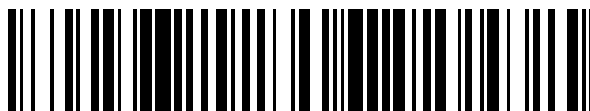


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 461 595**

51 Int. Cl.:

C07D 239/48 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **24.09.2007 E 10180595 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **05.03.2014 EP 2343281**

54 Título: **Proceso para la síntesis de derivados de fenoxi-diaminopirimidina**

30 Prioridad:

04.10.2006 US 849203 P

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

20.05.2014

73 Titular/es:

**F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH**

72 Inventor/es:

**DVORAK, CHARLES;
GREEN, KEENA LYNN y
LEE, GARY R.**

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 461 595 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

Proceso para la síntesis de derivados de fenoxi-diaminopirimidina

5 Esta invención se refiere a métodos de fabricación de compuestos para el tratamiento de enfermedades asociadas con receptores purinérgicos P2X, y más particularmente a métodos de utilización de antagonistas de P2X₃ y / o P2X_{2/3} para el tratamiento de enfermedades condiciones y trastornos genitourinarios, gastrointestinales, respiratorias, y relacionados con el dolor.

10 La vejiga urinaria es responsable de dos importantes funciones fisiológicas: almacenamiento de la orina y vaciado de la orina. Este proceso implica dos pasos principales: (1) la vejiga se llena progresivamente hasta que la tensión en sus paredes se eleva por encima de un nivel umbral; y (2) un reflejo nervioso, llamado el reflejo de micción, que vacía la vejiga o, si esto no funciona, por lo menos hace un deseo consciente de orinar. Aunque el reflejo de micción es un reflejo de la médula espinal autonómica, también puede ser inhibida o mediada por los centros en la corteza cerebral o del cerebro.

15 Las purinas, actuando a través de purinorreceptores extracelulares, están implicadas por tener una gran variedad de funciones fisiológicas y patológicas. El ATP, y en menor medida, la adenosina, pueden estimular las terminaciones nerviosas sensoriales que resulta en dolor intenso y un aumento pronunciado en la descarga del nervio sensorial. Los receptores de ATP se han clasificado en dos familias principales, los purinorreceptores P2Y y P2X, en base a la estructura molecular, mecanismos de transducción y caracterización farmacológica. Los purinorreceptores P2Y son receptores acoplados a proteínas G, mientras que los purinorreceptores P2X son una familia de canales catiónicos regulados por ATP. Los receptores purinérgicos, en particular, los receptores P2X, son conocidos por formar homomultímeros o heteromultímeros. Hasta la fecha, se han clonado, los cDNA de varios subtipos de receptores P2X incluyendo: seis receptores homoméricos, P2X₁; P2X₂; P2X₃; P2X₄; P2X₅; y P2X₇; y tres receptores heteroméricos P2X_{2/3}, P2X_{4/6}, y P2X_{1/5} (véase, por ejemplo, Chen et al (1995) Nature 377:428-431; Lewis et al (1995) Nature 377:432-435; y Burnstock (1997) Neuropharmacol. 36:1127-1139). La estructura cromosómica y el mapeo genómico de la subunidad del receptor de P2X₃ de ratón también se ha descrito (Souslova et al. (1997) Gene 195:101-111). In vitro, la co-expresión de las subunidades de los receptores P2X₂ y P2X₃ es necesaria para producir corrientes reguladas por ATP con las propiedades observadas en algunas neuronas sensoriales (Lewis et al. (1995) Nature 377:432-435).

20 Las subunidades del receptor P2X se encuentran en los aferentes en roedores y el urotelio de la vejiga humana. Existen datos que sugieren que el ATP puede liberarse de las células endoteliales / epiteliales de la vejiga urinaria o de otros órganos huecos como resultado de la distensión (Burnstock (1999) J. Anatomy 194:335-342; y Ferguson et al. (1997) J. Physiol. 505:503-511). El ATP liberado de esta manera podría tener un papel en la transmisión de información a las neuronas sensoriales de los componentes subepiteliales, por ejemplo, la propia lámina suburotelial (Namasivayam et al. (1999) BJU Intl. 84:854-860). Los receptores P2X se han estudiado en una serie de neuronas, incluyendo neuronas sensoriales, simpáticas, parasimpáticas, mesentéricas, y centrales (Zhong et al. (1998) Br. J. Pharmacol. 125:771-781). Estos estudios indican que los receptores purinérgicos desempeñan un papel en la neurotransmisión aferente desde la vejiga, y que los moduladores de los receptores P2X son potencialmente útiles en el tratamiento de trastornos de la vejiga y otras enfermedades o condiciones genitourinarias.

25 Evidencias recientes también sugieren un papel de la ATP endógena y de los receptores purinérgicos en las respuestas nociceptivas en ratones (Tsuda et al. (1999) Br. J. Pharmacol. 128:1497-1504). La activación inducida por ATP de los receptores P2X en terminales nerviosas ganglionares de la raíz dorsal en la médula espinal se ha demostrado que estimula la liberación de glutamato, un neurotransmisor clave implicado en la señalización nociceptiva (Gu y MacDermott, Nature 389:749-753 (1997)). Los receptores P2X₃ se han identificado en las neuronas nociceptivas en la pulpa dental (Cook et al., Nature 387:505-508 (1997)). El ATP liberado de las células dañadas puede así conducir al dolor mediante la activación de los receptores que contienen P2X₃ y / o P2X_{2/3} en las terminaciones nerviosas sensoriales nociceptivas. Esto es coherente con la inducción de dolor por el ATP aplicado por vía intradérmica en el modelo humano de la base de ampolla (Bleehen, Br. J. Pharmacol 62:573-577 (1978)). Los antagonistas de P2X han demostrado ser analgésicos en modelos animales (Driessen y Starke, Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol 350:618-625 (1994)). Esta evidencia sugiere que P2X₂ y P2X₃ están implicados en la nocicepción, y que los moduladores de los receptores P2X son potencialmente útiles como analgésicos.

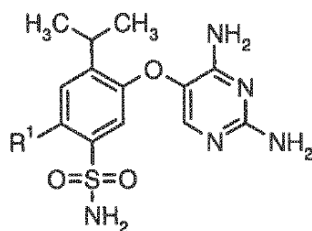
30 Otros investigadores han demostrado que los receptores P2X₃ se expresan en el colon humano, y se expresan en niveles más altos en el colon inflamado que en colon normal (Yiangou et al, Neuro-gastroenterol Mot (2001) 13:365-69). Otros investigadores han implicado el receptor de P2X₃ en la detección de la distensión o presión intraluminal en el intestino, y el inicio de las contracciones reflejas (Bian et al., J Physiol (2003) 551.1:309-22), y lo han relacionado con la colitis (Wynn et al, Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol (2004) 287:G647 -57). Brouns et al. (Am J Respir Cell Mol Biol. (2000) 23:52-61) encontraron que los receptores de P2X₃ se expresan en los órganos neuroepiteliales pulmonares (NEB), que implican el receptor en la transmisión del dolor en el pulmón. Más recientemente, otros han implicado a los receptores P2X₂ y P2X₃ en la detección de la pO₂ en NEB pulmonares (Rong et al., J. Neurosci (2003) 23 (36):11315-21).

US 2005 / 0209260 A1 describe diaminopirimidinas como antagonistas P2X₃ y P2X_{2/3} para el tratamiento de enfermedades, condiciones y trastornos genitourinarias y relacionadas con el dolor.

5 J. March, Advanced Organic Chemistry, Cuarta Edición, 1992, John Wiley & Sons, Nueva York, XP002468466, ISBN 0-471-60180-2 describe el tratamiento de cloruros de sulfonilo con amoniaco para producir sulfonamidas.

En consecuencia, existe una necesidad de métodos de preparación de compuestos que son moduladores eficaces de los receptores P2X, que incluye los receptores P2X₃ y P2X_{2/3}.

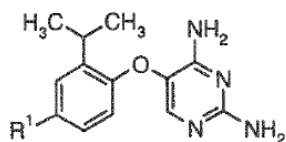
10 La invención proporciona un método para formar la amina libre de un compuesto de fórmula k;



k,

el método comprende: tratar un compuesto de fórmula h

15



h,

o una sal del mismo, en la que R¹ es hidrógeno; halo; alquilo C₂₋₃; halo-alquilo C₁₋₄; alcoxi C₁₋₄; hidroxi; halo-alcoxi C₁₋₄; hidroxi alcoxi C₁₋₄; o alquilo C₂₋₃-alquilo C₁₋₄; en disolvente de sulfolano, con ácido clorosulfónico, seguido por oxiclورو de fósforo, seguido por amoniaco en presencia de metanol, y el producto final se trata con HCl acuoso en presencia de etanol seguido por el tratamiento con hidróxido de amonio acuoso o el producto final se trata con el agua.

20

25 El método es útil para la preparación de compuestos que son moduladores eficaces de los receptores P2X₃ y P2X_{2/3}. También se describen compuestos útiles como intermediarios en los procedimientos de la invención.

25

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos usados en esta solicitud, incluyendo la descripción y reivindicaciones, tienen las definiciones que figuran a continuación. Cabe señalar que, tal como se utiliza en la especificación y las reivindicaciones adjuntas, las formas singulares "un", "uno," y "el" incluyen los referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

30

"Agonista" se refiere a un compuesto que aumenta la actividad de otro compuesto o sitio receptor.

35 "Alquilo" significa la porción hidrocarburo saturada monovalente, lineal o ramificada, que consiste únicamente de átomos de carbono e hidrógeno, que tiene de uno a doce átomos de carbono.

35

"Alquilo inferior" se refiere a un grupo alquilo de uno a seis átomos de carbono, es decir alquilo C₁₋₆. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, pentilo, n-hexilo, octilo, y dodecilo.

40

"Alqueno" significa un radical hidrocarburo monovalente lineal de dos a seis átomos de carbono o un radical hidrocarburo monovalente ramificado de tres a seis átomos de carbono, que contiene al menos un doble enlace, por ejemplo, etenilo, y propenilo.

45 "Alquino" significa un radical hidrocarburo monovalente lineal de dos a seis átomos de carbono o un radical hidrocarburo monovalente ramificado de tres a seis átomos de carbono, que contiene al menos un triple enlace, por ejemplo, etinilo, y propinilo.

45

50 "Alquieno" significa un radical de hidrocarburo saturado divalente saturado lineal de uno a seis átomos de carbono o un radical de hidrocarburo saturado divalente ramificado de tres a seis átomos de carbono, por ejemplo, metileno, etileno, 2,2-dimetiletileno, propileno, 2-metilpropileno, butileno, y pentileno.

50

"Alcoxi" significa una porción de la fórmula -OR, en la que R es una porción alquilo tal como se define en el presente documento. Los ejemplos de porciones alcoxi incluyen metoxi, etoxi, e isopropoxi.

5 "Alcoxialquilo" significa una porción de la fórmula R^a-O-R^b , en la que R^a es alquilo y R^b es alquileo tal como se define en el presente documento. Grupos alcoxialquilo ejemplares incluyen, a modo de ejemplo, 2-metoxietilo, 3-metoxipropilo, 1-metil-2-metoxietilo, 1-(2-metoxietil)-3-metoxipropilo, y 1-(2-metoxietil)-3-metoxipropilo.

10 "Alquilcarbonilo" significa una porción de la fórmula -R'-R", en la que R' es oxo y R" es alquilo tal como se define en el presente documento.

