

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 477 571**

51 Int. Cl.:

A61K 31/416 (2006.01)

A61K 31/4184 (2006.01)

A61K 31/4192 (2006.01)

A61K 31/423 (2006.01)

A61K 31/428 (2006.01)

C07D 401/14 (2006.01)

C07D 413/12 (2006.01)

C07D 417/14 (2006.01)

C07D 413/14 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **18.12.2001 E 10178102 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **02.04.2014 EP 2314582**

54 Título: **Compuestos heterocíclicos como agentes antivirales**

30 Prioridad:

18.12.2000 AU PR213700

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

17.07.2014

73 Titular/es:

**BIOTA SCIENTIFIC MANAGEMENT PTY LTD
(100.0%)**

**Unit 10 585 Blackburn Road
Notting Hill, VIC 3168, AU**

72 Inventor/es:

**WATSON, KEITH;
KRIPPNER, GUY;
STANISLAWSKI, PAULINE y
MCCONNELL, DARRYL**

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

ES 2 477 571 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

Compuestos heterocíclicos como agentes antivirales

5 Esta invención se refiere a agentes antivirales, en particular a compuestos útiles en el tratamiento de infecciones provocadas por *Picornaviridae*, tales como rinovirus humano (RVH) y a métodos para su preparación. La invención también se refiere a compuestos para su uso en el tratamiento de infecciones por picornavirus y a productos intermedios útiles en la preparación de estos compuestos. Los compuestos de la invención son especialmente adecuados para su uso en el tratamiento de RVH y por consiguiente será conveniente describir la invención en relación con estos virus. Sin embargo se entiende que la invención también es aplicable a otros virus de la familia de picornavirus.

15 El rinovirus humano es un miembro del género *Rhinovirus* de la familia de picornavirus y se cree que es responsable de entre el 40 y el 50% de las infecciones de resfriado común. Los rinovirus humanos comprenden un grupo de más de 100 virus serotípicamente distintos y por consiguiente se considera que la actividad antiviral para múltiples serotipos y la potencia son factores igualmente importantes en el diseño de fármacos.

20 Se han identificado dos receptores celulares a los que se unen casi todos los RVH tipados. El grupo principal, que comprende 91 de los más de 100 serotipos tipados, se une a la molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1) mientras que el grupo minoritario, que comprende el resto de los serotipos tipados con la excepción de HRV87, se une a la familia de proteínas de receptor de lipoproteínas de baja densidad.

25 Otro género de la familia *Picornaviridae* está representado por los enterovirus. Este género incluye los poliovirus 1-3, virus de Coxsackie A (23 serotipos) y B (6 serotipos), ecovirus (31 serotipos) y enterovirus numerados 68-71. Los síndromes clínicos provocados por los enterovirus incluyen poliomiéltis, meningitis, encefalitis, pleurodinia, herpangina, enfermedad de mano-pie-boca, conjuntivitis, miocarditis y enfermedades neonatales tales como enfermedades respiratorias y enfermedades febriles.

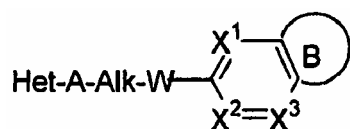
30 Los virus de la familia de picornavirus se caracterizan por un genoma de ARN monocatenario (+) encapsidado por una cubierta de proteínas (o cápside) que tiene simetría pseudoicosáedrica. La superficie de la cápside contiene "cañones" que rodean a cada uno de los ejes de orden cinco icosaédricos y se cree que los receptores celulares se unen a residuos en la base del cañón.

35 El bolsillo hidrófobo se encuentra por debajo del cañón dentro de la cual pueden unirse varios compuestos antivirales, algunas veces con cambios conformacionales consecuentes. Se ha mostrado que algunos de estos compuestos inhiben la retirada de la cubierta de RVH y, para algunos de los virus del grupo de receptores principal, también se ha demostrado la inhibición de la unión al receptor celular. También se ha mostrado que cuando se une un compuesto dentro del bolsillo de la cápside hidrófoba, los RVH son más estables frente a la desnaturalización por calor o ácidos.

