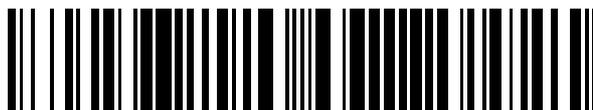


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 462 927**

51 Int. Cl.:

A61K 31/53	(2006.01)	A61P 43/00	(2006.01)
A61P 25/00	(2006.01)		
A61P 25/06	(2006.01)		
A61P 25/08	(2006.01)		
A61P 25/16	(2006.01)		
A61P 25/18	(2006.01)		
A61P 25/28	(2006.01)		
A61P 27/06	(2006.01)		
A61P 33/06	(2006.01)		
A61P 35/00	(2006.01)		

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.07.2007 E 07766446 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.02.2014 EP 2043656**

54 Título: **Nuevo uso médico de derivados de triazina**

30 Prioridad:

13.07.2006 GB 0613836

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

26.05.2014

73 Titular/es:

**UNIVERSITY OF GREENWICH (100.0%)
Old Royal Naval College Park Row Greenwich
London SE10 9LS , GB**

72 Inventor/es:

**LEACH, MICHAEL;
HARBIGE, LAURENCE;
RIDDALL, DIETER y
BARRACLOUGH, PAUL**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 462 927 T3

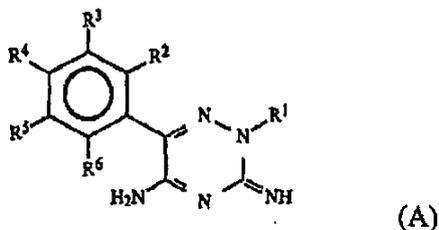
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar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

DESCRIPCIÓN

Nuevo uso médico de derivados de triazina

La presente invención se refiere al uso de compuestos de triazina como bloqueadores de canales de sodio y para preparar medicamentos para el tratamiento de trastornos asociados.

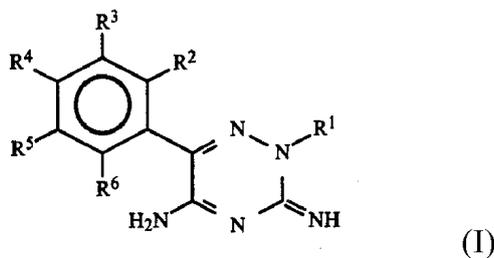
5 La patente de EE.UU. n° 4.649.139 describe compuestos de fórmula (A):



10 en la que R¹ es alquilo C₁₋₁₀, alquenido C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀ o cicloalquilo C₃₋₁₀, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido, y R² a R⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, grupos alquilo C₁₋₆, alquenido, alquinilo o alcoxi (todos opcionalmente sustituidos con uno o más de halógeno, hidroxilo y arilo), amino, amino mono o disustituido, alquenilo, acilo, aciloxi, ciano, nitro, arilo y alquiltio, o cualesquiera dos adyacentes de R² a R⁶ están unidos para formar un grupo (-CH=CH-CH=CH-). Se describe que estos compuestos son activos en el tratamiento de trastornos cardiacos, y son particularmente útiles en el tratamiento de arritmias.

15 La presente invención se basa en el descubrimiento de que compuestos dentro de la fórmula (A) y algunos derivados nuevos de los mismos son potentes bloqueadores de canales de sodio y por lo tanto se ha indicado que son útiles como bloqueadores de canales de sodio dependientes de voltaje en el tratamiento de trastornos en mamíferos y en particular son valiosos en el tratamiento de la epilepsia, esclerosis múltiple, glaucoma y uveítis, traumatismos cerebrales e isquemias cerebrales, accidente cerebrovascular, lesión craneal, lesión de la médula espinal, traumatismo quirúrgico, trastornos neurodegenerativos, enfermedad de la motoneurona, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, dolor inflamatorio crónico, dolor neuropático, migraña, trastorno bipolar, trastornos afectivos, trastornos de ansiedad y cognitivos, esquizofrenia y cefaleas autónomas del trigémino.

20 Por consiguiente, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula (I):



25 como se define en la reivindicación 1, como bloqueadores de canales de sodio dependientes de voltaje para el tratamiento de epilepsia, esclerosis múltiple, glaucoma y uveítis, traumatismos cerebrales e isquemias cerebrales, accidente cerebrovascular, lesión craneal, lesión de la médula espinal, traumatismo quirúrgico, trastornos neurodegenerativos, enfermedad de la motoneurona, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, dolor inflamatorio crónico, dolor neuropático, migraña, trastorno bipolar, trastornos afectivos, trastornos de ansiedad y cognitivos, esquizofrenia y cefaleas autónomas del trigémino, en especial en seres humanos.

30 La invención incluye además el uso de compuestos de fórmula (I) para preparar un medicamento para usar como un bloqueador de canales de sodio, en especial para el tratamiento de los trastornos individuales mencionados antes.

Como un grupo alquilo C₁₋₁₀, R¹ es de forma adecuada un grupo alquilo C₁₋₆ no sustituido, típicamente metilo, etilo, i-propilo, n-propilo, i-butilo o n-butilo.

Como un grupo alquenido C₂₋₁₀, R¹ puede ser un grupo alquenido C₂₋₆ no sustituido, tal como alilo.

35 Como un grupo cicloalquilo C₃₋₁₀, R¹ típicamente es ciclohexilo, opcionalmente sustituido con uno o más grupos halógeno, halogenoalquilo o alcoxi, por ejemplo, cloro, fluoro, trifluorometilo, metoxi o etoxi.

Como un grupo alquil(C₁₋₃)-arilo, R¹ es típicamente bencilo en el que el grupo fenilo está opcionalmente sustituido con uno o más grupos halógeno, halogenoalquilo o alcoxi, por ejemplo, cloro, fluoro, trifluorometilo, metoxi o etoxi.

Como un alquil(C₁₋₃)-heterociclilo, R¹ es de forma adecuada piperidina-metilo, opcionalmente N-sustituída, o tienil-metilo o furil-metilo.

El anillo de fenilo sustituido con R² a R⁶ contiene de forma adecuada 1, 2 ó 3 sustituyentes.

5 R² a R⁶, cuando son distintos de hidrógeno, preferiblemente se seleccionan de grupos halógeno, halogenoalquilo(C₁₋₆) o alcoxi C₁₋₇. Las sustituciones particularmente preferidas son 2,3 o 2,4 o 2,5 o 3,5 o 2,3,5 di- o tri-halogeno- (en especial cloro y/o fluoro).

En otra clase preferida de compuestos, R² no es hidrógeno.

En una clase más preferida de compuestos, ni R¹ ni R² son hidrógeno.

En una clase preferida de compuestos de fórmula (I):

10 R¹ es alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquil(C₁₋₃)-arilo o alquil(C₁₋₃)-heterociclilo, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con halógeno, halogenoalquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆; y R² a R⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno y halógeno.

15 En un grupo preferido de compuestos que tienen propiedades neuroprotectoras, R¹ es alquilo C₁₋₄, opcionalmente sustituido con CF₃, por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *iso*-butilo, *n*-butilo y trifluoropropilo, y R² y R³, o R² y R⁴, o R² y R⁵, o R³ y R⁵, o R², R³ y R⁵ son halógeno, en especial cloro y/o fluoro.

Dentro de la fórmula (I) hay un grupo de compuestos en los que R¹ es hidrógeno y R² a R⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, halogenoalquilo y halogenoalcoxi.

20 Dentro de la fórmula (I) hay un grupo de compuestos en los que R¹ es alquilo, hidroxialquilo, halogenoalquilo, heterociclilalquilo, alquenilo, carboxamido, bencilo, bencilo sustituido con halógeno, alquilo, alcoxi, hidroxialquilo, halogenoalquilo o carboxamido y de R² a R⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno y halógeno.

Dentro de la fórmula (I) hay un grupo de compuestos en los que de R² a R⁶ son hidrógeno y R¹ es hidrógeno o alquilo.

Los compuestos de fórmula (I) que son nuevos forman un aspecto adicional de esta invención.

25 En particular, los compuestos de fórmula (I) en los que R¹ es alquil(C₁₋₃)-heterociclilo opcionalmente sustituido o alquil(C₁₋₃)-arilo opcionalmente sustituido (excluyendo bencilo no sustituido) se cree que son compuestos nuevos.

Los compuestos de fórmula (I) ilustrativos son:

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-isopropil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-*n*-propil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2-pentiloxfenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1,2,4-triazina;

30 5-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1,2,4-triazina; y

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-bencil-1,2,4-triazina;

Los compuestos adicionales de fórmula (I) incluyen:

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-etil-1,2,4-triazina;

35 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-isopropil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-*n*-propil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-isobutil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-*n*-butil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-alil-1,2,4-triazina;

40 5-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-propil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2-fluoro-3-clorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1,2,4-triazina;

- 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3,3,3-trifluoropropil)-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(2,4-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-fenil-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-fenil-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina;
- 5 5(3)-amino-6-(2,5-diclorofenil)-2, 3(2, 5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4- triazina;
 5(3)-amino-6-(2,5-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2-fluoroetil)-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(3,5-diclorofenil)-2, 3(2, 5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4- triazina;
- 10 5(3)-amino-6-(3,5-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2-fluoroetil)-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(3,3,3-trifluoropropil)-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2,2-difluoroetil)-1,2,4-triazina.
- Otro grupo de compuestos de fórmula (I) incluye:
- 15 3,5-diamino-6-(2,5-diclorofenil)-1,2,4-triazina,
 3,5-diamino-6-(3,5-diclorofenil)-1,2,4-triazina,
 3,5-diamino-6-fenil-1,2,4-triazina,
 3,5-diamino-6-(2,4-diclorofenil)-1,2,4-triazina,
 3, 5-diamino-6-(2-trifluorometoxifenil)-1,2,4-triazina.
- 20 Los compuestos nuevos de fórmula (I) incluyen:
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(2'-fluorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3'-fluorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(4'-fluorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(2',3'-difluorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
- 25 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3'-clorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(4'-clorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(4'-metilfenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(2'-metoxifenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3'-metoxifenil-metil)-1,2,4-triazina;
- 30 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(4'-metoxifenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(2'-clorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(2'-trifluorometilfenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3'-trifluorometilfenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(4'-trifluorometilfenil-metil)-1,2,4-triazina;
- 35 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(2'-fluoro-3'-trifluorometilfenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3-tienil-metil)-1,2,4- triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3-furil-metil)-1,2,4-triazina y

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(N-boc-piperidin-4-il-metil)-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(piperidin-4-il-metil)-1,2,4-triazina.

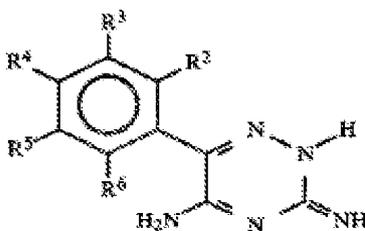
5 El uso de sales de los compuestos de fórmula (I) forma un aspecto de esta invención. Las sales preferidas son sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables adecuadas incluyen las formadas tanto con ácidos orgánicos como inorgánicos, por ejemplo a partir de ácidos clorhídrico, sulfúrico, cítrico, tartárico, fosfórico, láctico, pirúvico, acético, malónico, succínico, oxálico, fumárico, maleico, oxaloacético, metanosulfónico, p-toluenosulfónico, bencenosulfónico, glutámico, naftoico, e isetiónico. Las sales de esilato (etanosulfonato), edisilato (1,2-etanosulfonato), malato, mandalato, benzoato y salicilato también son adecuadas.

10 En la preparación de los compuestos de fórmula (I), el compuesto o su sal se pueden obtener en forma de un solvato del disolvente de la reacción o de cristalización o un componente del mismo. El uso de dichos solvatos forma otro aspecto de esta invención. Los solvatos farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen hidratos.

La presente invención incluye en su alcance el uso de todos los tautómeros, enantiómeros y polimorfos de los compuestos de fórmula (I) y sus sales y solvatos.

15 Los compuestos de fórmula (I) se pueden preparar de forma adecuada por los procedimientos descritos en la patente de EE.UU. n° 4.649.139 mencionada antes.

De forma conveniente, un compuesto de fórmula II



en la que R² - R⁶ son como se han definido para la fórmula (I), se hace reaccionar con un compuesto

20
$$R^1-Q \quad (III)$$

donde R¹ es como se ha definido para la fórmula (I) y Q es un grupo lábil.

Los grupos lábiles adecuados incluyen halógenos y derivados de ácido sulfónico, tales como mesilo, tosilo, etc.

25 La reacción tiene lugar de forma adecuada en condiciones convencionales en un disolvente en el que el compuesto de fórmula II es soluble a una temperatura conveniente (por ejemplo entre 0 y 100°C, y de forma más conveniente a temperatura ambiente).

Los compuestos de fórmula II se pueden preparar por métodos descritos en el documento EP 0021121 A.

30 Las sales de los compuestos de fórmula (I) se pueden obtener por la presencia de un ácido Q residual. Alternativamente, se pueden preparar sales mezclando el compuesto de fórmula (I) como la base libre, con un ácido farmacéuticamente aceptable en un disolvente adecuado, y separar el disolvente para recuperar la sal, o cristalizar la sal en el disolvente.