"Alquilsulfonilo" significa una porción de la fórmula -R'-R", en la que R' es -SO₂- y R" es alquilo tal como se define en el presente documento.

15 "Alquilsulfonilalquilo" significa una porción de la fórmula -R'-R"-R"" en la que R' es alquileo, R" es -SO₂- y R"" es alquilo tal como se define en el presente documento.

"Alquilamino" significa una porción de la fórmula -NR-R' en la que R es hidrógeno o alquilo y R' es alquilo como se define en el presente documento.

20 "Alcoxi-amino" significa una porción de la fórmula -NR-OR' en la que R es hidrógeno o alquilo y R' es alquilo como se define en el presente documento.

25 "Alquilsulfanilo" significa una porción de la fórmula -SR en la que R es alquilo como se define en el presente documento.

30 "Aminoalquilo" significa un grupo -R-R' en el que R' es amino y R es alquileo tal como se define en el presente documento. "Aminoalquilo" incluye aminometilo, aminoetilo, 1-aminopropilo, y 2-aminopropilo. La porción amino del "aminoalquilo" puede estar sustituida una o dos veces con alquilo para proporcionar "alquilaminoalquilo" y "dialquilaminoalquilo", respectivamente. "Alquilaminoalquilo" incluye metilaminometilo, metilaminoetilo, metilaminopropilo, y etilaminoetilo. "Dialquilaminoalquilo" incluye dimetilaminometilo, dimetilaminoetilo, dimetilaminopropilo, y N-metil-N-etilaminoetilo.

35 "Aminoalcoxi" significa un grupo -O-R' en el que R' es amino y R es alquileo tal como se define en el presente documento.

"Alquilsulfonilamido" significa una porción de la fórmula -NR'SO₂-R en la que R es alquilo y R' es hidrógeno o alquilo.

40 "Aminocarboniloxialquilo" o "carbamilalquilo" significa un grupo de la fórmula -R-O-C(O)-NR'R" en la que R es alquileo y R', R" son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo como se define en el presente documento.

"Alquinilalcoxi" significa un grupo de la fórmula -O-R-R' en la que R es alquileo y R' es alquinilo como se define aquí.

45 "Antagonista" se refiere a un compuesto que disminuye o impide la acción de otro compuesto o sitio receptor.

"Anilina" tal como se utiliza aquí se refiere a un compuesto de fórmula Ar-NH₂ en la que Ar es arilo o heteroarilo como se define aquí. "Anilina" por lo tanto abarca tanto las arilaminas y heteroarilaminas en general en el que el átomo de nitrógeno del grupo amino está unido a un átomo de carbono aromático. Las anilinas preferidas son compuestos aminofenilo. "Anilina" puede estar opcionalmente sustituida como se define en el presente documento.

50 "Arilo" significa una porción hidrocarburo aromático cíclico monovalente que consiste de un anillo aromático mono-, bi- o tricíclico. El grupo arilo puede estar opcionalmente sustituido como se define en el presente documento. Los ejemplos de porciones arilo incluyen fenilo, naftilo, fenantrilo, fluorenilo, indenilo, pentalenilo, azuleno, oxidifenilo, bifenilo, metilendifenilo, aminodifenilo, difenilsulfido, difenilsulfonilo, difenilisoprop-ilidenil, benzodioxanilo, benzofuranilo, benzodioxililo, benzopiranilo, benzoxazinilo, benz-oxazinonilo, benzopiperadinilo, benzopiperazinilo, benzopirrolidinilo, benzomorfolinilo, metilendioxifenilo, y etilendioxifenilo opcionalmente sustituidos, incluidos los derivados parcialmente hidrogenados de los mismos.

60 "Ari-alquilo" y "aralquilo", que pueden utilizarse indistintamente, significan un radical -R^aR^b en el que R^a es un grupo alquileo y R^b es un grupo arilo tal como se define en el presente documento; por ejemplo, fenilalquilos tales como bencilo, feniletilo, y 3-(3-clorofenil)-2-metilpentilo son ejemplos de arilalquilo.

65 "Ari-alquilo" significa un grupo de la fórmula -R-R' en el que R es alquileo y R' es arilo tal como se define en el presente documento.

"Ari-sulfonilo" significa un grupo de la fórmula -SO₂-R en la que R es arilo como se define aquí.

"Ariloxi" significa un grupo de la fórmula -OR en el que R es arilo tal como se define en el presente documento.

5 "Aralquiloxi" significa un grupo de la fórmula -O-R-R" en el que R es alquileo y R' es arilo tal como se define en el presente documento.

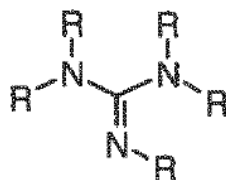
"Reactivo de Bredebeck" como se usa aquí significa alcoxiobis-(dialquilamino) metano en el que las porciones "alquilo" son cualquier grupo alquilo inferior y la porción alcoxi es cualquier alquilo inferior. Preferiblemente, "reactivo de Bredebeck" es t- butoxibis (dimetilamino) metano.

10 "Cianoalquilo" significa una porción de la fórmula -R'-R", en la que R' es alquileo tal como se define en el presente documento y R" es ciano o nitrilo.

15 "Cicloalquilo" significa una porción carbocíclica saturada monovalente que consiste de anillos mono-o bicíclicos. El cicloalquilo puede estar opcionalmente sustituido con uno o más sustituyentes, en donde cada sustituyente es independientemente hidroxilo, alquilo, alcoxi, halo, haloalquilo, amino, monoalquilamino, o dialquilamino, a menos que se indique expresamente lo contrario. Los ejemplos de porciones cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, y cicloheptilo, incluidos los derivados parcialmente insaturados de los mismos.

20 "Cicloalquilalquilo" significa una porción de la fórmula -R'- R", en la que R' es alquileo y R" es cicloalquilo como se define aquí.

"Guanidinilo" significa un compuesto de la fórmula



25 en la que cada R es independientemente hidrógeno, alquilo, un grupo saliente o un grupo fácilmente hidrolizable. R es preferiblemente hidrógeno.

30 "Heteroalquilo" significa un radical alquilo como se define aquí en donde uno, dos o tres átomos de hidrógeno han sido reemplazados con un sustituyente seleccionado independientemente entre el grupo que consiste en -OR^a, -NR^bR^c, y -S(O)_nR^d (donde n es un número entero de 0 a 2), con el entendimiento de que el punto de unión del radical heteroalquilo es a través de un átomo de carbono, en el que R^a es hidrógeno, acilo, alquilo, cicloalquilo, o cicloalquilalquilo; R^b y R^c son independientemente uno del otro hidrógeno, acilo, alquilo, cicloalquilo, o cicloalquilalquilo; y cuando n es 0, R^d es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, o cicloalquilalquilo, y cuando n es 1 o 2, R^d es alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, amino, acilamino, monoalquilamino, o dialquilamino. Los ejemplos representativos incluyen 2-hidroxi-etilo, 3-hidroxi-propilo, 2-hidroxi-1-hidroximetileto, 2,3-dihidroxi-propilo, 1-hidroxi-2-hidroximetileto, 3-hidroxi-butilo, 2,3-dihidroxi-butilo, 2-hidroxi-1-metilpropilo, 2-amino-etilo, 3-aminopropilo, 2-metilsulfonileto, aminosulfonileto, aminosulfonileto, aminosulfonilpropilo, metilaminosulfonileto, metilaminosulfonileto, y metilaminosulfonilo-propilo.

45 "Heteroarilo" significa un radical monocíclico o bicíclico de 5 a 12 átomos de anillo, que tiene al menos un anillo aromático que contiene uno, dos, o tres heteroátomos en el anillo seleccionados entre N, O, o S, los átomos de anillo restantes son C, con el entendimiento de que el punto de unión del radical heteroarilo estará en un anillo aromático. El anillo heteroarilo puede estar opcionalmente sustituido como se define en el presente documento. Los ejemplos de porciones heteroarilo incluyen imidazolilo, oxazolilo, isoxazolilo, tiazolilo, isotiazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, pirazinilo, tienilo, benzotienilo, tiofenilo, furanilo, piranilo, piridilo, pirrolilo, pirazolilo, pirimidilo, quinolinilo, isoquinolinilo, benzofurilo, benzotiofenilo, benzotiofuranilo, benzimidazolilo, benzoxazolilo, benzooxadiazolilo, benzotiazolilo, benzotiadiazolilo, benzopiranilo, indolilo, isoindolilo, triazolilo, triazinilo, quinoxalinilo, purinilo, quinazolinilo, quinolizínilo, naftiridinilo, pteridinilo, carbazolilo, azepinilo, diazepinilo, y acridinilo opcionalmente sustituidos, incluyendo derivados parcialmente hidrogenados de los mismos.

50 "Heteroarilalquilo" o "heteroalquilo" significa un grupo de la fórmula -R-R' en el que R es alquileo y R' es heteroarilo como se define aquí.

55 "Heteroarilsulfonilo" significa un grupo de la fórmula -SO₂-R en el que R es heteroarilo como se define aquí.

"Heteroariloxi" significa un grupo de la fórmula -O-R en el que R es heteroarilo tal como se define en el presente documento.

60

"Heteroaralquilo" significa un grupo de la fórmula -O-R-R" en el que R es alquileo y R' es heteroarilo como se define aquí.

5 Los términos "halo", "halógeno" y "haluro", que pueden utilizarse indistintamente, se refieren a un sustituyente flúor, cloro, bromo, o yodo.

10 "Haloalquilo" significa alquilo tal como se define en el presente documento en el que uno o más hidrógeno ha sido sustituido con el mismo o diferente halógeno. Los ejemplos de haloalquilos incluyen -CH₂Cl, -CH₂CF₃, -CH₂CCl₃, y perfluoroalquilo (por ejemplo, -CF₃).

"Haloalcoxi" significa una porción de la fórmula -OR, en la que R es una porción haloalquilo como se define aquí. Un ejemplo de haloalcoxi es difluorometoxi.

15 "Heterocicloamino" significa un anillo saturado en el que al menos un átomo del anillo es N, NH o N-alquilo y los restantes átomos del anillo forman un grupo alquileo.

20 "Heterociclilo" significa una porción saturado monovalente, que consiste de uno a tres anillos, que incorpora uno, dos, o tres o cuatro heteroátomos (elegidos entre nitrógeno, oxígeno o azufre). El anillo heterociclilo puede estar opcionalmente sustituido como se define en el presente documento. Los ejemplos de porciones heterociclilo incluyen piperidinilo opcionalmente sustituido, piperazinilo, homopiperazinilo, azepinilo, pirrolidinilo, pirazolidinilo, imidazolinilo, imidazolidinilo, piridinilo, piridazinilo, pirimidinilo, oxazolidinilo, isoxazolidinilo, morfolinilo, tiazolidinilo, isotiazolidinilo, quinucidinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, bencimidazolilo, tiadiazolilidinilo, benzotiazolidinilo, benzoazolidinilo, dihidrofurilo, tetrahydrofurilo, dihidropirano, tetrahydropirano, tiamorfolinilo, tiamorfolinilsulfóxido, tiamorfolinilsulfona, dihidroquinolinilo, dihidroisoquinolinilo, tetrahydroquinolinilo, y tetra-hidroisoquinolinilo.

25 "Heterocicilalquilo" significa una porción de la fórmula -R-R' en la que R es alquileo y R' es heterociclilo tal como se define en el presente documento.