40 En las patentes estadounidenses 4.857.539, 4.992.433, 5.026.848, 5.051.515, 5.100.893, 5.112.825, 5.070.090 y la patente australiana n.º 628172 se describen ejemplos de compuestos antipicornavirus que se cree que actúan uniéndose dentro de los bolsillos hidrófobos de la cápside de picornavirus. Un compuesto que ha sido objeto de ensayos clínicos en seres humanos recientes es el 4-[2-[1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]-etoxi]benzoato de etilo, también conocido como "pirodavir". ("Intranasal Pirodavir (R77,975) Treatment of Rhinovirus Colds" F.G. Hayden, *et al.*, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 39, 290-294, 1995).

50 Ahora se ha descubierto una clase novedosa de compuestos antivirales que se ha encontrado que muestran propiedades antipicornavirus particularmente favorables.

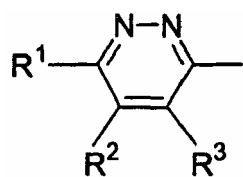
Por consiguiente la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I



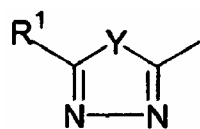
I

55 sus sales y derivados farmacéuticamente aceptables del mismo en la que:

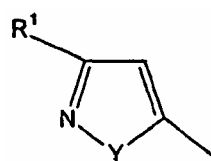
Het es un radical de fórmula (a-1), (a-2) o (a-8);



(a-1)



(a-2)



(a-8)

5

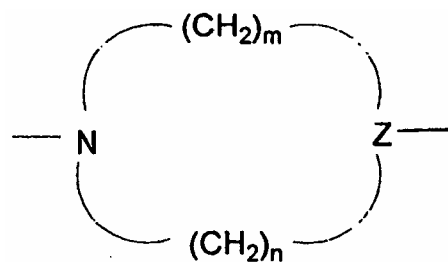
R^1 es hidrógeno, metilo, etilo, cloro, metoxilo o trifluorometilo;

R^2 y R^3 son cada uno independientemente hidrógeno, cloro o metilo;

10

Y es O o S;

A es un radical heterocíclico bivalente de la fórmula (b-1):



(b-1)

15

en la que uno o más de los átomos de carbono dentro del radical (b-1) pueden estar opcionalmente sustituidos con alquilo C_{1-6} o dos átomos de carbono en el radical (b-1) pueden estar unidos por puente con un radical alquileo C_{2-4} , m y n son cada uno independientemente números enteros de 1 a 4 inclusive con la condición de que la suma de m y n en el radical (b-1) sea 3, 4 ó 5;

20

Z es CH o N;

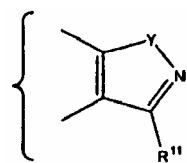
Alk es alquileo C_{1-7} ;

25

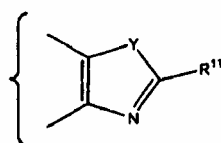
W es O;

X^1 , X^2 y X^3 son CH; y

30 B es un radical de fórmula (c-1) o (c-2):



(c-1)

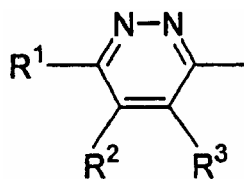


(c-2)

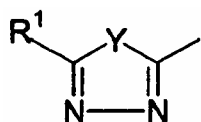
en la que Y es O, S o NR^9 ; y R^{11} es R^{10} , OR^{10} , SR^{10} o NR^9R^{10} , en los que R^9 es hidrógeno o alquilo C_{1-6} y R^{10} es alquilo C_{1-6} , halo-alquilo C_{1-6} , alquileo C_{2-6} , halo-alquileo C_{2-6} , alquileo C_{2-6} o halo-alquileo C_{2-6} .