35 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas para el tratamiento de trastornos tales como epilepsia, esclerosis múltiple, glaucoma y uveítis, traumatismos cerebrales e isquemias cerebrales, accidente cerebrovascular, lesión craneal, lesión de la médula espinal, traumatismo quirúrgico, trastornos neurodegenerativos, enfermedad de la motoneurona, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, dolor inflamatorio crónico, dolor neuropático, migraña, trastorno bipolar, trastornos afectivos, trastornos de ansiedad y cognitivos, esquizofrenia y cefaleas autónomas del trigémino; que comprenden un compuesto de fórmula (I), o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptable, mezclado con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

40 Los compuestos de fórmula (I) estarán presentes en las composiciones de la presente invención en una forma farmacéutica unitaria eficaz, es decir, en una cantidad suficiente para ser eficaces frente a los trastornos in vivo.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables presentes en las composiciones de la presente invención pueden ser materiales usados convencionalmente para el propósito de administrar el medicamento. Estos pueden ser materiales líquidos o sólidos, que por lo demás son inertes o médicamente aceptables y son compatibles con los principios activos.

Estas composiciones farmacéuticas se pueden dar por vía oral o parenteral, por ejemplo como un supositorio, pomada, crema, polvo o parche transdérmico. Sin embargo, se prefieren la administración oral y la inyección intravenosa de las composiciones.

5 Para la administración oral, los polvos finos o gránulos contendrán agentes de dilución, dispersión y/o tensioactivos, y se pueden presentar en poción, en agua o en un jarabe, en cápsulas o sellos en estado seco o en suspensión no acuosa en donde se pueden incluir agentes de suspensión, o en una suspensión en agua o jarabe. Cuando es conveniente o necesario, se pueden incluir agentes de aroma, conservantes, de suspensión o espesantes. Los polvos o gránulos secos se pueden comprimir para formar un comprimido o estar contenidos en una cápsula.

10 Para inyección, los compuestos se pueden presentar en soluciones para inyección acuosas estériles que pueden contener antioxidantes o tampones.

La base libre o una sal o solvato del mismo también se pueden administrar en su forma pura sin asociar con otros aditivos, en cuyo caso el vehículo preferido es la cápsula o sobre.

Alternativamente, el compuesto activo se puede presentar en una forma pura como una dosificación unitaria eficaz, por ejemplo, comprimida como un comprimido o similar.

15 Otros compuestos que se pueden incluir son, por ejemplo, ingredientes médicamente inertes, p. ej., diluyentes sólidos y líquidos tales como lactosa, almidón o fosfato cálcico para comprimidos o cápsulas; aceite de oliva u oleato de etilo para cápsulas blandas; y agua o aceite vegetal para suspensiones o emulsiones; agentes lubricantes tales como talco o estearato magnésico; agentes gelificantes tales como arcillas coloidales; agentes espesantes tales como goma de tragacanto o alginato sódico; y otros ingredientes auxiliares terapéuticamente aceptables tales como humectantes, conservantes, tampones y antioxidantes, que son útiles como vehículos en dichas formulaciones.

Los comprimidos u otras formas de presentación proporcionadas en unidades discretas pueden contener de forma conveniente una cantidad del compuesto de fórmula I que es eficaz en dicha dosificación o como un múltiplo de la misma, por ejemplo unidades que contienen de 5 mg a 500 mg, normalmente aproximadamente de 10 mg a 250 mg.

25 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden preparar mediante la mezcla de un compuesto de fórmula (I) con un vehículo farmacéuticamente aceptable. Se pueden mezclar excipientes farmacéuticos convencionales según se requiera. Se dan ejemplos de las formulaciones adecuadas en la patente de EE.UU. n° 4.649.139 mencionada antes.

30 La presente invención proporciona un método de tratamiento de trastornos en mamíferos, que son susceptibles a bloqueantes de canales de sodio y antifolatos, y en particular trastornos tales como epilepsia, esclerosis múltiple, glaucoma y uveítis, traumatismos cerebrales e isquemias cerebrales, accidente cerebrovascular, lesión craneal, lesión de la médula espinal, traumatismo quirúrgico, trastornos neurodegenerativos, enfermedad de la motoneurona, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, dolor inflamatorio crónico, dolor neuropático, migraña, trastorno bipolar, trastornos afectivos, trastornos de ansiedad y cognitivos, esquizofrenia y cefaleas autónomas del trigémino; por la administración de una cantidad eficaz no tóxica de un compuesto de fórmula (I) o una de sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptable, o una composición como se define en lo que antecede.

35 Como se ha indicado antes, los compuestos de fórmula (I) en general son útiles en el tratamiento de dichos trastornos por administración oral o inyección intravenosa.

40 Los compuestos de fórmula (I) normalmente se administran con una dosis de 0,01 mg/kg a 20 mg/kg por día, preferiblemente de 0,1 a 5,0 mg/kg por día. El intervalo de dosis para seres humanos adultos es por lo tanto en general de 0,7 mg a 1400 mg/día y preferiblemente de 7 a 350 mg/día.

En vista del uso conocido en seres humanos de compuestos estructuralmente similares tales como la lamotrigina, no se prevén problemas importantes de toxicidad en el uso de compuestos de fórmula (I). Sin embargo, se deben llevar a cabo procedimientos de ensayo adecuados antes del uso clínico.

45 Los siguientes ejemplos muestran la preparación de compuestos ilustrativos de fórmula (I) y otros compuestos usados en el ensayo, como se indica más adelante.

Ejemplo 1 - Lamotrigina

Lamotrigina - 5(3)-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-1,2,4-triazina - está aprobada para uso humano como un anticonvulsivo para el tratamiento de la epilepsia y está disponible en el comercio con el nombre de LAMICTAL (GSK). La preparación de la lamotrigina se describe en la patente europea n° 0021121.

50 Ejemplo 2

5-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1,2,4-triazina

La preparación de la base libre del compuesto del título se describe en la patente de EE.UU. n° 4.649.139 (ejemplo

1), por reacción de la 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina con yodometano. La sal de metanosulfonato se preparó a partir de la base libre como sigue.

5 Se agitaron metanosulfonato de metilo (0,50 g, 4,5 mmol), 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (0,50 g, 2,0 mmol) y dimetilformamida (4 ml) y se calentaron a 100°C durante 10 min. Se enfrió la disolución, se añadió tolueno (20 ml), y la mezcla se agitó durante 0,5 h. El sólido se recogió por filtración y se recristalizó en propan-2-ol para dar la sal de metanosulfonato del compuesto del título en forma de un sólido blanco (0,40 g), p.f. 274-276°C.

Ejemplo 3

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina

10 Se añadió yodoetano (3,12 g, 0,02 mol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (2,56 g, 0,01 mol) en acetona (200 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 días, se añadió más yoduro de etilo (1,56 g, 0,01 mol) y se continuó agitando durante 3 días más. El sólido se recogió por filtración y después se agitó en 40 ml de disolución de amoníaco al 18%. El sólido (aproximadamente, 2,5 g) se separó por filtración, se secó a vacío y se recristalizó en metanol para dar 1,4 g (22%) del compuesto del título en forma de un sólido cristalino blanco, p.f. 216-217°C.

15 δ_H (500 MHz, dms_o-d₆) 1,21 (3H, t, J= 7,0 Hz, C-CH₃), 3,90 (2H, q, J= 7,0 Hz, NCH₂), 4,15 (1H, pico ancho, NH), 6,2-7,2 (2H, pico ancho variable, NH₂), 7,41 (2H, m, H aromático), 7,71 (1H, dd, J= 8,2 Hz, H aromático).

Sal de metanosulfonato p.f. 255-260°C.

Ejemplo 4

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-isopropil-1,2,4-triazina

20 Se añadió 2-yodopropano (2 ml, 3,4 g, 0,02 mol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (2,56 g, 0,01 mol) en acetona (200 ml). La mezcla se agitó a temperatura de reflujo durante 5 días, se añadió más 2-yodopropano (1 ml, 0,01 mol) y se continuó calentando a reflujo durante 2 días. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88 (80 ml) durante 0,5 h. El sólido (aproximadamente, 2,5 g) se separó por filtración, se secó a vacío y se recristalizó en metanol para dar 1,0 g (34%) del compuesto del título en forma de un sólido cristalino amarillo pálido, p.f. 209-212°C.

25 δ_H (500 MHz, dms_o-d₆) 1,21 (6H, t, J= 7 Hz, CH₃-C-CH₃), 3,21 (3H, s, CH₃OH), 4,15 (1H, pico ancho, NH), 4,84 (1H, pico ancho, CHN), 7,38-7,46 (2H, m, H aromático), 7,71 (1H, dd, J= 8,2 Hz, H aromático). Este compuesto es un solvato de metanol. Sal de metanosulfonato p.f. 247-250°C.

Ejemplo 5

30 5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2-hidroxietil)-1,2,4-triazina

35 Se añadió 2-yodoetanol (3,44 g, 0,02 mol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (2,56 g, 0,01 mol) en acetona (200 ml). La mezcla se agitó a temperatura de reflujo durante 6 días, se enfrió y el sólido se recogió por filtración. El sólido se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88 (100 ml) y la mezcla se agitó durante 0,5 h. El sólido (aproximadamente, 2,7 g) se separó por filtración, se secó a vacío y se recristalizó en metanol para dar 1,14 g (38%) del compuesto del título en forma de un sólido cristalino blanco, p.f. 217-218°C.

δ_H (500 MHz, dms_o-d₆) 3,34 (3H, s, CH₃OH), 3,68 (2H, t ancho, J= 6 Hz, OCH₂), 3,96 (2H, m, NCH₂), 5,5-7,0 (2H, pico ancho variable, NH₂), 7,36-7,46 (2H, m, H aromático), 7,71 (1H, dd, J= 8,2 Hz, H aromático). Este compuesto es un solvato de metanol.

Sal de metanosulfonato p.f. 242-245°C.

Ejemplo 6

40 5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-propil-1,2,4-triazina

45 Se añadió 1-yodopropano (3,4 g, 0,02 mol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (2,56 g, 0,01 mol) en acetona (200 ml). La mezcla se agitó a temperatura de reflujo durante 2 días, se añadió más 1-yodopropano (1,7 g, 0,01 mol) y se continuó el calentamiento a reflujo durante 24 h más. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88 (80 ml) durante 0,5 h. El sólido (aproximadamente, 3,1 g) se separó por filtración, se secó a vacío y se recristalizó en metanol-agua (aproximadamente, 160 ml) para dar 1,65 g (56%) del compuesto del título en forma de un sólido cristalino blanco, p.f. 197-199°C.

50 δ_H (500 MHz, dms_o-d₆) 0,88 y 0,91 (3H, 2 x t, J= 7 Hz, C-CH₃), 1,64-1,74 (2H, m, C-CH₂-C), 3,82 y 3,90 (2H, 2 x t, J= 7 Hz, NCH₂), 6,2-7,4 (1H, pico ancho variable, NH), 7,35-7,46 (2H, m, H aromático), 7,71 (1H, m, H aromático). Hay

dos tautómeros presentes en una relación 4:1.

Sal de metanosulfonato p.f. 237-240°C.

Ejemplo 7

Metanosulfonato de 5(3)-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-isobutil-1,2,4-triazina

- 5 Se añadió 2-yodobutano (1,8 ml, 2,88 g, 0,016 mol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 0,005 mol) en acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 4 días. Se añadió más 1-yodobutano (0,6 ml, 0,005 mol) y se continuó el calentamiento a reflujo durante 1 día. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88 (80 ml) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 0,9 g) se separó por filtración, se secó a vacío.
- 10 Una porción (0,31 g) se agitó con ácido metanosulfónico (0,10 g) en metanol (3,5 ml) y la mezcla se diluyó con éter para dar el mesilato del compuesto del título (0,22 g) en forma de un sólido cristalino blanco, sin p.f. bien definido (descomposición > 230°C).

15 δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 0,92 (6H, d, J = 5,9 Hz, 2 x C-CH $_3$), 2,12 (1H, m, CHMe $_2$), 2,30 (3H, s, SCH $_3$), 3,92 (2H, s ancho, NCH $_2$), 7,54 (2H, m, H aromático), 7,86 (1H, dd, J = 7,2, 2,5 Hz, H aromático), 8,18 (1H, s ancho, NH, intercambio), 8,2-8,8 (2H, pico ancho variable, NH $_2$, intercambio), 9,14 (1H, s ancho, NH, intercambio).

Ejemplo 8

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-butyl-1,2,4-triazina

- 20 Se añadió 1-yodobutano (2,3 ml, 3,68 g, 0,02 mol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (2,56 g, 0,01 mol) en acetona (200 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 4 días. Se añadió más 1-yodobutano (0,6 ml, 0,005 mol) y se continuó el calentamiento a reflujo durante 1 día. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88 (80 ml) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 2,2 g) se separó por filtración, se secó a vacío y se recrystalizó en metanol para dar 1,1 g (35%) del compuesto del título en forma de un sólido cristalino blanco, p.f. 175°C.

25 δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 0,89 (3H, t, J = 7 Hz, CH $_3$), 1,31 (2H, sextet, J = 7 Hz, CH $_2$ Me), 1,64 (2H, pent, J = 7 Hz, CH $_2$ -C-Me), 3,86 (2H, t, J = 7 Hz, NCH $_2$), 6,2-7,2 (2H, pico ancho variable, NH $_2$), 7,38 (1H, dd, J = 8,2 Hz, H aromático), 7,43 (1H, t, J = 8 Hz, H aromático), 7,70 (1H, dd, J = 8,2 Hz, H aromático).

Ejemplo 9

Hemi-metanosulfonato de 5(3)-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-fenilmetil-1,2,4-triazina

- 30 Se añadió cloruro de bencilo (0,92 ml, 1,01 g, 0,008 mol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,0 g, 0,004 mol) en acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 3 días. Se añadió más cloruro de bencilo (0,6 ml, 0,005 mol) y se continuó el calentamiento a reflujo durante 2 días. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88 (80 ml) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 0,64 g) se separó por filtración, se secó a vacío.
- 35 Una porción (0,35 g) se agitó con ácido metanosulfónico (0,10 g) en metanol (3,5 ml) y la mezcla se diluyó con éter para dar el mesilato del compuesto del título (0,14 g) en forma de un sólido cristalino blanco, sin p.f. bien definido (descomposición > 270°C).