30 "Heterociciloxi" significa una porción de la fórmula -OR en la que R es heterociclilo tal como se define en el presente documento.

"Heterocicilalcoxi" significa una porción de la fórmula -O-R' en la que R es alquileo y R' es heterociclilo tal como se define en el presente documento.

35 "Hidroxicoxi" significa una porción de la fórmula -OR en el que R es hidroxialquilo como se define aquí.

"Hidroxicilamino" significa una porción de la fórmula -NR-R' en la que R es hidrógeno o alquilo y R' es hidroxialquilo como se define aquí.

40 "Hidroxicilaminoalquilo" significa una porción de la fórmula -R-NR'-R" en la que R es alquileo, R' es hidrógeno o alquilo, y R" es hidroxialquilo como se define aquí.

"Hidroxicarbonilalquilo" o "carboxialquilo" significa un grupo de la fórmula -R-(CO)-OH en la que R es alquileo tal como se define en el presente documento.

45 "Hidroxicilalquilocarbonilalquilo" o "hidroxicilalquilocarbonilalquilo" significa un grupo de la fórmula -R-C(O)-O-R-OH en donde cada R es alquileo y puede ser el mismo o diferente.

50 "Hidroxicilalquilo" significa una porción alquilo como se define aquí, sustituido con uno o más, preferiblemente uno, dos o tres grupos hidroxilo, siempre que el mismo átomo de carbono no lleve más de un grupo hidroxilo. Los ejemplos representativos incluyen hidroximetilo, 2-hidroxietilo, 2-hidroxipropilo, 3-hidroxipropilo, 1-(hidroximetil)-2-metilpropilo, 2-hidroxibutilo, 3-hidroxibutilo, 4-hidroxibutilo, 2,3-dihidroxipropilo, 2-hidroxil-1-hidroximetiletilo, 2,3-dihidroxibutilo, 3,4-dihidroxibutilo y 2-(hidroximetil)-3-hidroxipropilo.

55 "Hidroxicicloalquilo" significa una porción cicloalquilo como se define aquí en donde uno, dos o tres átomos de hidrógeno en el radical cicloalquilo han sido reemplazados con un sustituyente hidroxilo. Los ejemplos representativos incluyen 2-, 3-, y 4-hidroxiciclohexilo.

60 "Disolvente aprótico polar" significa un disolvente que consta de moléculas que tienen grupos polares sobre el mismo, pero sin protones móviles. Disolventes apróticos polares ilustrativos incluyen dimetilformamida, acetonitrilo, sulfóxido de dimetilo, N, N-dimetil acetamida, N-metil pirrolidinona, tetrahydrofurano, dioxano, acetato de etilo, tetrahydropirano, piridina, acetona, 2-propanona, 2-butanona, etilenglicol dimetil éter, cloruro de metileno, y cloroformo.

65 "Urea" o "ureido" significa un grupo de la fórmula -NR'-C(O)-NR"R" en la que R', R" y R" son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo.

"Carbamato" significa un grupo de la fórmula $-OC(O)-NR'R''$ en la que R' y R'' son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo.

5 "Carboxi" significa un grupo de la fórmula $-OC(O)-OH$.

"Sulfonamido" significa un grupo de la fórmula $-SO_2-NR'R''$ en la que R', R'' y R''' son cada uno independientemente hidrógeno o alquilo.

10 "Opcionalmente sustituido", cuando se usa en asociación con "arilo", "fenilo", "heteroarilo" "cicloalquilo", "heterociclilo", o "anilina" significa un arilo, fenilo, heteroarilo, ciclohexilo, heterociclilo o anilina que está opcionalmente sustituido independientemente con uno a cuatro sustituyentes, preferiblemente uno o dos sustituyentes seleccionados entre alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, heteroalquilo, hidroxialquilo, halo, nitro, ciano, hidroxilo, alcoxi, amino, acilamino, mono-alquilamino, di-alquilamino, haloalquilo, haloalcoxi, heteroalquilo, -COR (en el que R es hidrógeno, alquilo, fenilo o fenilalquilo), $-(CR'R'')_n-COOR$ (en donde n es un número entero de 0 a 5, R' y R'' son independientemente hidrógeno o alquilo, y R es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, fenilo o fenilalquilo), o $-(CR'R'')_n-CONR^aR^b$ (donde n es un número entero de 0 a 5, R' y R'' son independientemente hidrógeno o alquilo, y R^a y R^b son, independientemente uno de otro, hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloalquilalquilo, fenilo o fenilalquilo).

20 "Grupo saliente" significa el grupo con el significado convencionalmente asociado con éste en química orgánica sintética, es decir, un átomo o grupo desplazable bajo condiciones de reacción de sustitución. Ejemplos de grupos salientes incluyen halógeno, alcano- o arilensulfonilo, tal como metanosulfonilo, etanosulfonilo, tiometilo, bencenosulfonilo, tosilo, y tienilo, dihalofosfinoilo, bencilo opcionalmente sustituido, isopropilo, y acilo.

25 "Modulador" significa una molécula que interacciona con una diana. Las interacciones incluyen agonista y antagonista, como se define aquí.

30 "Opcional" u "opcionalmente" significa que el evento o circunstancia descrito a continuación pueden producirse pero no de forma necesaria y que la descripción incluye casos en los que ocurra el evento o circunstancia y casos en los que no sea así.

"Enfermedad" y "estado de enfermedad" significa cualquier enfermedad, condición, síntoma, trastorno o indicación.

35 "Disolvente orgánico inerte" o "disolvente inerte" significa que el disolvente es inerte bajo las condiciones de la reacción que se describen junto con el mismo, incluyendo por ejemplo, benceno, tolueno, acetonitrilo, tetrahidrofurano, N, N-dimetilformamida, cloroformo, cloruro de metileno o diclorometano, dicloroetano, éter dietílico, acetato de etilo, acetona, metil etil cetona, metanol, etanol, propanol, isopropanol, terc-butanol, dioxano, y piridina. A menos que se especifique lo contrario, los disolventes utilizados en las reacciones de la presente invención son disolventes inertes.

40 "Farmacéuticamente aceptable" significa que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que es generalmente segura, no tóxica, y ni biológicamente ni de otra manera indeseable e incluye que es aceptable para uso veterinario así como uso farmacéutico humano.

45 "Sales farmacéuticamente aceptables" de un compuesto significa sales que son farmacéuticamente aceptables, como se define aquí, y que poseen la actividad farmacológica deseada del compuesto original. Tales sales incluyen: sales de adición de ácido formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, y ácido fosfórico; o formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido bencenosulfónico, ácido benzoico, ácido canforsulfónico, ácido cítrico, ácido etanosulfónico, ácido fumárico, ácido glucoheptónico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido glicólico, ácido hidroxinaftoico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido láctico, ácido maleico, ácido málico, ácido malónico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido mucónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido propiónico, ácido salicílico, ácido succínico, ácido tartárico, ácido p-toluenosulfónico, y ácido trimetilacético; o las sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto original se reemplaza por un ion metálico, por ejemplo, un ion de metal alcalino, un ión alcalinotérreo, o un ion de aluminio; o se coordina con una base orgánica o inorgánica. Las bases orgánicas aceptables incluyen dietanolamina, etanolamina, N-metilglucamina, trietanolamina, y trometamina. Las bases inorgánicas aceptables incluyen hidróxido de aluminio, hidróxido de calcio, hidróxido de potasio, carbonato de sodio e hidróxido de sodio.

60 Las sales farmacéuticamente aceptables preferidas son las sales formadas a partir de ácido acético, ácido clorhídrico, ácido sulfúrico, ácido metanosulfónico, ácido maleico, ácido fosfórico, ácido tartárico, ácido cítrico, sodio, potasio, calcio, zinc, y magnesio.

65 El término "sal" o "sales" como se utiliza aquí incluye "sales farmacéuticamente aceptables" tal como se definen anteriormente, así como cualesquiera otras sales útiles en los procesos sintéticos.

Debe entenderse que todas las referencias a sales o sales farmacéuticamente aceptables incluyen formas de adición de solvente (solvatos) o formas cristalinas (polimorfos) como se define aquí, de la misma sal de adición de ácido.

5 "Grupo protector" o "grupo protector" significa el grupo que bloquea selectivamente un sitio reactivo en un compuesto multifuncional tal que una reacción química puede llevarse a cabo selectivamente en otro sitio reactivo no protegido en el significado convencionalmente asociado con éste en la química sintética. Ciertos procesos de esta invención se basan en grupos protectores para bloquear el nitrógeno reactivo y / o átomos de oxígeno presentes en los reactivos. Por ejemplo, los términos "grupo protector de amino" y "grupo protector de nitrógeno" se
10 utilizan aquí de forma intercambiable y se refieren a aquellos grupos orgánicos destinados a proteger el átomo de nitrógeno contra reacciones indeseables durante los procedimientos sintéticos. Los grupos protectores de nitrógeno ejemplares incluyen trifluoroacetilo, acetamido, bencilo (Bn), benciloxicarbonilo (carbobenciloxi, CBZ), p-metoxibenciloxicarbonilo, p-nitrobenciloxicarbonilo, y terc-butoxicarbonilo (BOC). El experto en la técnica sabrá cómo elegir un grupo para facilitar la eliminación y para la capacidad de resistir las siguientes reacciones.

15 "Solución" como se usa aquí pretende abarcar los líquidos en el que un reactivo o reactante está presente en un disolvente en forma disuelta (como un soluto) o está presente en forma de partículas, no disueltas, o ambas. Por lo tanto, en una "solución", se contempla que el soluto pueda no estar totalmente disuelto en la misma y el soluto sólido puede estar presente en la dispersión o forma de suspensión. Por consiguiente, una "solución" de un reactivo o reactante particular, está destinado a abarcar suspensiones y dispersiones, así como soluciones, de tales reactivos o reactantes. "Solución" y "suspensión" se puede usar en el presente documento de forma intercambiable.

20 "Disolvente", como se usa en el presente documento pretende abarcar líquidos que disuelven completamente un reactivo o reactante expuesto al disolvente, así como líquidos que disuelven sólo parcialmente el reactivo o reactante o que actúan como dispersantes para el reactivo o reactante. Por lo tanto, cuando una reacción particular se lleva a cabo en un "disolvente", se contempla que algunos o todos los reactivos o reactantes presentes no estén en forma disuelta.

25 "Solvatos" significa formas de adición de disolvente que contienen cantidades estequiométricas o bien no estequiométricas de disolvente. Algunos compuestos tienen una tendencia a atrapar una proporción molar fija de moléculas de solvente en el estado sólido cristalino, formando así un solvato. Si el disolvente es agua, el solvato formado es un hidrato, cuando el disolvente es alcohol, el solvato formado es un alcoholato. Los hidratos se forman por la combinación de una o más moléculas de agua con una de las sustancias en las que el agua retiene su estado molecular como H₂O, tal combinación es capaz de formar uno o más hidratos. Un solvato puede comprender proporciones diferentes de número de moléculas o moles de compuesto por molécula o mol de disolvente presente en el solvato. Por ejemplo, un solvato puede comprender una relación 1:1 (mono-solvato), una relación 2:1 (hemi-solvato), una relación 1:2 (di-solvato), de compuesto a disolvente.