35

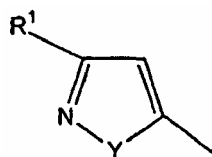
En los compuestos de la presente invención, el grupo Het es un radical de fórmula (a-1), (a-2) o (a-8) a continuación:



(a-1)



(a-2)



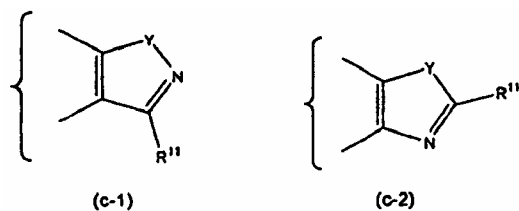
(a-8)

en la que R¹ es hidrógeno, metilo, etilo, cloro, metoxilo o trifluorometilo;

R² y R³ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, cloro o metilo; y

Y es O o S.

El radical B es un radical de fórmula (c-1) o (c-2) a continuación:



(c-1)

(c-2)

en la que Y es O, S o NR⁹; y R¹¹ es R¹⁰, OR¹⁰, SR¹⁰ o NR⁹R¹⁰, en los que R⁹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆ y R¹⁰ es alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆, haloalquenilo C₂₋₆, alquinilo C₂₋₆ o haloalquinilo C₂₋₆.

Tal como se usa en el presente documento el término "alquilo C₁₋₆" tal como se usa solo o como parte de un grupo tal como "di(alquilo C₁₋₆)amino" se refiere a grupos alquilo de cadena lineal, ramificados o cíclicos, que tienen desde 1 hasta 6 átomos de carbono. Los ejemplos de tales grupos alquilo incluyen metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, ciclopentilo y ciclohexilo. De manera similar, alquilo C₁₋₄ se refiere a tales grupos que tienen desde 1 hasta 4 átomos de carbono.

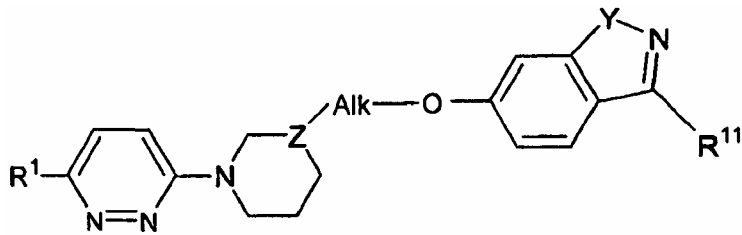
Tal como se usa en el presente documento el término "halo" tal como se usa solo o como parte de un grupo tal como "haloalquenilo C₃₋₆" se refiere a grupos fluoro, cloro, bromo y yodo.

Tal como se usa en el presente documento los términos "alcoxilo C₁₋₆" y "alquiloxilo C₁₋₆" se refieren a grupos alcoxilo de cadena lineal o ramificados que tienen desde 1 hasta 6 átomos de carbono. Los ejemplos de alcoxilo C₁₋₆ incluyen metoxilo, etoxilo, n-propoxilo, isopropoxilo y los diferentes isómeros de butoxilo.

Tal como se usa en el presente documento el término "alquenilo C₃₋₆" se refiere a grupos formados a partir de alquenos C₃₋₆ de cadena lineal, ramificados o cíclicos. Los ejemplos de alquenilo C₃₋₆ incluyen alilo, 1-metilvinilo, butenilo, iso-butenilo, 3-metil-2-butenilo, 1-pentenilo, ciclopentenilo, 1-metil-ciclopentenilo, 1-hexenilo, 3-hexenilo, ciclohexenilo, 1,3-butadienilo, 1,4-pentadienilo, 1,3-ciclopentadienilo, 1,3-hexadienilo, 1,4-hexadienilo, 1,3-ciclohexadienilo y 1,4-ciclohexadienilo.

Tal como se usa en el presente documento el término "alquinilo C₃₋₆" se refiere a grupos formados a partir de grupos C₃₋₆ de cadena lineal o ramificados tal como se definió anteriormente que contienen un triple enlace. Los ejemplos de alquinilo C₃₋₆ incluyen 2,3-propinilo y 2,3- o 3,4-butinilo.