40 δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 2,31 (1,5H, s, SCH $_3$), 5,42 (2H, s ancho, NCH $_2$), 7,39 (5H, m, H aromático), 7,56 (2H, m, H aromático), 7,86 (1H, dd, J = 7,2, 2,4 Hz, H aromático), 8,28 (1H, s, NH, intercambio), 8,4-8,8 (2H, pico ancho variable, NH $_2$, intercambio), 9,28 (1H, s, NH, intercambio).

El espectro indica una estequiometría de heterociclo.0,5 MeSO $_3$ H

m/z 347 (M $^+$ +1).

Ejemplo 10

Hemi-metanosulfonato de 5(3)-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(prop-2-enil)-1,2,4-triazina

- 45 Se añadió bromuro de alilo (1,8 ml, 2,52 g, 0,02 mol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 0,005 mol) en acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 4 días. Se añadió más bromuro de alilo (0,6 ml, 0,007 mol) y se continuó el calentamiento a reflujo durante 1 día. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88 (80 ml) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 0,84 g) se separó por filtración, se secó a vacío.
- 50 Una porción (0,30 g) se agitó con ácido metanosulfónico (0,10 g) en metanol (3,5 ml) y la mezcla se diluyó con éter para dar el mesilato del compuesto del título (0,26 g) en forma de un sólido cristalino amarillo-marrón, sin p.f. bien

definido (descomposición > 270°C).

δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 2,31 (1,5H, s, SCH $_3$), 4,74 (2H, d, J= 4,8 Hz, NCH $_2$), 5,28 (2H, m, H olefínico), 5,93 (1H, m, H olefínico), 7,54 (2H, m, H aromático), 7,86 (1H, m, H aromático), 8,20 (1H, s, NH, intercambio), 8,2-8,8 (2H, pico ancho variable, NH $_2$, intercambio), 9,2 (1H, s, NH, intercambio).

5 El espectro indica una estequiometría de heterociclo.0,5 MeSO $_3$ H.

Ejemplo 11

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-1,2,4-triazin-2-il]acetamida (2-(carboxamido)metil-lamotrigina)

10 Se añadió 2-yodoacetamida (1,85 g, 0,01 mol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 0,005 mol) en acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 4 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88 (50 ml) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,1 g) se separó por filtración, se secó a vacío y se recristalizó en acetonitrilo para dar 0,56 g (36%) del compuesto del título en forma de un sólido cristalino blanco sin p.f. bien definido (descomposición superior a 270°C).

15 δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 2,07 (CH $_3$ CN), 4,44 (2H, s ancho, NCH $_2$), 6,0-7,0 (2H, pico ancho variable, NH $_2$), 7,13 (1H, s ancho, NH, intercambio), 7,37 (1H, dd, J= 8,2 Hz, H aromático), 7,44 (1H, t, J= 8 Hz, H aromático), 7,49 (1H, s ancho, NH, intercambio), 7,71 (1H, dd, J = 8,2 Hz, H aromático).

m/z 313 (M $^+$)

Ejemplo 12

20 5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(4-metil)fenilmetil-1,2,4-triazina

25 Se añadió bromuro de 4-metilbencilo (0,70 g, 4,3 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (0,64 g, 2,5 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (25 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 3 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (40 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 0,7 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en etanol dio el producto (0,44 g) en forma de un sólido blanco, p.f. 180-185°C (descomposición).

δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 2,27 (3H, s, CH $_3$), 5,05 (2H, s, NCH $_2$), 7,14 (2H, d, J= 8 Hz, H aromático), 7,22 (2H, d, J= 8 Hz, H aromático), 7,38 (1H, dd, J= 7,5, 2 Hz, H aromático), 7,44 (1H, d, J= 7,5 Hz, H aromático), 7,71 (1H, dd, J= 7,5, 2 Hz). El espectro indica que el compuesto contiene 0,3EtOH.

30 m/z 361 (M $^+$ + 1).

Ejemplo 13

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2,3-difluoro)fenilmetil-1,2,4-triazina

35 Se añadió bromuro de 2,3-difluorobencilo (2,07 g, 10 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 5 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 6 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 2 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (1,2 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 208-209°C.

40 δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 5,20 (2H, s, NCH $_2$), 5,66 (1H, pico ancho, NH), 6,63 (1H, pico ancho, NH), 7,19 (2H, m, H aromático), 7,35 (1H, m, H aromático), 7,44 (2H, m, H aromático), 7,72 (1H, d ancho, J= 7 Hz, H aromático).

m/z 383 (M $^+$ + 1)

Ejemplo 14

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2-fluoro)fenilmetil-1,2,4-triazina

45 Se añadió cloruro de 2-fluorobencilo (1,45 g, 10 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 5 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 2 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (1,2 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 201-203°C.

δ_{H} (500 MHz, dms o-d_6) 5,16 (2H, s, NCH $_2$), 6-7 (2H, pico ancho variable, NH $_2$), 7,18 (2H, m, H aromático), 7,33 (2H, m, H aromático), 7,42 (2H, m, H aromático), 7,72 (1H, dd, J= 7,5, 1,5 Hz). El espectro indicaba que el compuesto contenía 0,5MeOH.

m/z 365 ($\text{M}^+ + 1$)

5 Ejemplo 15

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(3-fluoro)fenilmetil-1,2,4-triazina

Se añadió cloruro de 3-fluorobencilo (1,45 g, 10 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 5 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,5 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recrystalización en metanol dio el producto (0,42 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 189-190°C.

δ_{H} (500 MHz, dms o-d_6) 5,13 (2H, s, NCH $_2$), 6-7 (2H, pico ancho variable, NH $_2$), 7,14 (3H, m, H aromático), 7,43 (3H, m, H aromático), 7,72 (1H, dd, J= 7,5, 1,5 Hz).

15 m/z 365 ($\text{M}^+ + 1$).

Ejemplo 16

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(4-fluoro)fenilmetil-1,2,4-triazina

Se añadió cloruro de 4-fluorobencilo (1,45 g, 10 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 5 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,6 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recrystalización en metanol dio el producto (1,1 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 189-190°C.

25 δ_{H} (500 MHz, dms o-d_6) 5,08 (2H, s, NCH $_2$), 6-7 (2H, pico ancho variable, NH $_2$), 7,17 (2H, t, J= 8 Hz, H aromático), 7,40 (4H, m, H aromático), 7,71 (1H, dd, J= 7, 2 Hz, H aromático). m/z 365 ($\text{M}^+ + 1$)

Ejemplo 17

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2-metoxi)fenilmetil-1,2,4-triazina

Se añadió cloruro de 2-metoxibencilo (1,56 g, 10 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 5 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,8 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recrystalización en etanol dio el producto (0,95 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 194-196°C.

35 δ_{H} (500 MHz, dms o-d_6) 3,80 (3H, s, OCH $_3$), 5,05 (2H, s ancho, NCH $_2$), 6,5-7,0 (1H, pico ancho variable, NH), 6,92 (1H, t, J= 8 Hz, H aromático), 7,01 (2H, t ancho, J= 8 Hz, H aromático), 7,26 (1H, t ancho, J= 8 Hz, H aromático), 7,40 (2H, m, H aromático), 7,69 (1H, d ancho, J= 8 Hz, H aromático).

m/z 377 ($\text{M}^+ + 1$)

Ejemplo 18

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(3-metoxi)fenilmetil-1,2,4-triazina

40 Se añadió cloruro de 3-metoxibencilo (1,56 g, 10 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 5 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,4 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recrystalización en etanol dio el producto (0,64 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 192-195°C.

45 δ_{H} (500 MHz, dms o-d_6) 3,73 (3H, s, OCH $_3$), 5,07 (2H, s ancho, NCH $_2$), 6,5-7,0 (1H, pico ancho variable, NH), 6,84 (1 H, d ancho, J= 8 Hz, H aromático), 6,88 (2H, m, H aromático), 7,26 (1H, t, J= 8 Hz, H aromático), 7,42 (2H, m, H aromático), 7,71 (1H, d, J= 7 Hz, H aromático).

m/z 377 ($\text{M}^+ + 1$)

Ejemplo 19

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(4-metoxi)fenilmetil-1,2,4-triazina

5 Se añadió cloruro de 4-metoxibencilo (1,56 g, 10 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 5 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,6 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en etanol dio el producto (0,83 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 212-215°C.

m/z 377 ($M^+ + 1$)

Ejemplo 20

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(3-cloro)fenilmetil-1,2,4-triazina

15 Se añadió bromuro de 3-clorobencilo (2,05 g, 10 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 5 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,2 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (0,35 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 178-180°C.

20 δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 5,11 (2H, s ancho, NCH $_2$), 6,5-7,0 (1H, pico ancho variable, NH), 7,28 (1H, d ancho, J = 8 Hz, H aromático), 7,32-7,47 (5H, m, H aromático), 7,72 (1H, dd, J = 7, 2 Hz, H aromático). El espectro indica la presencia de 0,75MeOH.

m/z 381, 383 ($M^+ + 1$)

Ejemplo 21

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(4-cloro)fenilmetil-1,2,4-triazina

25 Se añadió cloruro de 4-clorobencilo (1,61 g, 10 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 5 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,5 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (0,71 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 192-193°C.

30 δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 5,09 (2H, s, NCH $_2$), 5,5 (1H, pico ancho variable, NH), 6,5 (1H, pico ancho variable, NH), 7,35 (2H, d, J = 8 Hz, H aromático), 7,42 (4H, m, H aromático), 7,72 (1H, d ancho, J = 7 Hz, H aromático).

m/z 381, 383 ($M^+ + 1$)

Ejemplo 22

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2-cloro)fenilmetil-1,2,4-triazina

35 Se añadió bromuro de 2-clorobencilo (2,06 g, 10 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 5 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,5 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (0,71 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 205°C (descomposición).

40 δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 3,32 (3H, s, MeOH), 5,18 (2H, s, NCH $_2$), 5,6 (1H, pico ancho, NH, intercambio), 6,6 (1H, pico ancho, NH, intercambio), 7,20 (1H, m, H aromático), 7,32 (2H, m, H aromático), 7,46 (3H, m, H aromático), 7,70 (1H, d ancho, J = 7 Hz, H aromático).

m/z 381, 383 ($M^+ + 1$)

Ejemplo 23

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2-trifluorometil)fenilmetil-1,2,4-triazina

Se añadió bromuro de 2-trifluorometilbencilo (0,56 g, 2,2 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (0,56 g, 2,2 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (25 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con

disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (40 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,5 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (0,42 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 200-201°C.

5 δ_{H} (500 MHz, dms -d_6) 3,32 (3H, s, MeOH), 5,31 (2H, s, NCH $_2$), 5,66 (1H, s ancho, NH, intercambio), 6,66 (1H, s ancho, NH, intercambio), 7,31 (1H, d, J = 8 Hz, H aromático), 7,45 (3H, m, H aromático), 7,5 (1H, pico ancho, NH, intercambio), 7,72 (3H, m, H aromático).

m/z 414, 416 ($\text{M}^+ + 1$)

Ejemplo 24

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(3-trifluorometil)fenilmetil-1,2,4-triazina

10 Se añadió bromuro de 3-trifluorometilbencilo (2,0 g, 8,7 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,12 g, 4,4 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,2 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (0,52 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 168-170°C.

15 δ_{H} (500 MHz, dms -d_6) 3,32 (3H, s, MeOH), 5,22 (2H, s ancho, NCH $_2$), 5,4-5,8 (1H, pico ancho variable, NH, intercambio), 6,4-6,8 (1H, s ancho, NH, intercambio), 7,42 (2H, m, H aromático), 7,63 (4H, m, H aromático), 7,73 (1H, d ancho, J= 7 Hz, H aromático).

m/z 414, 416 ($\text{M}^+ + 1$).

20 Ejemplo 25

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(4-trifluorometil)fenilmetil-1,2,4-triazina

25 Se añadió cloruro de 4-trifluorometilbencilo (1,0 g, 4,0 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (0,56 g, 2,2 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (25 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (40 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 0,7 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (0,42 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 198-200°C.

30 δ_{H} (500 MHz, dms -d_6) 3,32 (3H, s, MeOH), 5,20 (2H, s ancho, NCH $_2$), 5,3-5,8 (1H, pico ancho variable, NH, intercambio), 6,4-6,8 (1H, s ancho, NH, intercambio), 7- 8 (1H, pico ancho variable, NH, intercambio), 7,43 (2H, m, H aromático), 7,53 (2H, d ancho, J= 8 Hz, H aromático), 7,73 (3H, d ancho, J= 8 Hz, H aromático). m/z 414, 416 ($\text{M}^+ + 1$).

Ejemplo 26

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2-fluoro-3-trifluorometil)fenilmetil-1,2,4-triazina

35 Se añadió bromuro de 2-fluoro-3-trifluorometilbencilo (1,0 g, 4,0 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (0,56 g, 2,2 mmol), NaI (50 mg) y acetona (25 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 5 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (40 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 0,7 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (0,40 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. > 250°C (descomposición).

40 δ_{H} (500 MHz, dms -d_6) 3,32 (3H, s, MeOH), 5,23 (2H, s ancho, NCH $_2$), 5,67 (1H, s ancho, NH, intercambio), 6,5-7,0 (1H, pico ancho variable, NH, intercambio), 7,42 (3H, m, H aromático), 7,5 (1H, pico ancho, NH, intercambio), 7,70 (3H, m, H aromático).

m/z 432, 434 ($\text{M}^+ + 1$).