30 "Sujeto" significa mamíferos y no mamíferos. Mamíferos significa cualquier miembro de la clase de los mamíferos, incluidos los seres humanos; primates no humanos tales como chimpancés y otros simios y especies de monos; animales de granja como vacas, caballos, ovejas, cabras y cerdos; animales domésticos tales como conejos, perros, y gatos; animales de laboratorio incluyendo roedores, tales como ratas, ratones y conejillos de indias. Ejemplos de no mamíferos incluyen aves. El término "sujeto" no denota una edad o sexo particular.

35 "Trastornos del tracto urinario" o "uropatía" que se utiliza de forma intercambiable con "síntomas del tracto urinario" significa los cambios patológicos en el tracto urinario. Los ejemplos de trastornos del tracto urinario incluyen incontinencia, hipertrofia prostática benigna (HBP), prostatitis, hiperreflexia del detrusor, obstrucción de la salida, frecuencia urinaria, nicturia, urgencia urinaria, vejiga hiperactiva, hipersensibilidad pélvica, incontinencia de urgencia, uretritis, prostatodinia, cistitis, e hipersensibilidad idiopática de la vejiga.

40 "Estados de enfermedad asociados con el tracto urinario" o "estados de enfermedad del tracto urinario" o "uropatía" que se utiliza de manera intercambiable con "síntomas del tracto urinario" significan los cambios patológicos en el tracto urinario o disfunción del músculo liso de la vejiga urinaria o su inervación causando un trastorno del almacenamiento o del vaciado. Los síntomas del tracto urinario incluyen vejiga hiperactiva (también conocida como hiperactividad del detrusor), obstrucción de la salida, insuficiencia de salida e hipersensibilidad pélvica.

45 "Vejiga hiperactiva" o "hiperactividad del detrusor" incluye los cambios manifestados sintomáticamente como urgencia, frecuencia, capacidad vesical alterada, incontinencia, umbral de micción, contracciones inestables de la vejiga, espasticidad del esfínter, hiperreflexia del detrusor (vejiga neurogénica), e inestabilidad del detrusor.

50 "Obstrucción de la salida" incluye la hipertrofia benigna de próstata (HBP), la estenosis de uretra, los tumores, las tasas de flujo bajas, dificultad para iniciar la micción, urgencia y dolor suprapúbico.

55 "Insuficiencia de la salida" incluye hipermovilidad uretral, deficiencia intrínseca del esfínter, incontinencia mixta, e incontinencia de esfuerzo.

"Hipersensibilidad pélvica" incluye dolor pélvico, cistitis intersticial (celular), prostatodinia, prostatitis, vulvodinia, uretritis, orquialgia y vejiga hiperactiva.

5 "Trastorno respiratorio" o "enfermedad respiratoria" se refiere a la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, y broncoespasmo.

10 "Cantidad terapéuticamente efectiva" significa una cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para tratar un estado de enfermedad, es suficiente para efectuar tal tratamiento para el estado de enfermedad. La "cantidad terapéuticamente efectiva" variará dependiendo del compuesto, estado de la enfermedad que se está tratando, la gravedad de la enfermedad tratada, la edad y la salud relativa del sujeto, la vía y la forma de administración, a juicio del médico o veterinario que atiende y de otros factores.

15 Los términos "aquellos definidos anteriormente" y "los que se definen en este documento" cuando se hace referencia a una variable incorpora por referencia la definición amplia de la variable así como las definiciones preferidas, más preferidas y las aún más preferidas, si las hubiere.

"Tratar" o "tratamiento" de un estado de enfermedad incluye:

20 (i) prevenir el estado de enfermedad, es decir hacer que los síntomas clínicos del estado de enfermedad no se desarrollen en un sujeto que puede estar expuesto o predispuesto al estado patológico, pero que todavía no experimenta o manifiesta los síntomas del estado de enfermedad.

25 (ii) inhibir el estado de enfermedad, es decir, detener el desarrollo del estado de enfermedad o sus síntomas clínicos, o

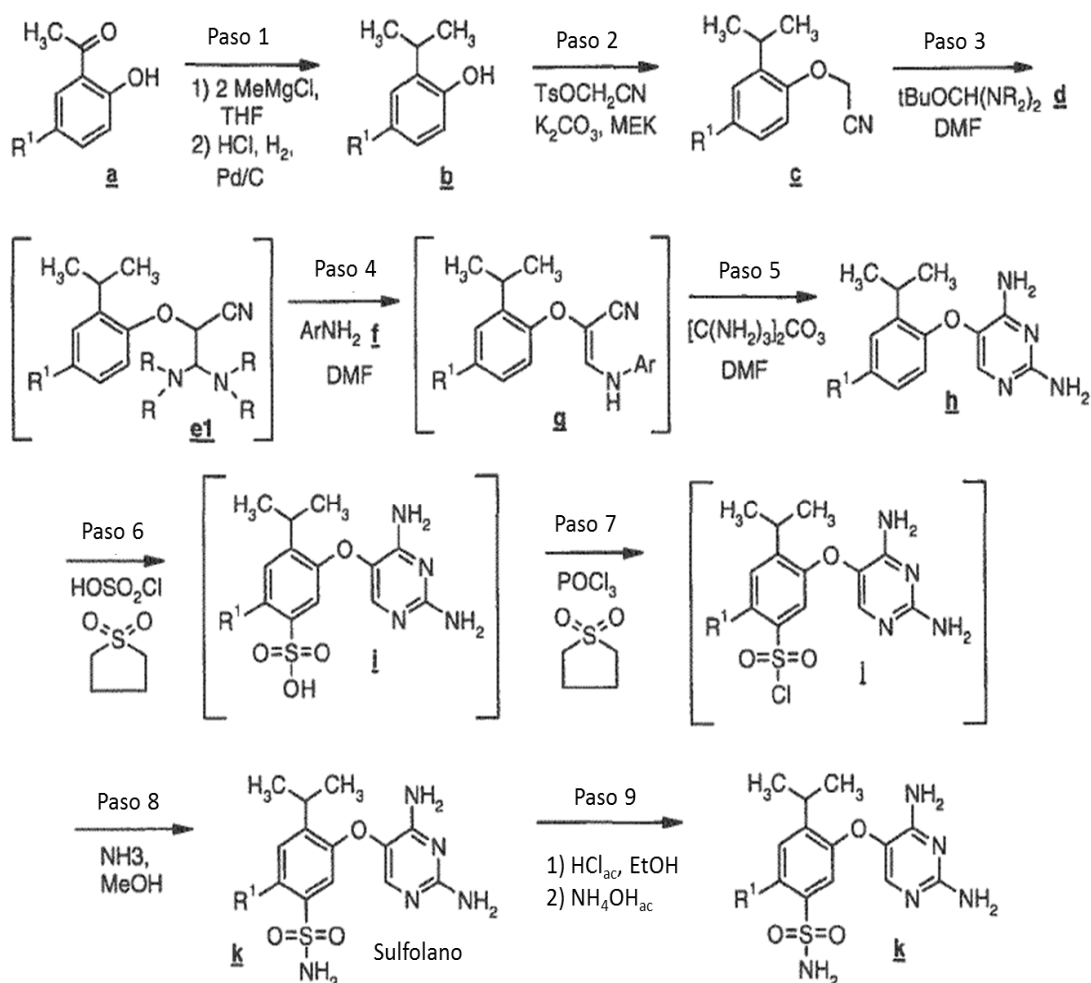
(iii) aliviar el estado de enfermedad, es decir, provocar la regresión temporal o permanente del estado de enfermedad o sus síntomas clínicos.

30 Los términos "tratar", "poner en contacto" y "reaccionar" cuando se hace referencia a una reacción química significa añadir o mezclar dos o más reactivos en condiciones apropiadas para producir el producto indicado y / o deseado. Se debe apreciar que la reacción que produce el producto indicado y / o deseado puede no necesariamente resultar directamente de la combinación de dos reactivos que se añadieron inicialmente, es decir, puede haber uno o más intermediarios que se producen en la mezcla, que en última instancia conduce a la formación del producto indicado y / o deseado.

35 En general, la nomenclatura utilizada en esta Solicitud está basada en AUTONOMTM v.4.0, un sistema computerizado del Instituto Beilstein para la generación de la nomenclatura sistemática de la IUPAC. Las estructuras químicas mostradas en este documento se prepararon utilizando la versión ISIS 2.2. Cualquier valencia abierta que aparezca en un átomo de carbono, oxígeno o nitrógeno en las estructuras aquí indica la presencia de un átomo de hidrógeno. Cuando un centro quiral está presente en una estructura pero no se muestra una estereoquímica específica, ambos estereoisómeros asociados con el centro quiral están abarcados por la estructura.

40 US2005/0209260 da a conocer moduladores eficaces de los receptores P2X₃ y P2X_{2/3} y usos de estos compuestos para el tratamiento de enfermedades mediadas por el receptor P2X₃ y P2X_{2/3}. Esta invención proporciona métodos útiles para la preparación de tales compuestos, y productos químicos intermedios útiles en tales métodos.

45 Los métodos de la invención se comprenderán de forma más completa si se observa en primer lugar el Esquema A a continuación, en el que R es alquilo inferior y puede ser el mismo o diferente en cada realización, y Ar y R¹ son como se han definido en el presente documento. Los compuestos intermediarios indicados entre paréntesis, en 50 ciertas realizaciones, pueden no requerir su aislamiento.



Esquema A

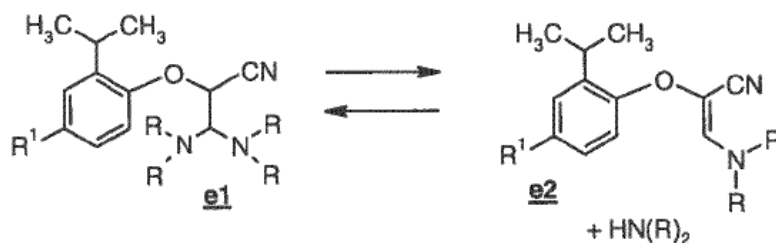
5 En el paso 1 del esquema A, el compuesto acetofenona a se trata con un reactivo de Grignard de metilo, tal como cloruro de metilmagnesio o bromuro de metilmagnesio, seguido de una hidrogenación bajo condiciones ácidas, para formar el fenol isopropilo compuesto b. Esta reacción puede llevarse a cabo, por ejemplo, en condiciones de disolventes polares, tal como una solución con THF (tetrahidrofurano), bajo condiciones de temperatura ambiente. Numerosos compuestos acetofenona a que pueden utilizarse en la invención se pueden preparar por acilación de compuestos de fenilo sustituidos o mediante técnicas convencionales bien conocidas en la materia.

10 En muchas realizaciones de la invención, la hidrogenación del paso 1 puede llevarse a cabo después de la separación y aislamiento del alcohol terciario producto de la reacción de Grignard (no se muestra), que resulta del tratamiento de a con un reactivo de Grignard de metilo.

15 En el paso 2, el compuesto fenol b se trata con un agente de alquilación cianometilo para formar el compuesto éter de nitrilo c. El agente alquilante cianometilo puede ser, por ejemplo, tolueno-4-sulfonato de cianometilo como se muestra en el Esquema A. En ciertas realizaciones bromoacetoniitrilo, cloroacetoniitrilo, o como agente de alquilación puede ser utilizado en lugar de tolueno-4-sulfonato de cianometilo. La alquilación del paso 2 puede llevarse a cabo bajo condiciones de disolvente polar aprótico y en presencia de una base débil, tal como el carbonato de potasio. En ciertas realizaciones, la reacción del agente alquilante cianometilo k con el fenol b puede llevarse a cabo en suspensión del agente alquilante cianometilo k, el fenol b y carbonato de potasio en un disolvente cetona, tal como 2-butanona, acetona, y metilisobutilcetona.