Un grupo particular de compuestos de la invención tiene la fórmula V:



V

en la que:

5 R^1 y Z son tal como se definieron anteriormente;

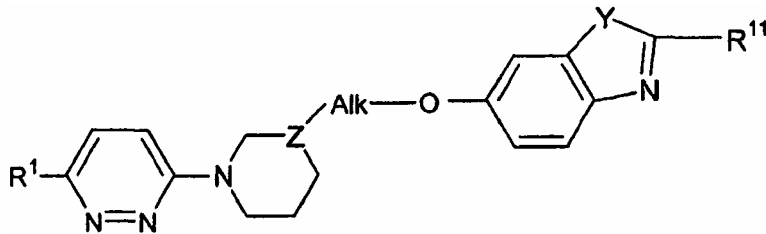
Y es O, S, NH o NMc;

10 Alk es alquileo C_{1-6} ; y

R^{11} es OR^{10} o SR^{10} , en los que R^{10} es alquilo C_{1-4} .

Un grupo particular de compuestos de la invención tiene la fórmula VI:

15



VI

en la que:

20 R^1 y Z son tal como se definieron anteriormente;

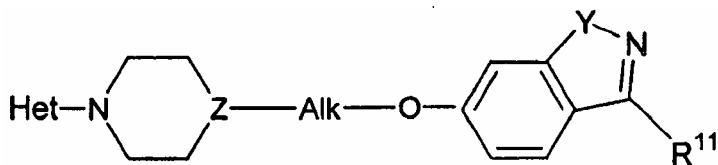
Y es O, S, NH o NMe;

Alk es alquileo C_{1-6} ; y

25

R^{11} es OR^{10} o SR^{10} , en los que R^{10} es alquilo C_{1-4} .

Un grupo particular de compuestos de la invención tiene la fórmula VII:



30

VII

en la que:

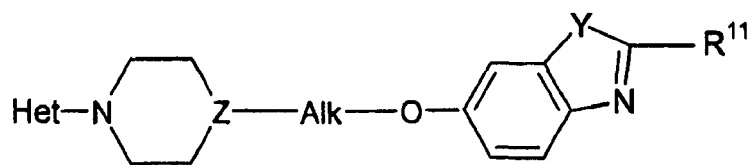
35 Het y Z son tal como se definieron anteriormente;

Y es O, S, NH o NMe;

Alk es alquileo C_{1-6} ; y

40 R^{11} es OR^{10} o SR^{10} en los que R^{10} es alquilo C_{1-4} .

Un grupo particular de compuestos de la invención tiene la fórmula VIII:



VIII

en la que:

5 Het y Z son tal como se definieron anteriormente;

Y es O, S, NH o NMe;

Alk es alquileo C₁₋₆; y

10

R¹¹ es OR¹⁰ o SR¹⁰, en los que R¹⁰ es alquilo C₁₋₄.

En las tablas 1 a 5 a continuación se muestran ejemplos de compuestos específicos dentro del alcance de la

15

Tabla 1

N.º de comp.	Heterociclo	Posición del enlace con el anillo benzo-azol	Grupo X	Sustituyente Y
1	6-Me-3-piridazinilo	6	O	Metilo
2	6-Me-3-piridazinilo	5	O	Metilo
3	6-Me-3-piridazinilo	6	O	Etilo
4	6-Me-3-piridazinilo	6	O	Metiltio
5	6-Me-3-piridazinilo	6	O	Etoxilo
7	6-Me-3-piridazinilo	6	O	Eiltio
9	5-Metil-1,3,4-tiadiazolilo	6	O	Eiltio
10	5-Metil-1,3,4-tiadiazolilo	6	O	Etoxilo
16	6-Me-3-piridazinilo	5/6	NMe	Eiltio
19	6-Me-3-piridazinilo	5	S	Eiltio
20	6-Me-3-piridazinilo	5	S	n-Propoxilo
21	6-Me-3-piridazinilo	5	S	Etoxilo
22	6-Me-3-piridazinilo	5	O	Eiltio
23	6-Me-3-piridazinilo	5	O	Etoxilo
24	6-Me-3-piridazinilo	6	S	n-Propilamino
25	6-Me-3-piridazinilo	5	NH	Eiltio
26	6-Me-3-piridazinilo	6	O	n-Butilo
27	6-Me-3-piridazinilo	6	O	n-Propilo
28	5,6-Me ₂ -3-piridazinilo	6	O	Etoxilo
29	3-Me-1,2,4-tiadiazol-5-ilo	6	O	Etoxilo
30	5,6-Me ₂ -1,2,4-triazin-3-ilo	6	O	Etoxilo
31	1-Me-tetrazol-5-ilo	6	O	Etoxilo