Ejemplo 27

45 4-[[5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3(5)-imino-1,2,4-triazin-2-il]metil]benzamida o 5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(3-carboxamido)fenilmetil-1,2,4-triazina

La 3-(clorometil)benzamida se preparó por reacción de cloruro de 3-clorometilbenzoilo con amoníaco según el procedimiento de C. Y. Watson et al., *Bioorg. & Med Chem.*, 6, 721-734 (1998).

50 Se añadió (3-clorometil)benzamida (1,33 g, 7,8 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,61 g, 6,3 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (70 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de

reflujo durante la noche. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,5 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (0,92 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 228-230°C.

- 5 δ_H (500 MHz, dms o -d $_6$) 3,32 (3H, s, MeOH), 5,15 (2H, s ancho, NCH $_2$), 5,4-5,8 (1H, pico ancho variable, NH, intercambio), 6,4-6,8 (1H, pico ancho variable, NH, intercambio), 7,34 (1H, s ancho, NH, intercambio), 7,38-7,48 (4H, m, H aromático), 7,70 (1H, d ancho, J= 8 Hz, H aromático.), 7,76 (1H, s ancho, J= 8 Hz, H aromático), 7,84 (1H, s ancho, H aromático), 7,96 (1H, s ancho, NH, intercambio). m/z 389, 391 ($M^+ + 1$).

Ejemplo 28

- 10 4-[[5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3(5)-imino-1,2,4-triazin-2-il]metil]fenilmetanol o 5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(4-hidroximetil)fenilmetil-1,2,4-triazina

Se añadió alcohol 4-(clorometil)bencílico (1,0 g, 6,4 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 5 mmol), NaI (0,1 g) y acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 10 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (80 ml, 1:1) durante 0,5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,3 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (0,47 g) en forma de un sólido amarillo pálido, p.f. 215-217°C.

- 15 δ_H (500 MHz, dms o -d $_6$) 3,32 (3H, s, MeOH), 4,47 (2H, d, J=5 Hz, OH, intercambio), 5,08 (2H, s ancho, NCH $_2$), 5,14 (1H, t ancho, J= 5 Hz, OH, intercambio), 5,4-5,8 (1H, pico ancho variable, NH, intercambio), 6,4-6,8 (1H, pico ancho variable, NH, intercambio), 7,28 (4H, m, H aromático), 7,40 (1H, d ancho, J= 8 Hz, H aromático), 7,45 (1H, t, J=8 Hz, H aromático), 7,72 (1H, d ancho, J= 8 Hz, H aromático).

m/z 376, 378 ($M^+ + 1$).

Ejemplo 29

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(3-tienilmetil)-1,2,4-triazina

- 25 El 3-clorometiltiofeno se preparó por cloración del tiofeno-3-metanol según el procedimiento S. Gronowitz and S. Liljefors, *Chemica Scripta*, 13, 39-45 (1978-79).

Se añadió 2-clorometiltiofeno (1,04 g, 7,8 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,00 g, 3,9 mmol), NaI (0,07 g) y acetona (35 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 36 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (30 ml, 1:1) durante 5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 0,5 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (0,22) en forma de un sólido de color crema, p.f. 191-192°C (descomposición).

- 30 δ_H (500 MHz, dms o -d $_6$) 3,32 (3H, s, CH $_3$ OH), 5,07 (2H, s, NCH $_2$), 5,2-6,0 (1H, pico ancho variable, NH, intercambio), 6,5-7,5 (2H, pico ancho variable, NH $_2$), 7,11 (1H, dd, J= 5, 1 Hz, H aromático), 7,37-7,45 (3H, m, H aromático), 7,50 (1H, m, H aromático), 7,72 (1H, dd, J= 7,5, 2 Hz). El espectro indica que el compuesto contiene 1,0MeOH. m/z 353 ($M^+ + 1$).

Ejemplo 30

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(3-furanilmetil)-1,2,4-triazina

- 40 El 3-clorometilfurano se preparó por cloración del furan-3-metanol según el procedimiento de E. Sherman and E. D. Amstutz, *J. Am. Chem. Soc.*, 72, 2195-2199 (1950).

Se añadió 3-clorometilfurano (0,90 g, 7,7 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,00 g, 3,9 mmol), NaI (0,07 g) y acetona (40 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 36 h. Después de enfriar, el sólido se recogió por filtración y después se agitó con disolución acuosa de amoníaco 0,88-agua (30 ml, 1:1) durante 5 h. El sólido resultante (aproximadamente, 1,1 g) se separó por filtración y se secó a vacío. La recristalización en metanol dio el producto (0,72 g) en forma de un sólido de color crema, p.f. 191-193°C.

- 45 δ_H (500 MHz, dms o -d $_6$) 3,32 (3H, s, CH $_3$ OH), 4,92 (2H, s, NCH $_2$), 5,5-6,4 (1H, pico ancho variable, NH, intercambio), 6,48 (1H, s ancho, H furano), 6,5-7,5 (2H, pico ancho variable, NH $_2$), 7,37-7,46 (2H, m, H aromático), 7,61 (1H, s ancho, H furano), 7,64 (1H, s ancho, H furano), 7,71 (1H, dd, J= 7,5, 2 Hz, H aromático). El espectro indica que el compuesto contiene 1,0MeOH.

m/z 337 ($M^+ + 1$).

Ejemplo 31

6-(2,3,5-triclorofenil)-1,2,4-triazina-3,5-diamina

Se preparó de acuerdo con el método descrito en la patente de EE.UU. 4.602.017; p.f. 232-235°C

Ejemplo 32

5 5(3)-Amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4-triazina

Se añadió yodometano (0,40 g, 2,8 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3,5-triclorofenil)-1,2,4-triazina (0,20 g, 0,7 mmol) en acetona (15 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 6 días y el disolvente se separó a vacío a 40°C. Se añadió hielo (aproximadamente, 4 g) al residuo seguido de disolución acuosa de amoniaco 0,88 (3 ml) y la mezcla se agitó durante 4 h. El sólido se separó por filtración, se secó a vacío y se recristalizó en etanol para dar 0,13 g del compuesto del título en forma de un sólido cristalino de color blanquecino, p.f. 225-226°C.

δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 3,47 (3H, s, NCH $_3$), 5,5-7,4 (3H, pico ancho variable, NH, intercambio), 7,56 (1H, d, J= 2,5 Hz, H aromático), 7,92 (1H, dd, J= 2,5 Hz, H aromático).

m/z 304-306 (M^+ + 1).15 **Ejemplo 33**

6-(2,3-difluorofenil)-1,2,4-triazina-3,5-diamina

Etapa 1. Cloruro de 2,3-difluorobenzoilo

Se calentaron a temperatura de reflujo ácido 2,3-difluorobenzoico (11,6 g, 0,07 mol), cloruro de tionilo (37,5 ml, 61,1 g, 0,5 mol) y tolueno (80 ml) durante 3 h. La disolución se enfrió y los compuestos volátiles se separaron a vacío. El residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno (2 x 30 ml) para dar el producto (10,8 g) para dar un aceite amarillo transparente.

Etapa 2. Cianuro de 2,3-difluorobenzoilo

Se calentaron a temperatura de reflujo cianuro de cobre(1) (6,6 g, 0,07 mol), yoduro potásico (12,2 g, 0,07 mol) y xileno (70 ml) durante 24 h usando un aparato Dean-stark. Se añadió una disolución de cloruro de 2,3-difluorobenzoilo (10,8 g, 0,06 mol) en xileno (40 ml). La suspensión resultante se calentó a reflujo en atmósfera de N $_2$ a 165°C durante 3 días usando un aparato Dean-Stark. Después de enfriar, las sales inorgánicas se separaron por filtración y el filtrado se concentró a vacío. El residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno (2 x 30 ml) para dar el producto (7,2 g) en forma de un sólido marrón.

Etapa 3. 2-(2,3-Difluorofenil)-2-(guanidinoimino)acetonitrilo

Se añadió lentamente ácido sulfúrico concentrado (43,5 ml, 80 g, 0,82 mol) a agua (45 ml) con agitación. Se añadió lentamente bicarbonato de aminoguanidina (4,4 g, 0,032 mol) a esta disolución de ácido caliente con agitación (¡precaución! evolución de CO $_2$) y se continuó agitando durante 15 min más. Se añadió gota a gota una disolución de cianuro de 2,3-difluoro-benzoilo (3,1 g, 0,019 mol) en acetonitrilo (20 ml) a lo largo de 0,5 h a la disolución anterior del sulfato de aminoguanidina y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. Después se añadió con cuidado disolución acuosa de NaOH (4 M), con enfriamiento en un baño de hielo, hasta que la mezcla estaba a pH 7. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua y se secó para dar el producto (2,9 g) en forma de un sólido amarillo, p.f. 168-170°C.

Etapa 4

Se agitaron 2-(2,3-difluorofenil)-2-(guanidinoimino)acetonitrilo (2,8 g, 0,01 mol) y propan-1-ol (30 ml) y se calentaron a temperatura de reflujo durante 1,5 h. La disolución fría se concentró a vacío y el residuo se cromatografió en sílice (250 g). La elución con CH $_2$ Cl $_2$ -MeOH (95:5) dio un sólido marrón. Este material se suspendió en CH $_2$ Cl $_2$ y los productos insolubles que quedaban se recogieron por filtración para dar el producto (1,3 g) en forma de un sólido de color crema, p.f. 229-230°C.

δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 6,42 (2H, s ancho, NH $_2$, intercambio), 6,6-7,0 (2H, pico ancho variable, NH $_2$, intercambio), 7,25 (1H, t ancho, J =7,5 Hz, H aromático), 7,30 (1H, m, H aromático), 7,48 (1H, m, H aromático). m/z 224 (M^+ + 1)

Ejemplo 34

5(3)-Amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-propil-1,2,4-triazina

Se añadió yodopropano (0,51 g, 3 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3,5-triclorofenil)-1,2,4-triazina (0,29 g, 1 mmol) en acetona (15 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 8 días.

Después de enfriar, el precipitado se recogió por filtración, y después se agitó en agua (4 ml) y disolución acuosa de amoníaco (2 ml) durante 4 h. El sólido se separó por filtración, se secó a vacío y se recrystalizó en metanol para dar 0,15 g del compuesto del título en forma de un sólido cristalino de color blanquecino, p.f. 240-243°C.

5 δ_H (500 MHz, dms o -d $_6$) 0,88 (3H, t, J= 7,5 Hz, CH $_3$), 1,67 (2H, sext, J= 7,5 Hz, CH $_2$), 3,82 (2H, t, J= 7,5 Hz, NCH $_2$), 6,3-7,3 (2H, pico ancho variable, NH $_2$, intercambio), 7,56 (1H, d, J= 2,5 Hz, H aromático), 7,92 (1H, d, J= 2,5 Hz, H aromático).

m/z 332-334 (M $^+$ + 1).

Ejemplo 35

3-Cloro-2-(fluorofenil)-1,2,4-triazina-3,5-diamina

10 Etapa 1. Ácido 3-cloro-2-fluorobenzoico

Se disolvió 3-cloro-2-fluorobenzaldehído (15,9 g, 0,1 mol) en *terc*-butanol (60 ml), se agitó y se calentó en atmósfera de N $_2$ a 50°C. Se calentó disolución acuosa de NaOH 2 M (100 ml, 0,2 mol) a 50°C y se añadió a la disolución del aldehído. Se añadió disolución acuosa de peróxido de hidrógeno (H $_2$ O $_2$, 30%, 70 ml, 0,6 mol) a lo largo de 45 min, manteniendo la temperatura a 55-60°C. La mezcla se agitó y se calentó en atmósfera de N $_2$ durante 1 h más, se enfrió y se concentró a vacío. La suspensión residuo se filtró. El filtrado se lavó con tolueno (2 x xx ml) y se acidificó a pH 1 con ácido clorhídrico 5 N mientras se agitaba enérgicamente. El sólido resultante se recogió por filtración, se lavó con agua y se secó a vacío at 50°C, para dar 11,1 g del producto, p.f. 179-181°C.

Se ha descrito que una muestra preparada por una ruta diferente [J. Mortier et al., *Tetrahedron Lett.*, 36, 881-884 (1995)] tenía p.f. 179-181°C.

20 Etapa 2. Cloruro de 3-cloro-2-fluorobenzoilo

Se calentaron a temperatura de reflujo ácido 3-cloro-2-fluorobenzoico (10,0 g, 0,06 mol), cloruro de tionilo (31 ml, 50 g, 0,4 mol) y tolueno seco (40 ml) durante 3 h. La disolución se enfrió y los productos volátiles se separaron a vacío. El residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno (2 x 30 ml) para dar el producto (11,5 g) en forma de un aceite amarillo claro.

25 Etapa 3. Cianuro de 3-cloro-2-fluorobenzoilo

Se calentaron a reflujo cianuro de cobre(1) (6,6 g, 0,07 mol), yoduro potásico (12,2 g, 0,07 mol) y xileno (50 ml) a temperatura de reflujo durante 24 h usando un aparato Dean-stark. Se añadió una disolución de 3-cloro-2-fluorobenzoilo (11,5 g, 0,06 mol) en xileno (15 ml). La suspensión resultante se calentó a reflujo en atmósfera de N $_2$ a 165°C durante 3 días usando un aparato Dean-Stark. Después de enfriar, las sales inorgánicas se separaron por filtración y el filtrado se concentró a vacío. El residuo se destiló azeotrópicamente con tolueno (2 x 30 ml) para dar el producto (9,5 g) en forma de un sólido marrón.