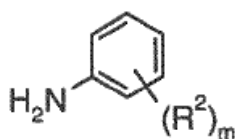
25 El compuesto éter de cianometilo c se trata con el reactivo de Bredereck d en el paso 3, para formar un compuesto aminorado e1. Esta reacción puede llevarse a cabo en una solución de dimetilformamida (DMF) o una solución de otro disolvente aprótico polar adecuado. El "reactivo de Bredereck" como se utiliza aquí en general significa (alcoxibis(dialquilamino)metano), en el que la porción "alquilo" R es un alquilo inferior y la porción alcoxi (que se muestra como t-butoxi en el Esquema A) es un alcoxi inferior. En muchas realizaciones de la invención, la porción alquilo es metilo, y la porción alcoxi es terc-butoxi (es decir, t-butoxibis(dimetilamino)metano).

En muchas realizaciones el compuesto amina e1, mientras se encuentra en solución, está en equilibrio con la cianoenamina e2, como se muestra a continuación.



5 En muchas realizaciones el compuesto amina e1 no puede aislarse como un sólido, pero en cambio puede aislarse en forma de compuesto cianoenamina e2. En muchas realizaciones de la invención, el paso 4 puede llevarse a cabo directamente sin necesidad de aislar los compuestos e1 o e2.

10 En el paso 4, el compuesto amina e1 (o compuesto e2 o una mezcla de compuestos e1 y e2) se hace reaccionar con un reactivo anilina f para dar lugar al compuesto anilina enamina g. El reactivo de anilina utilizado en el paso 4 puede comprender, por ejemplo, un compuesto de fórmula Ar-NH₂ en la que Ar es arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido como se define aquí. El reactivo de anilina está preferiblemente en forma de sal, tal como una sal hidroc্লoruro u otra sal estable de la correspondiente base libre anilina. En muchas realizaciones, el reactivo de anilina puede ser una sal hidroc্লoruro de fenilamina de fórmula:



20 en la que m es de 0 a 4 y R⁵ es cualquier grupo sustituyente compatible con las condiciones de disolvente y de reacción del paso 4. Preferiblemente m es 0. La reacción del paso 4 se puede llevar a cabo bajo condiciones de disolvente apróticos polares como las que ofrece el DMF. En muchas realizaciones de la invención, el compuesto anilina enamina g no debe aislarse, y el paso 5 a continuación puede llevarse a cabo directamente, mientras la anilina enamina h permanece en solución.

25 En el paso 5, el compuesto anilina enamina g se trata con un reactivo de guanidina para dar la diaminopirimidina h. El reactivo de guanidina puede comprender, por ejemplo, carbonato de guanidina u otra sal estable de guanidina. La reacción del paso 5 puede llevarse a cabo en un disolvente aprótico polar como DMF, y en muchas realizaciones puede llevarse a cabo sin necesidad de aislamiento del compuesto g o e1, como se ha indicado anteriormente.

30 En el paso 6, el compuesto diaminopirimidina h se trata con ácido clorosulfónico para proporcionar el compuesto ácido sulfónico i. El tratamiento del compuesto h con ácido clorosulfónico se lleva a cabo bajo condiciones de disolvente aprótico polar, preferiblemente utilizando sulfolano como disolvente (también conocido como tetrametilensulfona o dióxido de tetrahidrotiofeno). En muchas realizaciones, el compuesto ácido sulfónico i no debe aislarse, y el paso 7 a continuación puede llevarse a cabo directamente mientras que el compuesto de ácido sulfónico i permanece en solución. El compuesto de ácido sulfónico i en muchas realizaciones puede estar en forma de sal. Tales sales del compuesto i incluyen, por ejemplo, la sal de clorhidrato, la sal de sulfato, sal de fosfato, sal de clorosulfato y la sal de clorofosfato, o solvatos de tales sales de adición.

40 En el paso 7, el compuesto ácido sulfónico i se trata con oxicloruro de fósforo para producir el compuesto cloruro del ácido sulfónico j. La reacción de cloración del paso 7 se lleva a cabo bajo condiciones de disolvente aprótico polar, preferiblemente utilizando sulfolano como disolvente. En muchas realizaciones, el compuesto i puede permanecer en solución desde el paso 6, sin necesidad de aislarlo antes de realizar el paso 7.

45 En el paso 8, el compuesto cloruro de ácido sulfónico i se hace reaccionar con amoníaco para producir el compuesto aminosulfonilfenoxidiaminopirimidina k. Esta reacción se puede llevar a cabo en presencia de metanol u otro disolvente prótico polar. En muchas realizaciones de la invención los compuestos cloruro de ácido sulfónico del paso 7 se pueden tratar directamente con amoníaco y metanol, sin el aislamiento previo del compuesto i y mientras el compuesto i se mantiene en solución de sulfolano. El compuesto cloruro de ácido sulfónico j en muchas realizaciones puede estar en forma de sal. Tales sales incluyen, por ejemplo, la sal de clorhidrato, la sal de sulfato, sal de fosfato, sal de clorosulfato y sal de clorofosfato, o solvatos de los mismos.

50

5 En realizaciones de la invención el las que el compuesto k permanece en sulfolano durante el paso 8, el compuesto k puede aislarse en forma de un solvato en sulfolano, como se muestra en el Esquema A. En el paso 9 se lleva a cabo el desolvato del compuesto k. En el paso 9, el solvato de sulfolano del compuesto k se trata con ácido en condiciones prácticas polares, para proporcionar una sal de adición (no mostrada) del compuesto k. La sal de adición se puede tratar además con una base para proporcionar el compuesto amina libre (básica) k. En la realización del Esquema A, el compuesto solvato de sulfolano k se trata con HCl acuoso en presencia de etanol (formando la sal clorhidrato del compuesto k), seguido del tratamiento con hidróxido de amonio acuoso, para proporcionar el compuesto k como una base amina libre. El solvato de sulfolano k alternativamente puede desolvatarse mediante un tratamiento con agua.

15 El procedimiento del esquema A ofrece varias ventajas importantes. El uso de oxiclورو de fósforo para convertir el compuesto de ácido sulfónico i formado inicialmente en el compuesto de cloruro ácido j evita la necesidad de utilizar un gran exceso (aproximadamente 10 equivalentes) de ácido clorosulfónico, que de otro modo sería necesario para producir directamente el compuesto j desde el compuesto h. El reactivo de ácido clorosulfónico es un reactivo extremadamente corrosivo y reacciona con el agua, y el procedimiento de la invención facilita el aislamiento del producto final, reduce significativamente el riesgo por flujo de residuos, y reduce el coste global.

20 El uso de sulfolano en la sulfonación del paso 6, la formación de cloruro ácido del paso 7 y aminación del paso 8 permite una reacción en fase homogénea que es fácil de controlar y transferir en cada etapa del proceso. El uso de otros sistemas de disolventes apróticos polares en general, no permite un control adecuado de la exotermia de la reacción, y resulta en una masa sólida intratable de producto que no se puede manejar fácilmente en operaciones a mayor escala que la de laboratorio. El sistema de disolvente sulfolano de los pasos 6-8 también permite una rigurosa exclusión de humedad del proceso de reacción y por lo tanto minimiza la hidrólisis del intermediario cloruro de sulfonilo j, el cual presenta un grave problema en otros sistemas de disolventes.

El proceso de la invención por lo tanto proporciona de forma ventajosa, entre otros:

30 -un proceso de adición en fase de disolución controlada fácilmente que minimiza la exposición del compuesto reactivo cloruro de sulfonilo j;
 -sencillo control de la temperatura de la reacción exotérmica de aminolisis;
 -producción de un solvato cristalino fácilmente aislable de composición conocida;
 -cristalización verdadera reproducible de un polimorfo cristalino termodinámicamente estable de la base sulfonamida libre k desolvatada a partir de una fase homogénea; y
 35 -fácil preparación de sales farmacéuticamente relevantes a partir de una fase homogénea.

En ciertas realizaciones R¹ es: halo; alcoxi C₁₋₄; hidroxi; o halo-alcoxi C₁₋₄.

40 En ciertas realizaciones R¹ es: halo; hidroxi; o alcoxi C₁₋₄.

En ciertas realizaciones R¹ es cloro, bromo, hidroxi o metoxi.

En ciertas realizaciones R¹ es metoxi.

45 En ciertas realizaciones R¹ es hidroxi.

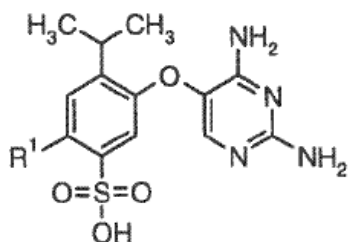
En ciertas realizaciones, el tratamiento del compuesto de fórmula j con amoníaco se lleva a cabo en presencia de metanol.

50 En ciertas realizaciones, el tratamiento del compuesto de fórmula j con amoníaco se lleva a cabo utilizando sulfolano como disolvente.

55 En ciertas realizaciones de la aplicación del tratamiento del compuesto de fórmula i con amoníaco se lleva a cabo utilizando sulfolano como disolvente, y el compuesto k se aísla en forma de un solvato de sulfolano.

En ciertas realizaciones de la aplicación del tratamiento del compuesto de fórmula j con amoníaco se lleva a cabo utilizando sulfolano como disolvente, y el compuesto k se aísla en forma de un solvato de sulfolano.

60 El método de la invención comprende, además, tratar un compuesto de fórmula i

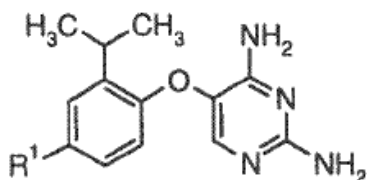


i

con oxiclورو de fósforo, para formar el compuesto de fórmula j o una sal o solvato del mismo.

- 5 En ciertas realizaciones, el tratamiento del compuesto de fórmula i con oxiclورو de fósforo se lleva a cabo utilizando sulfolano como disolvente.

El método de la invención comprende, además, tratar un compuesto de fórmula h



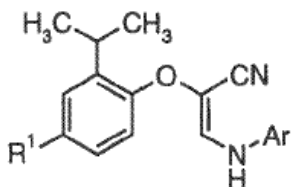
h

10

con ácido clorosulfónico, para formar el compuesto de fórmula i, o una sal o solvato del mismo.

- 15 En ciertas realizaciones, el tratamiento del compuesto de fórmula h con ácido clorosulfónico se lleva a cabo utilizando sulfolano como disolvente.

El método de la invención comprende, además, tratar un compuesto de fórmula g



g

20

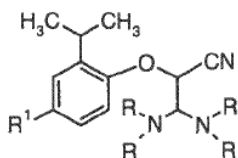
en la que Ar es arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido, con un reactivo de guanidina, para formar el compuesto de fórmula h, o una sal o solvato del mismo.

- 25 En ciertas realizaciones, el reactivo de guanidina es carbonato de guanidina.

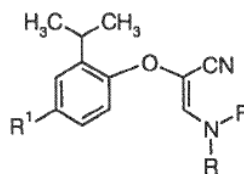
En ciertas realizaciones Ar es fenilo opcionalmente sustituido.