32	6-Cl-5-Me-3-piridazinilo	6	O	Etoxilo
33	5-Me-3-piridazinilo	6	O	Etoxilo

Tabla 2

Número de compuesto	Longitud de la cadena de alquileo n	Sustituyente Y
17	3	Etilio
18	3	Etoxilo
34	5	Etoxilo

Tabla 3

Número de compuesto	Sustituyente R	Grupo A	Longitud de la cadena de alquileo n	Átomo X	Grupo Y
35	Metilo	CH	2	O	Etoxilo
36	Metilo	CH	2	O	Etilo
39	Metilo	CH	2	O	n-Propilo

5

Tabla 4

Número de compuesto	Sustituyente X	Sustituyente Y
43	Etoxilo	H
44	Cloro	Cloro
45	Etoxilo	Etoxilo
46	H	Etoxilo

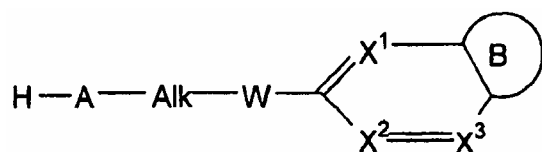
Tabla 5

Números de compuesto	Estructura
49	

50	
51	
52	
53	
54	
55	
56	
57	
58	

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse usando métodos análogos a los descritos en la técnica anterior. Por ejemplo, pueden prepararse compuestos en los que el radical Het es de fórmula (a-1) usando metodología análoga a los procedimientos descritos en las patentes estadounidenses 4.992.433, 5.112.825 y 5.100.893. De manera similar, pueden prepararse compuestos en los que Het es (a-2) usando metodología similar a la descrita en la patente estadounidense 5.070.090 y la patente australiana n.º 629172, y pueden prepararse compuestos en los que Het es (a-8) según metodología similar a la descrita en la patente estadounidense 5.364.865.

En un método los compuestos de la presente invención se preparan mediante un producto intermedio de fórmula XI:

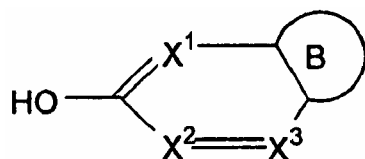


XI

en la que A, Alk, W, Ar, X¹, X², X³ y B son tal como se describieron anteriormente.

Este producto intermedio puede prepararse usando metodología similar a la descrita en la patente estadounidense 5.231.184. En un ejemplo se preparan productos intermedios de fórmula XI, en la que W es O, mediante la reacción

de compuestos de la fórmula P-A-Alk-OH o P-A-Alk-L con compuestos hidroxi-aromáticos de fórmula XII



XII

5 en la que Ar, X¹, X², X³ y B son tal como se definieron anteriormente, P es H o un grupo protector y L es un grupo saliente. La eliminación del grupo protector P en el producto de reacción proporciona los productos intermedios reactivos de fórmula XI.

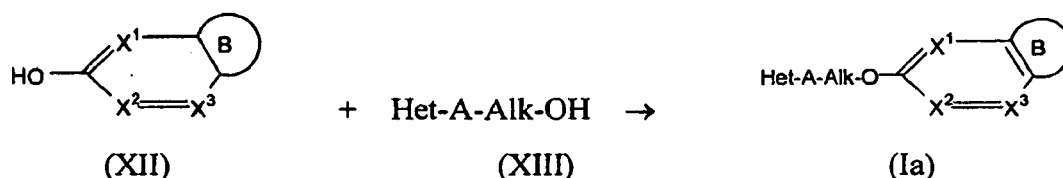
10 Los ejemplos de grupos protectores adecuados P en compuestos de fórmula P-A-Alk-OH o P-A-Alk-L incluyen restos bencilo o acilo que pueden introducirse y eliminarse mediante métodos convencionales (véase "Protective Groups in Organic Synthesis" Theodora Green, Wiley Interscience, 1981).