Etapa 4. 2-(3-Cloro-2-fluorofenil)-2-(guanidinoimino)acetoniitrilo

Se añadió lentamente ácido sulfúrico concentrado (43,5 ml, 150 g, 1,6 mol) a agua (45 ml) con agitación. Se añadió lentamente bicarbonato de aminoguanidina (5,7 g, 0,036 mol) a esta disolución de ácido caliente con agitación (¡precaución! evolución de CO $_2$) y se continuó agitando durante 15 min más. Se añadió gota a gota una disolución de cianuro de 3-cloro-2-fluoro-benzoilo (4,3 g, 0,02 mol) en acetoniitrilo (31 ml) a lo largo de 0,5 h a la disolución de sulfato de aminoguanidina anterior y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 días. Después se añadió con cuidado disolución acuosa de NaOH (4 M), enfriando en un baño de hielo, hasta que la mezcla estaba a pH 7. El precipitado se recogió por filtración, se lavó con agua y se secó para dar el producto (3,2 g) en forma de un sólido marrón.

Etapa 5

Se agitaron 2-(3-cloro-2-fluorofenil)-2-guanidinoimino)acetoniitrilo (3,2 g, 0,01 mol) y propan-1-ol (30 ml) y se calentaron a temperatura de reflujo durante 3 h. La disolución fría se concentró a vacío y el residuo se cromatografió en sílice (250 g). La elución con CH $_2$ Cl $_2$ -MeOH (95:5) dio un sólido marrón. Este material se suspendió en CH $_2$ Cl $_2$ y los productos insolubles que quedaban se recogieron por filtración para dar el producto (1,3 g) en forma de un sólido de color crema, p.f. 246-247°C.

50 δ_H (500 MHz, dms o -d $_6$) 6,99 (2H, s ancho, NH $_2$, intercambio), 7,28 (1H, t, J= 8 Hz, H aromático), 7,44 (1H, td, J =8, 2 Hz, H aromático), 7,65 (1H, td, J =8, 2 Hz, H aromático), 12,5 (1H, pico ancho, NH, intercambio).

m/z 240, 242 (M $^+$ + 1).

50 **Ejemplo 36**

5(3)-Amino-6-(3-cloro-2-fluorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4-triazina

Se añadió yodometano (0,5 ml, 1,14 g, 8 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(3-cloro-2-fluorofenil)-1,2,4-triazina (0,48 g, 2 mmol) en acetona (25 ml). La mezcla se agitó a 45°C durante 24 h, se enfrió, y el sólido se recogió por filtración. Se añadió hielo (aproximadamente, 10 g) al residuo seguido de disolución acuosa de amoníaco 0,88 (5 ml) y la mezcla se agitó durante 4 h. El sólido se separó por filtración, se secó a vacío y se recristalizó en metanol para dar 0,23 g del compuesto del título en forma de un sólido cristalino blanquecino, p.f. 194-196°C.

δ_{H} (500 MHz, dms o-d_6) 3,48 (3H, s, NCH $_3$), 6,2-7,2 (2H, pico ancho variable, NH $_2$, intercambio), 7,27 (1H, t, J= 8 Hz, H aromático), 7,40 (1H, td, J= 8, 2Hz, H aromático), 7,64 (1H, td, J= 8,2 Hz, H aromático).

m/z 254, 256 (M $^+$ + 1)

10 **Ejemplo 37**

4-[5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-1,2,4-triazin-2-ilmetil]piperidina-1-carboxilato de 1,1-dimetiletilo o

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(Boc-piperidin-4-il)metil-1,2,4-triazina

4-Yodometilpiperidina-1-carboxilato de 1,1-dimetiletilo [preparado a partir de isonipecotato de etilo mediante un procedimiento de 3 etapas según el método de A. Villalobos et al., *J. Med. Chem.*, 37, 2721-2734 (1994)].

Se añadieron (3,25 g, 10 mmol) a una suspensión agitada de 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (1,28 g, 5 mmol) en acetona (50 ml). La mezcla se agitó y se calentó a temperatura de reflujo durante 9 días. Después de enfriar en hielo, se recogió el sólido (2,5 g) por filtración. Este material se agitó en agua (10 ml) y disolución acuosa de amoníaco 0,88 (10 ml) durante 12 h. El sólido se separó por filtración, se secó a vacío y se recristalizó en metanol para dar 0,60 g del uretano anterior en forma de un sólido cristalino blanquecino, sin p.f. no definido.

m/z 453, 455 (M $^+$ + 1).

δ_{H} (500 MHz, dms o-d_6) 1,05 (2H, ddd, J= 25, 12, 4 Hz, CCH $_2$ C), 1,38 (9H, s, C(CH $_3$) $_3$), 1,59 (2H, d ancho, J= 12 Hz, CCH $_2$ C), 2,06 (1H, m, CH), 2,69 (2H, m, CH $_2$ N), 3,76 (2H, m, CH $_2$ N), 3,92 (2H, d ancho, J= 7 Hz, NNCH $_2$), 5,0-6,0 (1H, pico ancho variable, NH, intercambio), 6,4-7,0 (2H, pico ancho variable, NH $_2$, intercambio), 7,39 (1H, d, J= 7,5 Hz, H aromático), 7,44 (1H, t, J= 7,5 Hz, H aromático), 7,70 (1H, d, J= 7,5 Hz, H aromático).

25 **Ejemplo 38**

Dimetanosulfonato de 4-[5(3)-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-1,2,4-triazin-2-ilmetil]piperidina o

5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(piperidin-4-il)metil-1,2,4-triazina

Se disolvió 4-[5(3)-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-1,2,4-triazin-2-ilmetil]piperidina-1-carboxilato de 1,1-dimetiletilo (0,5 g, 1,1 mmol) en CH $_2$ Cl $_2$ (10 ml) y se añadió ácido trifluoroacético (TFA, 10 ml). La mezcla se agitó durante 0,5 h, después se concentró a vacío. El TFA restante que separó por destilación azeotrópica con tolueno. El residuo se agitó con disolución saturada de NaHCO $_3$ (10 ml) y después se añadió amoníaco (d = 0,88) hasta que el pH era 12. La mezcla se agitó 2 h, el sólido que se depositó se recogió por filtración y se secó. Este material (0,12 g, 0,3 mmol) se disolvió en metanol (3 ml) y se añadió ácido metanosulfónico (70 mg, 0,7 mmol). La disolución se agitó durante 2 h y después se diluyó lentamente con éter hasta que precipitó un sólido aceitoso. Este se trituró y se separó por filtración y se secó a vacío para dar el producto (0,18 g) en forma de un sólido blanquecino, p.f. 180-200°C.

m/z 353, 355 (M $^+$ + 1).

δ_{H} (500 MHz, dms o-d_6) 1,30 (2H, ddd ancho, J= 25, 12, 4 Hz, CCH $_2$ C), 1,79 (2H, d ancho, J= 12 Hz, CCH $_2$ C), 2,07 (1H, m, CH), 1,59 (2H, d ancho, J= 12 Hz, CCH $_2$ C), 2,07 (1H, m, CH), 2,31 (6H, m, CH $_3$ S), 2,76 (2H, td, J= 12, 4 Hz, CH $_2$ N), 3,20 (2H, d ancho, J = 12 Hz, NCH $_2$), 3,22-3,40 (7H, pico ancho, NH, intercambio), 4,00 (2H, d ancho, J= 7 Hz, NNCH $_2$), 7,53 (1H, dd, J= 7,5, 2 Hz, H aromático), 7,56 (1H, t, J= 7,5 Hz, H aromático), 7,86 (1H, dd, J= 7,5, 2 Hz, H aromático).

40 **Ejemplo 39**

45 5(3)-Amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(3,3,3-trifluoropropil)-1,2,4-triazina

Sin p.f. bien definido (descomposición)

δ_{H} (500 MHz, dms o-d_6) 2,76-2,86 (2H, m, CH $_2$ CF $_3$), 4,31 (2H, t, J= 7 Hz, NCH $_2$), 7,47 (1H, dd, J= 8, 1,5 Hz, H aromático), 7,53 (1H, t, J= 8 Hz, H aromático), 7,84 (1H, dd, J= 8, 1,5 Hz, H aromático), 8,30 (3H, pico ancho, NH, intercambio). m/z 352, 354 (M $^+$ + 1).

Ejemplo 40

2-cloro-3-fluorofenil-1,2,4-triazina-3,5-diamina

Este compuesto se preparó de una forma similar al ejemplo 35 mediante los siguientes compuestos intermedios:

Etapa 1:

- 5 Ácido 3-cloro-2-fluorobenzoico se obtuvo por cloración de ácido 3-fluorobenzoico según el método de B. Bennetau et al., *J. Chem. Soc. Perkin Trans 1*, 1265-1271 (1995).

Etapa 2

Cloruro de 3-cloro-2-fluorobenzoilo.

Etapa 3

- 10 Cianuro de 3-cloro-2-fluorobenzoilo

Etapa 4

2-(3-Cloro-2-fluorofenil)-2-(guanidinoimino)acetonitrilo

Etapa 5

2-Cloro-3-fluorofenil-1,2,4-triazina-3,5-diamina, p.f. 244-246°C, m/z 240, 242 (M⁺ + 1).

- 15 δ_H (500 MHz, dmsó-d₆) 6,4-7,0 (4H, s + pico ancho, 2 x NH₂, intercambio), 7,25 (1H, m, H aromático), 7,47 (2H, m, H aromático).

Ejemplo 41

3,5-Diamino-6-(2,5-diclorofenil)-1,2,4-triazina, p.f. 228-230°C, se preparó según el método descrito en la patente de EE.UU. n° 4.602.017.

- 20 **Ejemplo 42**

3,5-Diamino-6-(3,5-diclorofenil)-1,2,4-triazina, p.f. 223-225°C, se preparó a partir de ácido 3,5-diclorobenzoico usando una metodología similar a la usada en el ejemplo 33.

Ejemplo 43

- 25 3,5-Diamino-6-fenil-1,2,4-triazina, p.f. 218-219°C, se preparó usando el método de J.A. Settepani and A.B. Borkovec, *J. Heterocycl. Chem.*, 3, 188-190, (1966)

Ejemplo 44

3,5-Diamino-6-(2,4-diclorofenil)-1,2,4-triazina se preparó según el método de R.W.A. Rees and P.B. Russell et al., *J. Med. Chem.*, 15, 859-861 (1972).

Ejemplo 45

- 30 Metanosulfonato de 5(3)-amino-6-(2,4-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4-triazina, p.f. 283-285°C, se preparó por reacción de 3,5-diamino-6-(2,4-diclorofenil)-1,2,4-triazina y metanosulfonato de metilo de una forma similar al ejemplo 2, pero usando etanol como disolvente. Este compuesto se describe en la patente de EE.UU. n° 4.649.139.

Ejemplo 46

- 35 Metanosulfonato de 5(3)-amino-6-fenil-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4-triazina, p.f. 230-232°C, se preparó por reacción de 3,5-diamino-6-fenil-1,2,4-triazina y metanosulfonato de metilo de una forma similar a la del ejemplo 2, pero usando etanol como disolvente. La base libre se describe en la patente de EE.UU. n° 4.649.139.

Ejemplo 47

- 40 Metanosulfonato de 5(3)-amino-6-fenil-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina, p.f. 230-232°C, se preparó por reacción de 3,5-diamino-6-fenil-1,2,4-triazina y metanosulfonato de etilo de una forma similar a la del ejemplo 2, pero usando etanol como disolvente.

Ejemplo 48

Metanosulfonato de 5(3)-amino-6-(2,5-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4-triazina, p.f. 297-298°C, se preparó según el método descrito en la patente de EE.UU. n° 4.649.139.

Ejemplo 49

5 Metanosulfonato de 5(3)-amino-6-(2,5-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina, p.f. 264-265°C, se preparó por reacción de 3,5-diamino-6-(2,5-diclorofenil)-1,2,4-triazina con metanosulfonato de etilo de una forma similar a la descrita en el ejemplo 2, pero usando etanol como disolvente.

Ejemplo 50

10 5(3)-Amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina, p.f. 269-271°C, se preparó por reacción de 3,5-diamino-6-(2,3,5-triclorofenil)-1,2,4-triazina con metanosulfonato de etilo de una forma similar a la descrita en el ejemplo 2, pero usando etanol como disolvente.

Ejemplo 51

3,5-Diamino-6-(2-trifluorometoxifenil)-1,2,4-triazina, p.f. 148-150°C, se preparó a partir de ácido 2-trifluorometoxibenzoico usando metodología similar a la usada para el ejemplo 33.

Ejemplo 52

15 Metanosulfonato de 5(3)-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2-fluoroetil)-1,2,4-triazina

Etapa 1

Metanosulfonato de 2-fluoroetilo

20 Se añadió cloruro de metanosulfonilo (12,6 g, 0,11 mol) a lo largo de 10 min a una disolución agitada de 2-fluoroetanol (6,40 g, 0,10 mol) en diclorometano (100 ml) que contenía trietilamina (12,1 g, 0,12 mol) mantenida a 0-5°C. La mezcla se agitó durante 1 h y se dejó calentar a temperatura ambiente durante este tiempo. La mezcla se diluyó con diclorometano (25 ml), y después se lavó con hielo-agua (40 ml), seguido de ácido clorhídrico al 10% frío (40 ml), disolución saturada de bicarbonato sódico (40 ml) y salmuera (40 ml). La disolución de diclorometano se secó sobre sulfato sódico y el disolvente se separó a vacío para dar el producto en forma de un aceite amarillo pálido (11,4 g). Este material se usó sin más purificación para la siguiente reacción.

Etapa 2

30 Se agitaron 2-fluoroetanol (0,50 g, 3,5 mmol), 3,5-diamino-6-(2,3-diclorofenil)-1,2,4-triazina (0,50 g, 2,0 mmol) y dimetilformamida (4 ml) y se calentaron a 120°C durante 24h. La disolución se enfrió, se añadió éter (30 ml), y la mezcla se agitó y se trituró durante 0,5 h. Después de sedimentar la mezcla, el disolvente se decantó del precipitado aceitoso y el residuo se extrajo con 2-butanona hirviendo (25 ml, 2 x) para separar las impurezas. La cristalización del residuo en metanol-éter dio el compuesto del título en forma de un sólido marrón claro (0,40 g), p.f. 253-255°C (descomposición, calentamiento rápido).