- 30 En ciertas realizaciones el tratamiento del compuesto de fórmula g con el reactivo de guanidina se lleva a cabo usando dimetilformamida como disolvente.

El método de la invención comprende además el tratamiento de un compuesto de fórmula e1, fórmula e2, o una mezcla de los mismos



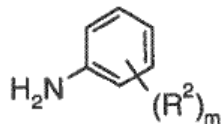
e1



e2

con un reactivo de anilina de fórmula ArNH_2 , para formar el compuesto de fórmula g, o una sal o solvato del mismo.

5 En ciertas realizaciones, el reactivo de anilina es de fórmula

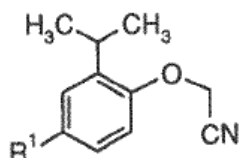


en la que m es de 0 a 4 y R^2 es un grupo sustituyente compatible con las condiciones de reacción para la formación del compuesto de fórmula g.

10 En ciertas realizaciones m es 0.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un compuesto de fórmula e1, e2 o una mezcla de los mismos con un reactivo de anilina se lleva a cabo utilizando dimetilformamida como disolvente.

15 El método de la invención comprende además el tratamiento de un compuesto de fórmula c

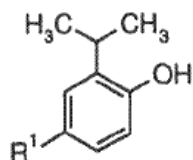


c,

20 con el reactivo de Brederick, para formar el compuesto e1, e2 o una mezcla de los mismos, o una sal o solvato del mismo.

En ciertas realizaciones, el tratamiento de un compuesto de fórmula c con un reactivo de Brederick se lleva a cabo utilizando dimetilformamida como disolvente.

25 El método de la invención comprende además el tratamiento de un compuesto de fórmula b



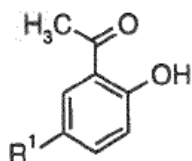
b,

30 con un agente alquilante cianometilo, para formar el compuesto c o una sal o solvato del mismo.

En ciertas realizaciones, el agente alquilante cianometilo es tolueno-4-sulfonato de cianometilo.

En ciertas realizaciones, el tratamiento del compuesto b con el agente de alquilación cianometilo se lleva a cabo en metiletilcetona como disolvente.

35 El método de la invención comprende, además, tratar un compuesto de fórmula a

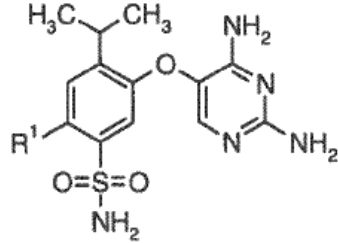


a,

40 o una sal o solvato del mismo,

con el reactivo de Grignard de metilo, seguido de una hidrogenación en presencia de catalizador de paladio en condiciones ácidas, para formar el compuesto de fórmula b o una sal o solvato del mismo.

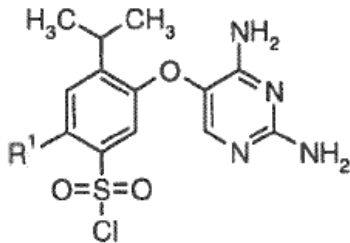
5 Otro aspecto de la solicitud proporciona un método para formar un solvato de sulfolano de un compuesto de fórmula k,



k,

o una sal del mismo, y el método comprende tratar un compuesto de fórmula j

10

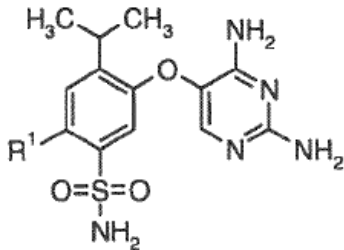


j,

en disolvente sulfolano con amoníaco en presencia de metanol, para formar el compuesto de fórmula k, en el que R¹ es como se define aquí. Preferiblemente R¹ es metoxi.

15

En ciertas realizaciones, la aplicación proporciona un solvato sulfolano de un compuesto de fórmula k,



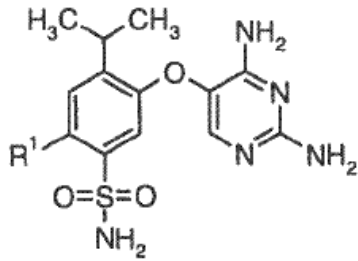
k,

20 o una sal del mismo, en el que R¹ es como se define aquí. Preferiblemente R¹ es metoxi.

En ciertas realizaciones de la aplicación, el solvato de sulfolano del compuesto de fórmula k es un disolvato.

25 En ciertas realizaciones de la aplicación, el solvato sulfolano del compuesto de fórmula k es un disolvato en una mezcla con cloruro de amonio.

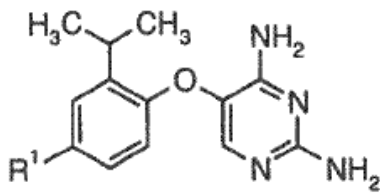
Otro aspecto de la solicitud proporciona un método para formar un solvato sulfolano de un compuesto de fórmula k,



k,

o una sal del mismo,
y el método comprende tratar un compuesto de fórmula h

5



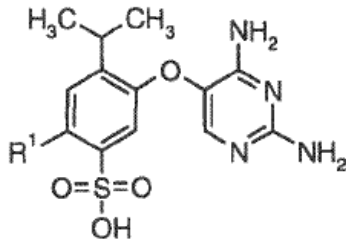
h,

o una sal o solvato del mismo,
en disolvente sulfolano, con ácido clorosulfónico, seguido por oxiclورو de fósforo, seguido de amoníaco en presencia de metanol, para formar el compuesto de fórmula k.

10

Quando cualquiera de entre R¹ o R² es alquilo o contiene un resto alquilo, tal alquilo es preferiblemente un alquilo inferior, es decir alquilo C₁-C₆, y más preferiblemente alquilo C₁-C₄.

15 La invención proporciona compuestos de la fórmula i



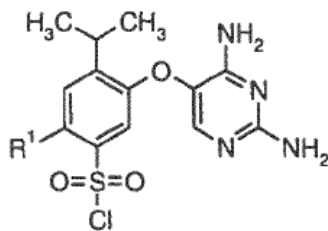
i,

o una sal del mismo,
en una mezcla con sulfolano, en la que R¹ es como se ha definido aquí.

20

En ciertas realizaciones, el compuesto de fórmula i es una sal de adición. Preferiblemente, el compuesto de fórmula i es una sal de sulfato (H₂SO₄).

25 La invención también proporciona compuestos de la fórmula j



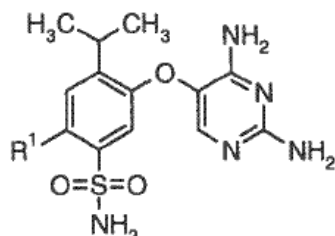
j,

o una sal del mismo, en mezcla con sulfolano, en la que R¹ es como se ha definido aquí.

En ciertas realizaciones, el compuesto de fórmula j es una sal de adición. Preferiblemente, el compuesto de fórmula i es una sal de sulfato (H₂SO₄).

5

La aplicación también proporciona compuestos de la fórmula k



k

10 o una sal del mismo,
en una mezcla con sulfolano o como un solvato de sulfolano, en la que R¹ es como se define aquí.

En ciertas realizaciones de la aplicación del compuesto de fórmula k es un disolvato de sulfolano.

15 En ciertas realizaciones, el compuesto solvato de sulfolano de fórmula j está en una mezcla con cloruro de amonio.

En ciertas realizaciones, el compuesto de fórmula j es un disolvato de sulfolano en una mezcla con cloruro de amonio.

20 Los detalles específicos para los métodos de la invención se describen en la sección de Ejemplos a continuación.

Los métodos y compuestos de la invención son útiles para la preparación de compuestos que a su vez se pueden utilizar para el tratamiento de una amplia gama de enfermedades, condiciones y trastornos genitorurarios, incluyendo estados de enfermedad del tracto urinario asociados con la obstrucción de la salida de la vejiga y condiciones de incontinencia urinaria tales como la reducción de la capacidad de la vejiga, micción frecuente, incontinencia de urgencia, incontinencia por estrés, hiperreactividad de la vejiga, hipertrofia prostática benigna (HPB), prostatitis, hiperreflexia del detrusor, frecuencia urinaria, nicturia, urgencia urinaria, vejiga hiperactiva, hipersensibilidad pélvica, uretritis, prostatitis, síndrome de dolor pélvico, prostatodinia, cistitis e hipersensibilidad idiopática de la vejiga, y otros síntomas relacionados con la vejiga hiperactiva.

Los métodos y compuestos de la invención son útiles para la preparación de compuestos que a su vez se pueden utilizar para el tratamiento de enfermedades y condiciones asociadas con el dolor de una amplia variedad de causas, incluyendo dolor inflamatorio, dolor quirúrgico, dolor visceral, dolor dental, dolor premenstrual, dolor central, dolor debido a quemaduras, migraña o dolores de cabeza en racimo, lesiones nerviosas, neuritis, neuralgias, intoxicaciones, lesión isquémica, cistitis intersticial, dolor por cáncer, infección viral, parasitaria o bacteriana, lesiones post-traumáticas (incluyendo fracturas y lesiones deportivas) y dolor asociado con trastornos funcionales del intestino tales como el síndrome del intestino irritable.

Los métodos y compuestos de la invención son útiles para la preparación de compuestos que a su vez se pueden utilizar para el tratamiento de trastornos respiratorios, incluyendo el trastorno pulmonar obstructivo crónico (EPOC), asma y broncoespasmo.

Además, los métodos y compuestos de la invención son útiles para preparar compuestos para el tratamiento de trastornos gastrointestinales, incluyendo el síndrome del intestino irritable (SII), enfermedad inflamatoria del intestino (IBD), cólico biliar y otros trastornos biliares, cólico renal, el IBS con diarrea dominante, y el dolor asociado con la distensión GI.

Los compuestos de la invención, en particular, encuentran aplicación industrial como intermediarios en la síntesis de compuestos útiles para los tratamientos anteriores.