15 El producto intermedio de fórmula XI puede hacerse reaccionar con un compuesto de fórmula Het-L, en la que Het es tal como se definió anteriormente y L es un grupo saliente adecuado para proporcionar un compuesto de fórmula I. Cuando esta reacción es una reacción de N-alquilación, puede realizarse usando procedimientos conocidos en la técnica, tal como en las condiciones descritas en la patente estadounidense 5.231.184 para realizar N-alkilaciones análogas. En la realización de la reacción descrita anteriormente puede ser necesario proteger uno o más sustituyentes en grupos tales como X¹, X², X³ o B.

20 Algunos de los productos intermedios de fórmula XI son novedosos y representan un aspecto adicional de la presente invención.

25 Los ejemplos de grupos salientes adecuados incluyen halógeno, tal como fluoro, cloro, bromo y yodo, y grupos similares a halógeno tales como p-toluenosulfoniloxilo y metanosulfoniloxilo.

Un método adicional de preparación de determinados compuestos de la invención de fórmula Ia (compuestos de fórmula I en la que W = O) implica condensar un compuesto de fórmula XIII con un precursor adecuado de fórmula XII:

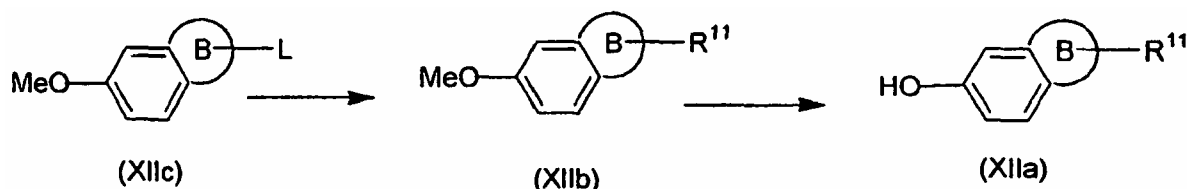


30

usando condiciones de reacción de Mitsunobu (véase Chemical Syntheses, vol. 42, pág. 335, 1992) y en la que Het, A, Alk, X¹, X², X³ y B son tal como se definieron para la fórmula I.

35 Con frecuencia pueden prepararse productos intermedios de fórmula XII a partir de formas protegidas del compuesto de hidroxilo. Por ejemplo pueden prepararse compuestos de fórmula XII en la que X¹-X³ son CH (denominados a continuación en el presente documento compuestos de fórmula (XIIa)) a partir de los compuestos correspondientes que tienen un sustituyente alcoxilo o benciloxilo que puede convertirse en OH mediante reactivos de desprotección rutinarios incluyendo HBr o BBr₃.

40



45 La bibliografía química contiene muchas referencias a la preparación de compuestos de fórmula (XIIb) incluyendo, por ejemplo la patente estadounidense 5.919.807 y J. Org. Chem., 61, 3289 (1996). Generalmente pueden prepararse compuestos de fórmula (XIIb) a partir de los compuestos (XIIc) correspondientes que tienen un grupo saliente L disponible para su desplazamiento por R¹¹ cuando R¹¹ es OR¹⁰, SR¹⁰ o NR⁹R¹⁰. Hay varias referencias en la bibliografía a la preparación de ejemplos de compuestos de fórmula general (XIIc), por ejemplo en las patentes estadounidenses 5.919.807, 5.747.498 y J. Med. Chem., 24, 93 (1981).

50 Varias referencias, incluyendo las patentes estadounidenses 5.112.825 y 5.242.924, describen métodos para la

preparación de diversos compuestos de fórmula XIII.

Los compuestos de la presente invención son útiles en la prevención o el tratamiento de infecciones por picornavirus en mamíferos, particularmente seres humanos.

5 Por consiguiente en un aspecto adicional la invención proporciona un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento o la profilaxis de una infección por picornavirus en un mamífero.

10 La infección por picornavirus puede estar provocada por cualquier virus de la familia *Picornaviridae*. Los miembros representativos de la familia incluyen rinovirus humanos, poliovirus, enterovirus incluyendo virus de Coxsackie y ecovirus, hepatovirus, cardiovirus, aftovirus, hepatitis A y otros picornavirus no asignados aún a ningún género particular, incluyendo uno o más de los serotipos de estos virus. Preferiblemente la invención se usa en la prevención o el tratamiento de infección provocada por uno o más serotipos de rinovirus.