δ_H (500 MHz, dms_o-d₆) 2,31 (3H, s, SCH₃), 4,46 (2H, dt ancho, J= 26,4, 5Hz, NCH 2), 4,76 (2H, d ancho, J= 47,2 Hz, FCH₂), 7,55 (2H, m, H aromático), 7,86 (1H, m, H aromático), 8,28 (1H, s, NH, intercambio), 8,3-9,0 (2H, pico ancho variable, NH₂, intercambio), 9,24 (1H, s, NH, intercambio)

Ejemplo 53

35 Metanosulfonato de 5(3)-amino-6-(3,5-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4-triazina, p.f. 234-236°C, se preparó por reacción de 3,5-diamino-6-(3,5-diclorofenil)-1,2,4-triazina y metanosulfonato de metilo de una forma similar al ejemplo 2, pero usando etanol como disolvente.

Ejemplo 54

40 Metanosulfonato de 5(3)-amino-6-(3,5-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina, p.f. 217-219°C, se preparó por reacción de 3,5-diamino-6-(3,5-diclorofenil)-1,2,4-triazina y metanosulfonato de etilo de una forma similar al ejemplo 2, pero usando etanol como disolvente.

Ejemplo 55

45 Metanosulfonato de 5(3)-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2-fluoroetil)-1,2,4-triazina, p.f. 212-214°C, se preparó por reacción de metanosulfonato de 2-fluoroetilo con 3,5-diamino-6-(2,3,5-triclorofenil)-1,2,4-triazina en dimetilformamida de una forma similar a la del ejemplo 52.

Ejemplo 56

Metanosulfonato de 5(3)-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(3,3,3-trifluoropropil)-1,2,4-triazina

Etapa 1

El metanosulfonato de 3,3,3-trifluoropropilo se preparó por reacción de 3,3,3-trifluoropropanol con cloruro de metanosulfonilo por un procedimiento análogo al usado para el ejemplo 52, etapa 1.

Etapa 2

- 5 La reacción del metanosulfonato de 3,3,3-trifluoropropilo con 3,5-diamino-6-(2,3,5-triclorofenil)-1,2,4-triazina en dimetilformamida de una forma similar a la del ejemplo 52, dio el compuesto del título sin p.f. bien definido (higroscópico).

Ejemplo 57

5(3)-Amino-6-(2,3,5-diclorofenil)-2,3,4,5-tetrahidro-3(5H)-imidazo[5,1-b]triazina

10 Etapa 1

El trifluorometanosulfonato de 2,2-difluoroetilo se preparó por reacción de 2,2-difluoroetanol y anhídrido tríflico según el procedimiento de W.G. Reifenrath et al., *J. Med. Chem.*, 23, 985-990 (1980).

Etapa 2

- 15 Se añadió trifluorometanosulfonato de 2,2-difluoroetilo (1,40 g, 6,5 mmol) a 3,5-diamino-6-(2,3,5-diclorofenil)-1,2,4-triazina (0,50 g, 2,0 mmol) y dimetilformamida (3,5 ml). La mezcla caliente se agitó y se calentó a 100°C durante 2 h y después se dejó reposar a temperatura ambiente durante la noche. Se añadió éter (35 ml) y la mezcla se agitó durante 0,5 h. Después la mezcla sedimentó, el disolvente se decantó del precipitado aceitoso y el residuo se agitó con agua (10 ml) y disolución acuosa de amoníaco (5 ml, d = 0,88) durante 6 h. Se separó por filtración un sólido marrón, se lavó con agua (3 ml) y se secó al aire. La recristalización en propan-2-ol dio el compuesto del título en forma de un sólido marrón claro (0,25 g), p.f. 179-181°C (descomposición, calentamiento rápido)

- 20 δ_H (500 MHz, dms o - d_6) 4,30 (2H, t ancho, J = 13,8 Hz, NCH $_2$), 5,6-7,0 (2H, pico ancho variable, NH $_2$, intercambio), 6,39 (1H, t ancho, J = 56 Hz, CHF $_2$), 7,3-7,7 (1H, pico ancho variable, NH, intercambio), 7,41 (1H, d, J = 7,7 Hz, H aromático), 7,45 (1H, t, J = 7,7 Hz, H aromático), 7,74 (1H, d, J = 7,7 Hz, H aromático).

Ensayo biológico

- 25 Se ensayaron diferentes actividades de los compuestos de fórmula (I) como sigue:

Estrategia de cribado:

- La estrategia de cribado se diseña para seleccionar compuestos con actividad bloqueadora de canales de sodio adecuada y bajo riesgo de efectos secundarios. Para este fin todos los compuestos son procesados mediante el ensayo de canales de sodio primarios (absorción de [^{14}C]guanidina producida por veratrina en sinaptosomas de cerebro anterior de rata) y los valores de CI_{50} se calcularon a partir de las curvas de concentración-efecto generadas. Con el fin de complementar estos datos, también se midieron las CI_{50} para compuestos seleccionados para inhibir la unión de [3H]BTX-B.

- 30 Estudios previos han mostrado que triazinas sustituidas son inhibidores potenciales de la actividad de la dihidrofolato reductasa (DHFR) (McCullough and Bertino 1971, Cashmore et al., 1975, Booth et al., 1987) y Sapse et al., 1994). Los inhibidores de la DHFR (tales como el metotrexato) se han usado para el tratamiento de diferentes cánceres (Suster et al., 1978 y Niculescu-Duvaz et al., 1982) ya que la inhibición de esta enzima interfiere con el crecimiento celular, pero debido a este efecto (en el crecimiento celular) los inhibidores de la DHFR también pueden ser teratogénicos (Skalko and Gold, 1974, Feldcamp and Carey, 1993 y Buckley et al., 1997). Si se encontraran compuestos que fueran inhibidores potentes de la DHFR, entonces estos mismos compuestos, pueden tener potencial como agentes anticancerígenos. Están disponibles diferentes métodos para medir la inhibición de la actividad de la DHFR y para este estudio los autores de la invención han examinado los efectos de los compuestos para inhibir la unión del [3H]metotrexato (Myers et al., 1975 y Rothenberg et al., 1977).

- Otro marcador de efectos secundarios común es la inhibición de la actividad del canal de potasio (rectificador entrante, I_{Kr}) mediada por el gen humano relacionado con ether a go-go (hERG) que puede ser mortal debido a insuficiencia cardíaca producida por el desarrollo del síndrome de QT largo. Se evalúa un cribado preliminar útil para evaluar el potencial para afectar a este canal, mediante la medición de la inhibición de la unión de [3H]astemizol a membranas celulares que expresan hERG. Se ensaya esta actividad en compuestos seleccionados, midiendo la inhibición con 10 μM . Suponiendo que los valores de inhibición están entre 10% y 90%, se puede calcular una CI_{50} extrapolada para cada compuesto.

- 50 La cascada de cribado anterior identifica compuestos con actividades bloqueadoras de canales de sodio adecuadas que tienen una propensión baja (menor) a los riesgos de efectos secundarios mencionados antes. Con el fin de desarrollar más estos compuestos, se necesita algún conocimiento de sus propiedades farmacodinámicas y acción

farmacológica.

Los bloqueadores de canales de sodio, tales como la sipatrigina, que reduce tanto la deficiencia neurológica como el volumen de infarto después de oclusión de la arteria cerebral media en ratas (Smith et al., 1997) y la fenitoína (que protege la muerte de células ganglionares de la retina en un modelo experimental de glaucoma (Hains and Waxman, 2005)) muestra eficacia neuroprotectora en una variedad de modelos de neurodegeneración. Puesto que el fallo del suministro de oxígeno compromete tanto la glicolisis como la fosforilación oxidativa, el daño isquémico finalmente conduce al fallo eléctrico (señalización de nervios) y fallo de la bomba (restauración de los potenciales de membrana celular). Estos fallos (de actividad eléctrica y la bomba iónica) están asociados con menores concentraciones locales de ATP (Astrup et al. 1981). Por lo tanto, se desarrolló el efecto de los compuestos para mantener la concentración de ATP en cortes de 0,4 mm de hipocampo de rata después de una lesión metabólica grave (incubación con el inhibidor metabólico, yodoacetato).

Procedimientos experimentales:

Preparación de sinaptosomas de cerebro anterior de rata y homogeneizados:

Los experimentos se llevaron a cabo usando cerebro anterior (cerebro entero menos cerebelo/médula) de ratas Wistar macho que pesaban 175-250 g. Se hicieron todos los esfuerzos para reducir el número de animales usados y todos los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo con el Acta de animales (Procedimientos Científicos) de Reino Unido, 1986 y la Directiva del Consejo de la Comunidad Europea del 24 de noviembre de 1986 (86/609/EEC). Después de matar a los animales mediante aturdimiento y decapitación, se extrajo rápidamente el cerebro anterior (cerebro entero menos cerebelo/médula) y se transfirió a un tubo pesado que contenía sacarosa 0,25 M enfriada con hielo.

Los sinaptosomas (fracción mitocondrial pesada y ligera que contiene sinaptosomas) se prepararon transfiriendo el cerebro anterior (de peso húmedo conocido) a un recipiente de vidrio de tipo Potter al que se habían añadido 9 volúmenes de sacarosa 0,25 M enfriada con hielo y se homogeneizó, usando una mano de mortero de teflón, mediante 8 "golpes hacia arriba y abajo" de un homogeneizador accionado por un motor Braun Potter S ajustado a 900 rpm. El homogeneizado resultante se centrifugó a 1036 x g a 4°C durante 10 min y se recogió el líquido sobrenadante. El sedimento que quedaba se volvió a suspender, como antes, en sacarosa 0,25 M de nueva aportación enfriada con hielo y se repitió la etapa de centrifugación. Las fracciones de líquido sobrenadante se mezclaron y centrifugaron a 40.000 x g (media) a 4°C durante 15 min y el sedimento resultante se volvió a suspender en el tampón de ensayo adecuado a una concentración de 20-25 mg de peso húmedo por ml de tampón de ensayo adecuado.

Los homogeneizados se prepararon transfiriendo el peso conocido de cerebro anterior a un tubo enfriado que contenía 9 volúmenes de tampón HEPES a pH 7,4 50 mM enfriado con hielo. La mezcla se homogeneizó a 4°C durante 3 veces x 5 s con un homogeneizador Ultra-Turrax™ ajustado a la velocidad máxima. El homogeneizado resultante se centrifugó a 40.000 x g (media) a 4°C durante 15 min y se descartó el líquido sobrenadante. El sedimento resultante se volvió a suspender en 9 volúmenes de tampón a pH 7,4 enfriado con hielo de nueva aportación (como antes), se repitió la etapa de centrifugación y el sedimento resultante se volvió a suspender en el tampón de unión [³H]BTX- B en una concentración de 20-25 mg de peso húmedo por ml de tampón de ensayo.

Flujo de [¹⁴C]guanidina y unión de [³H]BTX- B

Ambos ensayos se llevaron a cabo usando tubos de ensayo de polipropileno de 14 ml a los que se había añadido un intervalo de concentraciones de los compuestos a ensayar. Los compuestos de ensayo se disolvieron en DMSO y se añadieron a los ensayos de modo que la concentración máxima de DMSO no superara 2% en v/v.

Flujo de [¹⁴C]guanidina:

Los compuestos a ensayar se preincubaron durante 10 min a 30°C en tampón de incubación (HEPES a pH 7,4 50 mM (ajustado a pH 7,4 con base Tris), cloruro de colina 130 mM, D-glucosa 5,5 mM, MgSO₄ 0,8 mM y KCl 5 mM) que contenía 7,5 mg de peso húmedo original de tejido y 100 µg de veratrina.HCl en un volumen final de 0,5 ml. La absorción se inició por la adición de 0,5 ml de [¹⁴C]guanidina (1,0 µCi/ml en tampón de incubación) y se terminó 2,5 min más tarde por la adición de 10 ml de tampón de lavado enfriado con hielo (cloruro de colina 163 mM, CaCl₂ 1,8 mM y MgSO₄ 0,8 mM en tampón HEPES a pH 7,4 50 mM), seguido inmediatamente de filtración a vacío a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C usando un cosechador celular Brandel™. Se añadieron 2 x 5 ml adicionales de tampón de lavado enfriado con hielo a cada tubo y se repitió la etapa de filtración a vacío. Los filtros de fibra de vidrio GF/C se transfirieron a miniviales y se añadieron 4 ml de líquido de centelleo Picofluor⁴⁰ añadidos usando un sistema de depósito/dispensación Brandel™. Se midió la radiactividad usando un contador de centelleo de líquidos Beckman.

Unión de [³H]BTX- B

La unión se inició por adición de 5 mg de peso húmedo original de tejido a los tubos que contenían [³H]BTX- B (concentración de incubación medida independientemente por medición de radiactividad), el fármaco a ensayar y 25

µg de veneno de escorpión α en un volumen final de 0,25 ml de tampón de incubación (véase antes, pero modificado para contener cloruro de colina 134 mM y KCl 1 mM). Las muestras se mezclaron, se incubaron durante 90 min a 25°C y los ensayos se terminaron por adición de 5 ml de tampón de lavado enfriado con hielo (véase antes), seguido inmediatamente de filtración a vacío a través de filtros de fibra de vidrio Whatman GF/C usando un cosechador celular Brandel™. Se añadieron 5 ml adicionales de tampón de lavado enfriado con hielo a cada tubo y se repitió la etapa de filtración a vacío. Los filtros de fibra de vidrio GF/C se transfirieron a miniviales y se añadieron 4 ml de líquido de centelleo Picofluor⁴⁰ usando un sistema de depósito/dispensación Brandel™. Se midió la radiactividad usando un contador de centelleo de líquidos Beckman y las cpm se convirtieron directamente en dpm por referencia a parámetros de inactivación adecuados.