50

Ejemplos

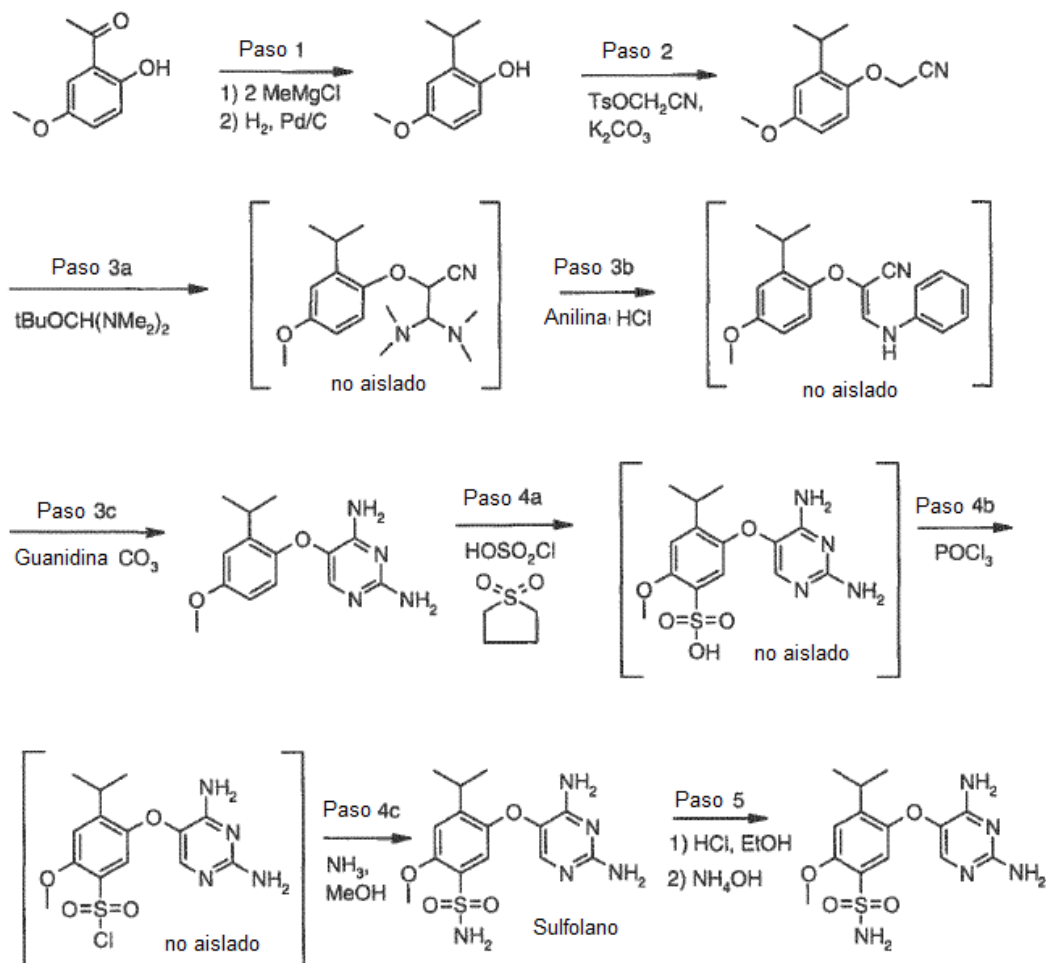
Los siguientes ejemplos se dan para permitir a los expertos en la técnica entender más claramente y para practicar la presente invención.

55

Las siguientes abreviaturas se pueden usar en los ejemplos: HPLC: cromatografía de líquido de alta presión; DCM: diclorometano / cloruro de metileno; DMF: N, N-dimetilformamida; DMAP: 4-dimetilaminopiridina; EtOAc: acetato de etilo; EtOH: etanol; Et₂O: éter dietílico; CG: cromatografía de gases; HMPA: hexametilfosforamida; HPLC: cromatografía líquida de alto rendimiento; mCPBA: ácido m-cloroperbenzoico; MeCN: acetonitrilo; MeOH: metanol; NMP: N-metil pirrolidiona; TEA: trietilamina; THF: tetrahidrofurano; LDA: diisopropilamina de litio; CCC: cromatografía de capa fina.

Ejemplo 1: 5-(2,4-diamino-pirimidin-5-iloxi)-4-isopropil- 2-metoxi-bencenosulfonamida

10 El procedimiento sintético utilizado en este Ejemplo se describe en el Esquema B.



ESQUEMA B

15 Paso 1: 2-isopropil-4-metoxi-fenol

A una solución enfriada de 1-(2-hidroxi-5-metoxifenil)-etanon (10,0 kg) en 79,0 kg de THF se añadieron gradualmente 46,4 kg de solución 3 M de MeMgCl en THF a una velocidad tal que la temperatura de la mezcla de reacción no excedió los 25 °C. Después de la adición de la solución de MeMgCl, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas, en cuyo punto el análisis por HPLC (cromatografía líquida de alta presión) mostró una conversión de más de 98 % de 1-(2-hidroxi-5-metoxifenil)-etanon en 2-(1-hidroxi-1-metil-etil)-4-metoxifenol (no se muestra en el Esquema D). A la solución agitada se añadió luego 10 % de paladio sobre carbono (1,02 kg, 50 % de agua en húmedo) se suspendieron en 3,5 kg de THF. La mezcla de reacción se enfrió y se colocó bajo una atmósfera de hidrógeno a 0,34 atmósfera de presión, y se añadió HCl concentrado (19,5 kg) mientras se mantenía la temperatura de reacción a 25 °C. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas, después se trató con 44,4 kg de agua y se filtró a través de un lecho de Celite para eliminar el catalizador suspendido. La pasta de filtro se aclaró con EtOAc y el filtrado combinado se separó. La fase orgánica se lavó con agua, después se concentró por destilación para proporcionar un aceite. Este aceite se disolvió en 2-butanona (20,4 kg) y la solución en bruto se empleó directamente en el siguiente paso. Una alícuota 161,8 g de la solución se concentró al vacío para proporcionar 49,5 g de 2-isopropil-4-metoxifenol como un aceite, proporcionando 10,4 kg de producto crudo contenida en la solución de 2-butanona. ¹H RMN (DMSO) delta: 1,14 (d, 6H, J = 6,9 Hz), 3,18

(septeto, 1H, J = 6,9 Hz), 3,65 (s, 3H), 6,56, (dd, 1H, J = 8,6 Hz, 3,1 Hz), 6,67 (d, 1H, J = 3,1 Hz), 6,69 (d, 1H, 8,6 Hz).

Paso 2 (2-isopropil-4-metoxi-fenoxi)-acetonitrilo

5 Una suspensión agitada de tolueno-4-sulfonato de cianometilo (13,0 kg), carbonato de potasio (13,0 kg) y 2-isopropil-4-metoxifenol (9,57 kg) en 79,7 kg de 2-butanona se calentó a 55-60 °C durante 4 días, después se calentó a reflujo durante 18 horas. La suspensión resultante se enfrió y se filtró para eliminar los sólidos. El filtrado se concentró a presión reducida y el residuo se volvió a disolver en tolueno. La solución de tolueno se extrajo con KOH
10 1N, y la fase orgánica se concentró por destilación para proporcionar 20,6 g de una solución 1:1 (en peso) de (2-isopropil- 4-metoxi-fenoxi)-acetonitrilo en tolueno, que se utilizó directamente en el siguiente paso. Una alícuota (96,7 g) de esta solución se concentró hasta la sequedad para proporcionar 50,9 g de (2-isopropil- 4-metoxi-fenoxi)-acetonitrilo crudo, proyectando a un rendimiento de 10,9 kg en la solución a granel: EM (M + H) = 206; ¹H RMN (CDCl₃) delta: 1,25 (d, J = 6,9 Hz), 3,31 (septeto, 1H, J = 6,9 Hz), 3,82 (s, 3H), 4,76 (s, 2H), 6,73 (dd, 1H, J = 8,8 Hz, 3,1 Hz), 6,87 (d, 1H, J = 3,1 Hz), 6,91 (d, 1H, J = 8,8 Hz).

Paso 3: 5-(2-isopropil-4-metoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4-diamina

20 Una solución de aproximadamente 1:1 (en peso) de 10,6 kg de (2-isopropil-4-metoxi-fenoxi)-acetonitrilo en tolueno se concentró a presión reducida y el residuo se trató con 10,8 kg de terc-butoxibis (dimetilamino) metano (reactivo de Bredereck). La mezcla resultante se disolvió en 20,2 kg de DMF y la solución se calentó a 110 °C durante 2 horas, en cuyo punto el análisis por HPLC mostró la conversión esencialmente completa de 3,3-bis-dimetilamino-2-(2-isopropil-4-metoxi-fenoxi)-propionitrilo (no aislado, ¹H RMN (CDCl₃) delta: 1,21 (d, 3H, J = 7,2 Hz), 1,23 (d, 3H, J = 7,1 Hz), 2,46 (s, 6H), 2,48 (s, 6H), 3,43 (d, 1H, J = 5,0 Hz), 3,31 (septeto, 1H, J = 6,9 Hz), 3,79 (s, 3H), 4,93 (d, 1H, J = 5,0 Hz), 6,70 (dd, 1H, J = 8,8 Hz, 3,0 Hz), 6,82 (d, 1H, J = 3,0 Hz), 6,98 (d, 1H, J = 8,8 Hz).

30 La solución de DMF se enfrió y se transfirió a 14,7 kg de clorhidrato de anilina. La mezcla resultante se calentó a 120 °C durante 22 horas, en cuyo punto el análisis por HPLC mostró una conversión mayor del 97 % a 2-(2-isopropil- 4-metoxi-fenoxi)-3-fenilamino-acrilonitrilo (no aislado, ¹H RMN (CDCl₃) delta: 1,31 (d, 6H, J = 6,9 Hz), 3,39 (septeto, 1H, J = 6,9 Hz), 3,82 (s, 3H), 6,61 (d (br), 1H, J = 12,7 Hz), 6,73 (dd, 1H, J = 8,9 Hz, 3,1 Hz), 6,88 (d, 1H, J = 3,0 Hz), 6,93 (m, 2H), 6,97 (d, 1H, J = 8,9 Hz), 7,05 (m, 1H), 7,17 (d, 1H, J = 12,6 Hz), 7,35 (m, 2H)).

35 La mezcla se enfrió, se diluyó con 21,5 kg de tolueno, luego con 72,2 L de agua. La capa orgánica se separó, se lavó con agua, y se concentró por destilación. El concentrado se transfirió a 23,8 kg de DMF, y la solución de DMF se transfirió a 6,01 kg de carbonato de guanidina. La mezcla resultante se calentó a 120 °C durante 3 días, momento en el que el análisis por HPLC mostró una conversión superior al 95 % de 2-(2-isopropil-4-metoxi-fenoxi)-3-fenilaminoacrilonitrilo en 5-(2-isopropil- 4-metoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4-diamina.

40 La mezcla de reacción se enfrió, se diluyó con 7,8 kg de EtOAc, después se volvió a calentar a 60 °C. Se añadió agua (75,1 L) y la mezcla resultante se dejó enfriar a temperatura ambiente. El sólido precipitado se recogió por filtración, se lavó con isopropanol y se secó al vacío a 50 grados para proporcionar 9,62 kg de 5-(2-isopropil-4-metoxifenoxi)-pirimidina-2,4-diamina: pf 170-171 grados C; EM (M + H) = 275; ¹H RMN (cloroformo) delta: 1,25 (d, 6H, J = 6,9 Hz), 3,30 (septeto, 1H, J = 6,9 Hz), 3,79 (s, 3H), 4,68 (br, 2H), 4,96 (br, 2H), 6,64 (dd, 1H, J = 8,9 Hz, 3,0 Hz), 6,73, d, J = 8,9 Hz), 6,85 (d, 1H, J = 3 Hz), 7,47 (s, 1H).

Paso 4: 5-(2,4-diamino-pirimidin-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxi-bencenosulfonamida, solvato sulfolano

50 Se añadió ácido clorosulfónico (13,82 kg) a una suspensión de 5-(2-isopropil- 4-metoxi-fenoxi)-pirimidina-2, 4-diamina (10,07 kg) en sulfolano (50,0 kg) a una velocidad para mantener una temperatura del recipiente interior por debajo de 65 °C. La mezcla de reacción se envejeció a 60-65 °C durante 12 horas, momento en el cual la HPLC mostró que el material de partida los 5-(2-isopropil-4-metoxi-fenoxi)-pirimidina-2,4-diamina se había convertido en ácido 5-(2,4-diamino-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxibencenosulfónico. EM (M + H) = 355. Oxidocloruro de fósforo (3,41 kg) se añadió a continuación, a la mezcla de reacción a 60 °C. La mezcla de reacción se calentó a 75 °C y se envejeció durante 12 horas, momento en el cual la HPLC mostró que aproximadamente el 99 % del ácido 5-(2,4-diamino-pirimidin-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxibencenosulfónico se había convertido en cloruro de 5-(2,4-diamino-pirimidin-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxi-bencenosulfonilo. EM (M + H) = 373. La solución de cloruro de 5-(2,4-diamino-pirimidin-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxi-bencenosulfonilo se enfrió a alrededor de 2 °C).

