino-2-ciclopropilet)fenil)benzo[d]isoxazol-6-carboxamida; y
 25 - 3-(2-(1-(S)-amino-2-(piridin-2-il)etil)fenil)benzo[d]isoxazol-7-carboxamida; o una de sus sales farmacéuticamente aceptable
8. El derivado de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para su uso en terapia.
9. Una composición farmacéutica que comprende un derivado de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 en premezcla con auxiliares farmacéuticamente aceptables.
- 30 10. Uso de un derivado de Fórmula I tal como se define en la reivindicación 1 en la preparación de un medicamento para el tratamiento del dolor que está mediado a través de la modulación del canal I_h , preferiblemente dolor neuropático o inflamatorio.
11. Un derivado de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para su uso en el tratamiento del dolor, que está mediado a través de la modulación del canal I_h .
- 35 12. Un derivado de 2-(1,2-bencisoxazol-3-il) bencilamina de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7 para su uso en el tratamiento del dolor neuropático o inflamatorio.