10 Unión de [³H]metotrexato

Todas las etapas se llevaron a cabo a 4°C (o en hielo). El hígado de rata recién diseccionado se disecó en sacarosa 0,25 M enfriada con hielo y posteriormente se homogeneizó (U-turrax) en tampón de fosfato a pH 6,0 50 mM (10 ml/g de tejido) que contenía ditiotreitol 15 mM. El homogeneizado resultante se centrifugó a 47.500 x g durante 20 min y el líquido sobrenadante (filtrado a través de algodón hidrófilo para separar las masas de grasa) se almacenó a -80°C antes de usar (Rothenberg et al.).

La inhibición de la unión del [³H]metotrexato a las fracciones de líquido sobrenadante de homogeneizado de hígado de rata se llevó a cabo esencialmente como describen Arons et al., 1975. Brevemente, los compuestos se incubaron con NADPH (480 µM), líquido sobrenadante de hígado (enzima DHFR) y [³H]metotrexato (50 nM) en un volumen final de 410 µl de tampón de fosfato a pH 6,0 50 mM en presencia de mercaptoetanol (60 mM) durante 15 min a temperatura ambiente. La reacción de unión se detuvo por la adición de 50 µl de una suspensión de carbón (que consistía en carbón, albúmina de suero bovino y dextrano, presentes en una relación en peso de 100:4:1 suspendidos en tampón de fosfato a pH 6,0 50 mM). Las muestras se mezclaron con mezcla vorticial, se dejaron reposar durante 2 min y el carbón precipitó por microcentrifugación a velocidad completa durante 5 min. Se transfirieron partes alícuotas de líquido sobrenadante transparente a viales de recuento que contenían líquido de centelleo para la medición de radiactividad usando espectroscopía de centelleo de líquidos.

La unión específica de [³H]metotrexato se determinó como la diferencia de unión en presencia y ausencia de metotrexato 200 µM "frío". Los valores de porcentaje de inhibición se calcularon por comparación con este valor.

Cálculo de los valores de CI₅₀:

Los datos se presentan como media ± etm del número de experimentos indicados entre paréntesis. Los valores de CI₅₀ se obtuvieron del desplazamiento de radioligando o curvas de inhibición del flujo de guanidina mediante representación gráfica de log₁₀ concentración frente a ligando unido/absorción de guanidina según la ecuación:

$$y = R_{\min} + R_{\text{sp}} / \{1 + \exp[-n(x-C)]\}$$

donde y = unido (dpm)

x = log₁₀ concentración del compuesto

35 R_{min} = asíntota inferior (es decir, inhibición de 100%)

R_{sp} = asíntota superior - R_{min} (es decir, unión específica)

n = pendiente (log_e)

y C = CI₅₀ (es decir, concentración necesaria para inhibir 50% de la unión específica)

Ensayo de cortes de hipocampo:

40 Después de la muerte de los animales por aturdimiento y decapitación, se disecó rápidamente el cerebro anterior (cerebro entero menos cerebelo/médula) y se transfirió a un recipiente que contenía líquido cefalorraquídeo artificial (LCRa) pregaseado, enfriado con hielo. Se disecaron rápidamente los hipocampos y se prepararon cortes de 0,4 mm usando un cortador de tejidos McIlwain. Los cortes se distribuyeron aleatoriamente en matraces cónicos de 50 ml que contenían 25-30 ml de LCFa pregaseado, enfriado con hielo. Los matraces se incubaron a 30° durante 30 min con gaseado continuo con 95% de O₂/5% de CO₂ cuando se retiraba el medio por aspiración a vacío. Se añadió LCFa de nueva aportación y los cortes se incubaron durante 30 min más como se ha descrito previamente. El medio se volvió a retirar por aspiración a vacío y se substituyó por 25 ml de LCRa exento de Ca²⁺ precalentado (30°). Después de 10 min más de incubación con gaseado continuo, se separaron 2-3 cortes (en un volumen de 100 µl usando una pipeta Eppendorf) para la medición del ATP y proteína por transferencia inmediata a tubos de microfuga individuales que contenían 0,4 ml de ácido tricloroacético (TCA) 0,5 M enfriado con hielo. Se añadió yodoacetato (25 µl de una disolución 0,4 M) al matraz y se detuvo el gaseado. Exactamente 11 min más tarde se separaron 3-4 cortes y se transfirieron a tubos de microfuga como se ha descrito previamente.

Medición de ATP y proteína:

5 Cortes individuales se rompieron por tratamiento con ultrasonidos y los homogeneizados resultantes se centrifugaron a 10000 x g durante 5 min a 4°. El líquido sobrenadante se decantó en un tubo de nueva aportación y el líquido sobrenadante que quedaba se separó por aspiración a vacío. El sedimento se volvió a suspender en 0,5 ml de KOH 0,1 M por tratamiento con ultrasonidos y las suspensiones resultantes se calentaron con agitación suave a 37° durante 30 min.

Se midieron las concentraciones de ATP en 6 µl de líquido sobrenadante mezclando con reactivo de luciferasa (ATPLite de Perkin Elmer) y midiendo la luminiscencia posterior en un contador de placa de 96 pocillos.

La concentración de proteína se midió usando el ensayo de proteína BCA™ (Pierce) con albúmina de suero bovino como patrón de referencia.

10 Las concentraciones de ATP se expresaron como nmoles/mg de proteína y los índices neuroprotectores (% de protección) se calcularon por comparación directa con el efecto de TTX 1 µM.

hERG:

15 Se llevaron a cabo ensayos para medir los efectos de los compuestos en concentración 10 µM. Haciendo la suposición de que las pendientes de la unión son 1, para compuestos con valores de inhibición entre 10% y 90%, se extrapolaron los valores de CI₅₀.

Resultados:

Tabla 1:

Compuesto	Absorción de [¹⁴ C]guanidina (sinaptosomas)	Unión de [³ H]BTX- B (sinaptosomas)
Lamotrigina	186,5 ± 26,5 (5)	82,6 ± 2,3 (3)
N-metil-lamotrigina	35,9 ± 1,8 (3)	7,4 ± 0,4 (2)
BW202W92	2,0 ± 0,2 (9)	4,5 ± 0,4 (4)

Datos presentados como CI₅₀ (µM) ± etm media del número de experimentos indicados entre paréntesis

Tabla 2: Nomenclaturas y estructuras de los compuestos:

Ejemplo	Sustituyentes del anillo	sustituyente en N
1	2',3'-dicloro	H
2	2',3'-dicloro	Metilo
3	2',3'-dicloro	Etilo
4	2',3'-dicloro	Iso-propilo
5	2',3'-dicloro	Hidroxi-etilo
6	2',3'-dicloro	n-Propilo
7	2',3'-dicloro	Iso-butilo
8	2',3'-dicloro	n-Butilo
9	2',3'-dicloro	Bencilo
10	2',3'-dicloro	Alilo
11	2',3'-dicloro	Carboxamido
12	2',3'-dicloro	4'-Me-bencilo
13	2',3'-dicloro	2',3'-di-F-bencilo
14	2',3'-dicloro	2'-F-bencilo
15	2',3'-dicloro	3'-F-bencilo
16	2',3'-dicloro	4'-F-bencilo
17	2',3'-dicloro	2'-OMe-bencilo
18	2',3'-dicloro	3'-OMe-bencilo
19	2',3'-dicloro	4'-OMe-bencilo
20	2',3'-dicloro	3'-Cl-bencilo
21	2',3'-dicloro	4'-Cl-bencilo
22	2',3'-dicloro	2'-Cl-bencilo
23	2',3'-dicloro	2'-CF ₃ -bencilo
24	2',3'-dicloro	3'-CF ₃ -bencilo
25	2',3'-dicloro	4'-CF ₃ -bencilo
26	2',3'-dicloro	2'-F,3'-CF ₃ -bencilo
27	2',3'-dicloro	4'-CONH ₂ -benciloo
28	2',3'-dicloro	4'-CH ₂ OH-benciloo
29	2',3'-dicloro	Tienilo
30	2',3'-dicloro	Furilo
31	2',3',5'-tricloro	H
32	2',3',5'-tricloro	Metilo
33	2',3'-difluoro	H

Ejemplo	Sustituyentes del anillo	sustituyente en N
34	2',3',5'-triclora	Propilo
35	2-F', 3'-Cl	H
36	2-F', 3'-Cl	Metilo
37	2',3'-diclora	2-BocPiperidCH ₂
38	2',3'-diclora	2-PiperidCH ₂
39	2',3'-diclora	CH ₂ CH ₂ CF ₃
40	3'-F, 2'-Cl	H
41	2',5'-diclora	H
42	3',5'-diclora	H
43	Des-clora	H
44	2',4'-diclora	H
45	2',4'-diclora	Metilo
46	Des-clora	Metilo
47	Des-clora	Etilo
48	2',5'-diclora	Metilo
49	2',5'-diclora	Etilo
50	2',3',5'-triclora	Etilo
51	2'-OCF ₃	H
52	2',3'-diclora	F-etilo
53	3',5'-diclora	Metilo
54	3',5'-diclora	Etilo
55	2',3',5'-triclora	F-etilo
56	2',3',5'-triclora	3,3,3,-triF-propilo
57	2',3'-diclora	2,2-diF-etilo

Tabla 3: Resumen del flujo de [¹⁴C]guanidina

Compuesto	Media (CI50: μM)	ETM	n
Sipatrigina	13,1	1,3	10
BW202W92	2,0	0,2	9
Lamotrigina	208,9	38,0	7
2	35,9	1,8	3
3	6,4	0,4	2
4	4,0	0,5	2
5	172,2	46,2	4

ES 2 462 927 T3

Compuesto	Media (CI50: μM)	ETM	n
6	2,8	0,5	4
7	2,9	0,3	2
8	2,1	0,2	2
9	4,8	0,4	4
10	6,1	2,6	2
11	>100	-	2
12	4,1	0,5	2
13	2,8	0,0	2
14	2,8	0,6	2
15	3,9	0,3	2
16	5,1	0,6	2
17	4,6	0,3	2
18	3,1	0,1	2
19	5,0	0,6	2
20	3,5	0,1	2
21	6,5	0,6	2
22	4,6	-	1
23	4,4	-	1
24	4,0	-	1
25	6,2	-	1
26	5,3	-	1
27	234,4	-	1
28	49,0	-	1
29	7,3	1,0	2
30	4,4	0,2	2
31	16,2	3,3	2
32	6,4	0,4	2
33	>300	-	2
34	1,3	-	1
35	489,8	-	1
36	128,8	-	1
37	12,9	-	1
38	20,9	-	1
39	3,9	0,3	2
40	834,5	142,7	2

Compuesto	Media (CI50: μM)	ETM	n
41	524,9	-	1
42	154,9	-	1
43	>500	-	1
44	603,0	-	1
45	87,1	-	1
46	2291,0	-	1
47	676,0	-	1
48	28,2	-	1
49	20,9	-	1

Tabla 4: Resumen de la unión de [^3H]BTX- B

Ejemplo	Ensayo	Preparación tisular	Media (CI ₅₀ : μM)	ETM	n
Sipatrigina	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	4,9	0,7	4
	[^3H]BTX-B	Homogeneizado	9,4	2,8	3
BW202W92	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	4,5	0,4	4
	[^3H]BTX-B	Homogeneizado	4,1	0,6	5
Lamotrigina	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	76,6	6,2	5
	[^3H]BTX-B	Homogeneizado	97,9	37,7	3
2	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	7,2	0,8	4
	[^3H]BTX-B	Homogeneizado	2,5	1,3	3
3	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	3,7	0,6	2
	[^3H]BTX-B	Homogeneizado	0,9	-	1
4	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	1,5	0,2	2
	[^3H]BTX-B	Homogeneizado	0,6	-	1
5	[^3H]BTX-b	Sinaptosomas	25,7	-	1
	[^3H]BTX-b	Homogeneizado	7,2	-	1
6	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	3,6	1,3	2
	[^3H]BTX-B	Homogeneizado	0,5	-	1
7	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	1,0		1
8	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	1,7	-	1
9	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	2,2	-	1
29	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	2,2	-	1
30	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	2,6	-	1
31	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	21,9	-	1
32	[^3H]BTX-B	Sinaptosomas	1,9	-	1

Ejemplo	Ensayo	Preparación tisular	Media (CI ₅₀ : µM)	ETM	n
34	[³ H]BTX-B	Sinaptosomas	0,5	-	1
39	[³ H]BTX-B	Sinaptosomas	1,6	-	1
40	[³ H]BTX-B	Sinaptosomas	282,8	-	1

Tabla 5:

CI₅₀ extrapoladas (hERG) del estudio de inhibición de un punto y [K] (hERG): selectividades de canales de [Na]