60 A una solución enfriada (aproximadamente 2 °C) de amoniaco (7N) en MeOH (74,1 kg) se añadió la solución de sulfolano enfriada de cloruro de 5-(2,4-diamino-pirimidin-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxi-bencenosulfonilo (un jarabe homogéneo) a una velocidad tal que la temperatura interna no excedió de 23 °C. La suspensión resultante se agitó durante 18 horas a temperatura ambiente, después se filtró en un filtro de porosidad gruesa. Los sólidos recogidos se lavaron con MeOH (15,9 kg), después se secaron a presión reducida a 70 °C a un peso constante de 23,90 kg. La HPLC mostró la conversión de 97,5 % de cloruro de 5-(2,4-diamino-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxi-bencenosulfonilo a 5-(2,4-diamino-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxibencenosulfonamida solvato de sulfolano. ¹H RMN (DMSO-d₆) delta:

65

1,26 (d, 6H, J = 6,9 Hz), 2,07 (sim. m, 8H), 2,99 (sim. m, 8H), 3,41 (septeto, 1H, J = 6,9 Hz), 3,89 (s, 3H), 6,03 (s (br), 2H), 6,58 (s (br), 2H), 7,00 (s, 1H), 7,04 (s (br), 2H), 7,08 (s, 1H), 7,35 (s, 1H).

Paso 5: 5-(2,4-diamino-pirimidin-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxi-bencenosulfonamida

5 Una suspensión de 5-(2,4-diamino-pirimidin-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxi-bencenosulfonamida solvato de sulfolano (23,86 kg) en una mezcla de etanol (74,3 kg) y 0,44 N de HCl (109,4 kg) se calentó a reflujo para proporcionar una solución homogénea de la sal de monoclóhidrato de 5-(2,4-diamino-pirimidin-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxibencenosulfonamida. Esta solución se filtró mientras estaba caliente, después se trató con hidróxido de amonio concentrado (3,4 L) para liberar la base libre de 5-(2,4-diamino-pirimidin-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxi-bencenosulfonamida. La mezcla resultante se enfrió lentamente a 20 °C y el producto cristalino se aisló por filtración. La torta del filtro se lavó con agua (20,1 kg) y se secó bajo presión reducida a 70 °C a un peso constante de 8,17 kg (rendimiento 57,7 % basado en disolvato de sulfolano). PF = 281-282 °C. ¹H RMN (DMSO-d₆) delta: 1,27 (d, 6H, J = 6,9 Hz), 3,41 (septeto, 1H, J = 6,9 Hz), 3,89 (s, 3H), 5,87 (s (br), 2H), 6,40 (s (br), 2H), 6,98 (s, 1H), 7,01 (s (br), 2H), 7,07 (s, 1H), 7,36 (s, 1H).

Ejemplo 2: Ensayo P2X₃/P2X_{2/3} FLIPR (Lectura de placas por imágenes fluorométricas)

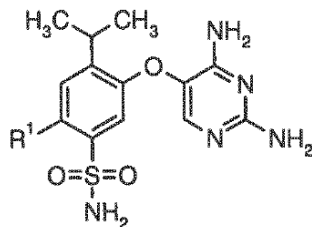
20 Las células CHO-K1 se transfectaron con las subunidades del receptor P2X₃ de rata clonado o P2X_{2/3} humano y se pasaron en frascos. 18-24 horas antes del experimento FLIPR, las células fueron liberadas de sus matraces, se centrifugaron, y se resuspendieron en medio con nutrientes a 2,5 x 10⁵ células / ml. Las células se dividieron en alícuotas en placas de 96 pocillos de paredes negras a una densidad de 50.000 células / pocillo y se incubaron durante la noche en 5 % de CO₂ a 37 °C. En el día del experimento, las células se lavaron en tampón FLIPR (solución salina equilibrada de Hank libre de calcio y magnesio, HEPES 10 mM, CaCl₂ 2 mM, probenecida 2,5 mM; FB). Cada pocillo recibió 100 µl de FB y 100 µl de colorante fluorescente Fluo-3 AM [concentración final 2 µM]. Después de una incubación de 1 hora de tinte de carga a 37 °C, las células se lavaron 4 veces con FB, y se dejó en cada pocillo 75 µl / pocillo de FB.

30 Los compuestos de ensayo (disueltos en DMSO a 10 mM y diluidos en serie con FB) o vehículo se añadieron a cada pocillo (25 µl de una solución 4X) y se dejaron equilibrar durante 20 min a temperatura ambiente. Las placas se colocaron en el FLIPR y se obtuvo una medición de fluorescencia basal (excitación a 488 nm y emisión a 510-570 nm) durante 10 segundos antes de la adición de 100 µl / pocillo de agonista o vehículo. El agonista era una solución 2X de α,β-meATP que produce una concentración final de 1 µM (P2X₃) o 5 µM (P2X_{2/3}). Se midió la fluorescencia durante 2 min a intervalos de 1 segundo después de la adición del agonista. Una adición final de ionomicina (concentración final 5 µM) se realizó a cada pocillo de la placa de ensayo FLIPR para determinar la viabilidad celular y la fluorescencia máxima de calcio citosólico unido al colorante. Se midió el pico de fluorescencia en respuesta a la adición de α,β-meATP (en ausencia y presencia de compuestos de ensayo) y se generaron las curvas de inhibición usando una regresión no lineal. Se utilizó PPADS como control positivo, un antagonista de P2X estándar.

40 Usando el procedimiento anterior, los compuestos de la invención presentaron actividad para el receptor P2X₃. Usando el ensayo anterior, el compuesto 5-(2,4-diamino-pirimidin-5-iloxi)-4-isopropil-2-metoxi-bencenosulfonamida presentó un pCl₅₀ de aproximadamente 7,93 para el receptor P2X₃.

REIVINDICACIONES

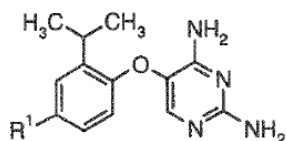
1. un método para formar la amina libre de un compuesto de fórmula k;



5

k,

el método comprende: tratar un compuesto de fórmula h



10

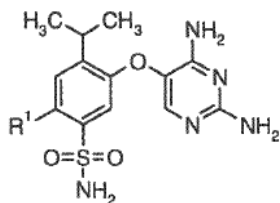
h,

o una sal del mismo, en la que R¹ es hidrógeno; halo; alquínilo C₂₋₃; halo-alquilo C₁₋₄; alcoxi C₁₋₄; hidroxi; halo-alcoxi C₁₋₄; hidroxi alcoxi C₁₋₄; o alquínilo C₂₋₃-alquilo C₁₋₄;

15

en disolvente de sulfolano, con ácido clorosulfónico, seguido por oxiclورو de fósforo, seguido por amoníaco en presencia de metanol, y el producto final se trata con HCl acuoso en presencia de etanol seguido por el tratamiento con hidróxido de amonio acuoso o el producto final se trata con agua.

2. Un método para la preparación de la amina libre de un compuesto de fórmula k



20

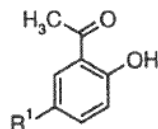
k,

o una sal del mismo,

25

en la que R¹ es hidrógeno; halo; alquínilo C₂₋₃; halo-alquilo C₁₋₄; alcoxi C₁₋₄; hidroxi; halo-alcoxi C₁₋₄; hidroxi alcoxi C₁₋₄; o alquínilo C₂₋₃-alquilo C₁₋₄; que comprende

(a) tratar un compuesto de fórmula a



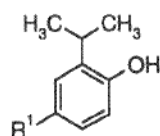
30

a,

o una sal o solvato del mismo,

35

con el reactivo de Grignard de metilo, seguido por hidrogenación en presencia de un catalizador de paladio en condiciones ácidas, para formar un compuesto de fórmula b

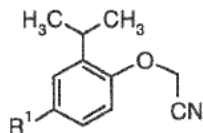


b.

o una sal o solvato del mismo,

5

(b) tratar el compuesto de fórmula b con un agente alquilante de cianometilo, para formar un compuesto c,

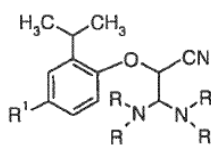


c,

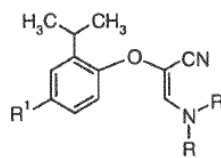
o una sal o solvato del mismo,

10

(c) tratar el compuesto de fórmula c con el reactivo de Bredereck, para formar un compuesto e1, e2, o una mezcla de los mismos,



e1,

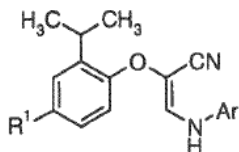


e2,

15

o una sal o solvato de los mismos,

(d) tratar el compuesto de fórmula e1, e2, o la mezcla de los mismos con un reactivo de anilina de fórmula ArNH₂, para formar un compuesto de fórmula g,



20

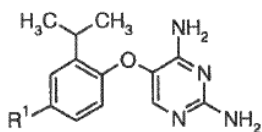
g,

o una sal o solvato del mismo,

en el que Ar es arilo opcionalmente sustituido o heteroarilo opcionalmente sustituido,

25

(e) tratar el compuesto de fórmula g con un reactivo de guanidina, para formar un compuesto de fórmula h

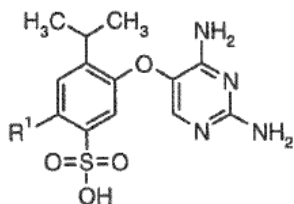


h,

30

o una sal o solvato del mismo,

(f) tratar el compuesto de fórmula h con ácido clorosulfónico, para formar un compuesto de fórmula i

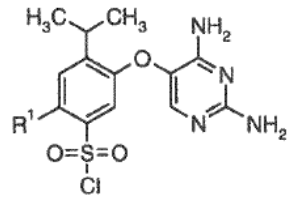


i,

35

o una sal o solvato del mismo,

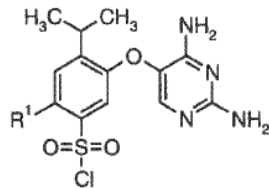
(g) tratar el compuesto de fórmula i con oxiclورو de fósforo, para formar un compuesto de fórmula j



j,

o una sal o solvato del mismo,

- 5 (h) tratar el compuesto de fórmula j, con amoníaco, y
 (i) tratar el producto de reacción del paso (h) con HCl acuoso en presencia de etanol seguido por el tratamiento con hidróxido de amonio acuoso o tratar el producto de reacción del paso (h) con agua.
- 10 3. El método de la reivindicación 2, en el que el tratamiento del compuesto de fórmula j, con amoníaco se lleva a cabo en presencia de metanol.
4. El método de la reivindicación 2, en el que el tratamiento del compuesto de fórmula j con amoníaco se lleva a cabo utilizando sulfolano como disolvente.
- 15 5. El método de la reivindicación 2, comprendiendo el método: tratar un compuesto de fórmula j



j,

- 20 o una sal o solvato del mismo, en la que R¹ tiene los significados como se define en la reivindicación 2; en disolvente de sulfolano, con amoníaco en presencia de metanol.