Ejemplo	hERG % de inhibición con 10 µM	hERG CI ₅₀ extrapoladas (µM)	Flujo de [¹⁴ C]guanidina CI ₅₀ (µM)	[³ H]BTX- B* CI ₅₀ (µM)	hERG Flujo de [¹⁴ C]guanidina	hERG [³ H]BTX- B
Sipatrigina	87	1,5	13,1	4,9	0,1	0,3
1	1	>900	208,9	76,6	>4,3	>11,7
2	12	73,3	35,9	7,2	2,0	10,2
3	32	21,2	6,4	3,7	3,3	5,7
3	36	17,8	4,0	1,5	4,5	11,9
4	35	18,6	2,8	3,6	6,6	5,2
4	34	19,4	2,9	1,0	6,7	19,4
5	58	7,2	2,1	1,7	3,5	4,3
6	78	2,8	4,8	2,2	0,6	1,3
14	80	2,5	2,8	nd	0,9	-
15	83	2,0	3,9	nd	0,5	-
13	84	1,9	2,8	nd	0,7	-
17	84	1,9	4,6	nd	0,4	-
18	87	1,5	3,1	nd	0,5	-
23	90	1,1	4,4	nd	0,3	-
24	94	0,6	4,0	nd	0,2	-
10	50	10,0	6,1	nd	1,6	-
29	83	2,0	7,3	2,2	0,3	0,9
30	65	5,4	4,4	2,6	1,2	2,1
31	13	66,9	16,2	21,9	4,1	3,1
32	33	20,3	6,4	1,9	3,2	10,7
34	62	6,1	1,3	0,5	4,7	12,3
36	33	20,3	128,8	nd	0,2	-
38	80	2,5	20,9	nd	0,1	-
39	40	15,0	3,9	1,6	3,8	9,4

*Datos de sinaptosomas

Tabla 6: Resumen de datos de unión de [³H]metotrexato

Ejemplos	Concentración de ensayo (μ M)	CI ₅₀ (μ M)	Inhibición (%* a la concentración de ensayo)	n
Metotrexato	-	18 \pm 0,08 nM	-	4
Pirimetamina	-	2,8	-	1
Trimetoprima	-	955	-	1
BW202W92	10	-	-1	1
	99	-	29	1
Sipatrigina	10	-	0	1
	198	-	-6	1
1 (Lamotrigina)	-	770 \pm 96	-	3
	10	-	-1,5 \pm 0,5	2
	99	-	11	1
2	10	-	0	1
	99	-	-3	1
3	10	-	0	1
	99	-	1	1
4	10	-	-1	1
	99	-	0	1
5	10	-	-1	1
	101	-	1	1
6	10	-	0	1
	99	-	2	1
7	10	-	-4	1
	99	-	-2	1
8	10	-	-4	1
	99	-	-2	1
9	10	-	2	1
	99	-	-4	1
10	10	-	-2	1
	99	-	-1	1
11	20	-	-3	1
	99	-	-3	1
12	20	-	-2	1
	99	-	-3	1
13	10	-	-3	1

ES 2 462 927 T3

Ejemplos	Concentración de ensayo (μM)	CI_{50} (μM)	Inhibición (%* a la concentración de ensayo)	n
	99	-	-4	1
14	10	-	-1	1
	99	-	-4	1
15	10	-	-4	1
	99	-	-5	1
16	10	-	-3	1
	99	-	-3	1
17	10	-	-4	1
	198	-	-3	1
18	10	-	-4	1
	99	-	-5	1
19	10	-	-2	1
	99	-	-3	1
20	9	-	-4	1
	99	-	-7	1
21	10	-	-4	1
	95	-	-4	1
29	-	>250	-	1
30	-	>250	-	1
31	-	41,0 \pm 4,7	-	2
32	-	>250	-	2
33	-	441,6 \pm 5,1	-	2
34	-	>300	-	1
35	-	81,3	-	1
36	-	>300	-	1
37	-	>300	-	1
38	-	>300	-	1
39	-	>300	-	1
40	-	589	-	1
41	50	-	93	1
42	50	-	99	1
43	50	-	82	1
44	-	105	-	1
45	495	-	-1	1

ES 2 462 927 T3

Ejemplos	Concentración de ensayo (μM)	CI ₅₀ (μM)	Inhibición (%* a la concentración de ensayo)	n
46		288	-	1
47	495	-	1	1
48	-	251	-	1
49	-	95	-	1

*% de inhibición calculado a partir de la curva de desplazamiento del metotrexato

Tabla 7: Resumen de los datos de cortes del hipocampo

Ejemplo	CE ₅₀ (μM)	Protección máxima (% v TTX [^])	CE ₅₀ (⁺ máx. ajustado a 100)
Sipatrigina	10,7	90,0	12,6
1 (Lamotrigina)	30,2	79,0	33,1
2	36,6	98 \pm 5	37,4
3	16,0	87,0	20,0
6	10,4	81 \pm 27	14,5
7	1,3*	47 \pm 3	-
8	10,0	46,0	-
9	>>30	-	-
31	1,8	91 \pm 4	2,2
32	5,9	65 \pm 7	-
34	9,8	37,0	-

pendiente fijada a 2,30

[^][ATP] en presencia de TTX 1 μM era 71,8 \pm 2,9% (17) comparado con no tratado

5 control (cortes pre-IOAA) = 100% de protección

⁺si el máximo se aproxima a 100%, entonces se recalculan los datos

ajuste máx. a 100%

Tabla 8. Efecto de los compuestos en la absorción de [¹⁴C]guanidina

Compuesto	Rmin	% específico	Hill	pCI ₅₀	CI ₅₀ (μM)
Lamotrigina	1968 \pm 597	72,9	0,93	3,75 \pm 0,13	177,8
	1934 \pm 990	72,0	0,71	3,68 \pm 0,27	208,9
BW202W92	3019 \pm 70	55,9	1,07	5,61 \pm 0,04	2,5
50	2616 \pm 91	66,8	0,93	5,52 \pm 0,03	3,0
51	2026 \pm 27	72,2	1,22	2,76 \pm 0,11	1737,8
52	2472 \pm 197	64,9	0,74	5,00 \pm 0,08	10,0
53	2009 \pm 575	72,2	0,73	4,34 \pm 0,16	45,7
54	2297 \pm 316	65,7	0,76	4,73 \pm 0,11	18,6

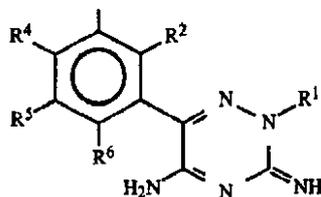
Compuesto	Rmin	% específico	Hill	pCI50	CI50 (µM)
55	2209 ±122	67,9	0,79	5,20 ± 0,05	6,31
56	1807 ± 107	72,9	0,83	2,90 ± 0,20	1258,9

Referencias:

- McCullough, J. L., and Bertino, R. (1971) *Biochem Pharmacol* 20(3): 561-74.
- Cashmore, A. R., Skcel, R.T., Makulu, D.R., Gralla, E.J. and Bertino, J.R. (1975) *Cancer Res* 35(1): 17-22.
- Booth, R.G., Selassie, C.D., Hansch, C. and Santi, D.V. (1987) *J Med Chem* 30(7): 1218-24.
- Sapse, A.M., Waltham, M.C. and Bertino, J.R. (1994) *Cancer Invest* 12(5): 469-76.
- Niculescu-Duvaz, I., Ciustea, G., Stoicescu, D., Muresan, Z. and Dobre, V. (1982) *Neoplasma* 29(1): 43-52.
- Suster, D.C., Tarnauceanu, E., Botez, G., Dobre, V. and Niculescu-Duvaz, I. (1978) *J Med Chem* 21(11): 1165-7
- Skalko, R.G. and Gold, M.P. (1974) *Teratology* 9(2):159-63.
- Felfkamp, M. and Carcy, J.C. (1993) *Teratology* 47(6): 533-9.
- Buckley, L.M., Bullaboy, C.A., Leichtman, L. and Marquez, M. (1997) *Arthritis Rheum* 40(5): 971-3.
- Rothenberg, S.P., da Costa, M. and Iqbal, M.P. (1977) *Cancer Treat Rep* 61: 575-84.
- Arons, E., Rothenberg, S.P., da Costa, M., Fischer, C. and Iqbal, M.P. (1975) *Cancer Research* 35: 2033-38

REIVINDICACIONES

1.- Uso de un compuesto de fórmula (I):



5 o una de sus sales o solvatos, en donde

R¹ es alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquil(C₁₋₃)-arilo, alquil(C₁₋₃)-heterociclilo, o cicloalquilo C₃₋₁₀, cualquiera de los cuales está opcionalmente sustituido con halógeno, halogenoalquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆;

10 R² a R⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, grupos alquilo C₁₋₆, alquenilo, alquinilo o alcoxi (todos opcionalmente sustituidos con uno o más de halógeno, hidroxilo y arilo), amino, amino mono o disustituido, alquenilo, acilo, aciloxi, ciano, nitro, arilo y alquiltio;

15 para preparar medicamentos para el tratamiento de la epilepsia, esclerosis múltiple, glaucoma y uveítis, traumatismos cerebrales e isquemias cerebrales, accidente cerebrovascular, lesión craneal, lesión de la médula espinal, traumatismo quirúrgico, trastornos neurodegenerativos, enfermedad de la motoneurona, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, dolor inflamatorio crónico, dolor neuropático, migraña, trastorno bipolar, trastornos afectivos, trastornos de ansiedad y cognitivos, esquizofrenia y cefaleas autónomas del trigémino.

20 2.- Uso según la reivindicación 1, en el que R² se selecciona de halógeno, grupos alquilo C₁₋₆, alquenilo, alquinilo o alcoxi (todos opcionalmente sustituidos con uno o más de halógeno, hidroxilo y arilo), amino, amino mono o disustituido, alquenilo, acilo, aciloxi, ciano, nitro, arilo y alquiltio; y R³ a R⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, grupos alquilo C₁₋₆, alquenilo, alquinilo o alcoxi (todos opcionalmente sustituidos con uno o más de halógeno, hidroxilo y arilo), amino, amino mono o disustituido, alquenilo, acilo, aciloxi, ciano, nitro, arilo y alquiltio.

3.- Uso según la reivindicación 1 o reivindicación 2, en el que R¹ es hidrógeno y R² a R⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, halogenoalquilo o halogenoalcoxi.

25 4.- Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que R¹ es alquilo, hidroxialquilo, halogenoalquilo, heterociclilalquilo, alquenilo, carboxamido, bencilo, bencilo sustituido con halógeno, alquilo, alcoxi, hidroxialquilo, halogenoalquilo o carboxamido, y R² a R⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno y halógeno.

5.- Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que R² a R⁶ son hidrógeno y R¹ es hidrógeno o alquilo.

6.- Uso según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, en el que el compuesto de fórmula (I) se selecciona de

30 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-isopropil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-n-propil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2-pentiloxfenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1,2,4-triazina;

35 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-bencil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-etil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-isopropil-1,2,4-triazina;

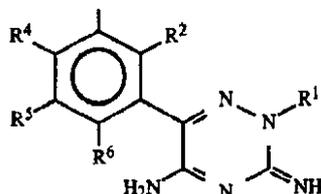
5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-n-propil-1,2,4-triazina;

5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-isobutil-1,2,4-triazina;

40 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-n-butil-1,2,4-triazina;

- 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-alil-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-propil-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2-fluoro-3-clorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-metil-1,2,4-triazina;
 5 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3,3,3-trifluoropropil)-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(2,4-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-fenil-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-fenil-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(2,5-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4-triazina;
 10 5(3)-amino-6-(2,5-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2-fluoroetil)-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(3,5-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-metil-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(3,5-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-etil-1,2,4-triazina;
 15 5(3)-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2-fluoroetil)-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(2,3,5-triclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(3,3,3-trifluoropropil)-1,2,4-triazina;
 5(3)-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3(2,5)-dihidro-3(5)-imino-2-(2,2-difluoroetil)-1,2,4-triazina.

7.- Un compuesto de fórmula (I)



- 20 o una de sus sales o solvatos, en donde
- R¹ es alquil(C₁₋₃)-arilo o alquil(C₁₋₃)-heterociclilo, que está opcionalmente sustituido con uno de halógeno, halogenoalquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₆ o alcoxi C₁₋₆ (excluyendo bencilo no sustituido);
- 25 R² se selecciona de halógeno, grupos alquilo C₁₋₆, alquenoilo, alquinilo o alcoxi (todos opcionalmente sustituidos con uno o más de halógeno, hidroxí y arilo), amino, amino mono o disustituido, alquenoiloxi, acilo, aciloxi, ciano, nitro, arilo y alquiltio; y
- R³ a R⁶ se seleccionan independientemente de hidrógeno, halógeno, grupos alquilo C₁₋₆, alquenoilo, alquinilo o alcoxi (todos opcionalmente sustituidos con uno o más de halógeno, hidroxí y arilo), amino, amino mono o disustituido, alquenoiloxi, acilo, aciloxi, ciano, nitro, arilo y alquiltio.
- 30 8.- Un compuesto según la reivindicación 7, en el que R¹ es bencilo sustituido, piperidinil-metilo, furil-metilo o tienil-metilo.
- 9.- Un compuesto según la reivindicación 7, seleccionado de
- 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(2'-fluorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3'-fluorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
 35 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(4'-fluorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(2',3'-fluorofenil-metil)-1,2,4-triazina;

- 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3'-clorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(4'-clorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(4'-metilfenil-metil)-1,2,4-triazina;
5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(2'-metoxifenil-metil)-1,2,4-triazina;
- 5 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3'-metoxifenil-metil)-1,2,4-triazina;
5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(4'-metoxifenil-metil)-1,2,4-triazina;
5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(2'-clorofenil-metil)-1,2,4-triazina;
5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(2'-trifluorometilfenil-metil)-1,2,4-triazina;
5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3'-trifluorometilfenil-metil)-1,2,4-triazina;
- 10 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(4'-trifluorometilfenil-metil)-1,2,4-triazina;
5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(2'-fluoro-3'-trifluorometilfenil-metil)-1,2,4-triazina;
5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3-tienil-metil)-1,2,4-triazina;
5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(3-furil-metil)-1,2,4-triazina;
5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(N-boc-piperidin-4-il-metil)-1,2,4-triazina;
- 15 5-amino-6-(2,3-diclorofenil)-2,3-dihidro-3-imino-2-(piperidin-4-il-metil)-1,2,4-triazina.