15 Sin desear limitarse a la teoría, se cree que los heteroátomos en el resto heterocíclico condensado del compuesto de fórmula I pueden participar en la unión por puentes de hidrógeno con un residuo de asparagina generalmente presente cerca de la abertura del bolsillo hidrófobo y que esta interacción potencia la unión de los compuestos en el bolsillo de la cápside, con respecto a compuestos de la técnica anterior. Se cree además que el resto heterocíclico condensado puede ser más resistente a la hidrólisis y actividad esterasa que el enlace éster de pirodávir, y que esto puede permitir más flexibilidad en los métodos de administración del compuesto al sitio de actividad que lo que está disponible para pirodávir fácilmente hidrolizable. En particular puede permitir la administración oral de los compuestos o reducir el metabolismo en la mucosa nasal tras la administración tópica.

20 Preferiblemente las sales del compuesto de fórmula I son farmacéuticamente aceptables, pero se apreciará que las sales no farmacéuticamente aceptables también se encuentran dentro del alcance de la presente invención, ya que éstas son útiles como productos intermedios en la preparación de sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables pueden incluir sales no tóxicas convencionales o sales de amonio cuaternario de estos compuestos, que pueden formarse, por ejemplo, a partir de ácidos o bases orgánicos o inorgánicos. Los ejemplos de tales sales de adición de ácido incluyen, pero no se limitan a, las formadas con ácidos farmacéuticamente aceptables tales como ácidos acético, propiónico, cítrico, láctico, metanosulfónico, toluenosulfónico, bencenosulfónico, salicílico, ascórbico, clorhídrico, ortofosfórico, sulfúrico y bromhídrico. Las sales de bases incluyen, pero no se limitan a, las formadas con cationes farmacéuticamente aceptables, tales como sodio, potasio, litio, calcio, magnesio, amonio y alquilamonio. Además, pueden cuaternizarse grupos que contienen nitrógeno básico con agentes tales como haluros de alquilo inferior, tales como cloruros, bromuros y yoduros de metilo, etilo, propilo y butilo; sulfatos de dialquilo tales como sulfato de dimetilo y dietilo; y otros.

25 Los compuestos de la invención pueden estar en forma cristalina o como solvatos (por ejemplo hidratos) y se pretende que ambas formas estén dentro del alcance de la presente invención. Dentro de la técnica se conocen generalmente métodos de solvatación.

30 Se apreciará que algunos derivados del compuesto de fórmula I pueden tener un centro asimétrico, y por tanto pueden existir en más de una forma estereoisomérica. La invención se extiende a cada una de estas formas de manera individual y a mezclas de las mismas, incluyendo racematos. Los isómeros pueden separarse convencionalmente mediante métodos cromatográficos o usando un agente de resolución. Alternativamente los isómeros individuales pueden prepararse mediante síntesis asimétrica usando productos intermedios quirales.

35 La invención también proporciona el uso de un compuesto de fórmula I o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo en la preparación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de infección por picornavirus.

Aunque es posible que, para su uso en terapia, pueda administrarse un compuesto de la invención como producto químico puro, es preferible presentar el principio activo como formulación farmacéutica.

40 En vista de la naturaleza lipófila general de los compuestos son particularmente adecuados para formas de administración orales, sin embargo también se consideran otras formas de administración.

45 Por tanto, la invención proporciona además formulaciones farmacéuticas que comprenden un compuesto de la invención o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo junto con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables para el mismo y, opcionalmente, otros componentes terapéuticos y/o profilácticos. El/los portador(es) debe(n) ser aceptable(s) en el sentido de ser compatible(s) con los otros componentes de la formulación y no ser perjudicial(es) para el receptor de la misma.

50 Los compuestos de esta invención también pueden ser útiles en combinación con agentes antivirales o antirretrovirales u otros productos farmacéuticos usados en el tratamiento de infecciones virales. Los ejemplos representativos de estos productos farmacéuticos adicionales incluyen inmunomoduladores, inmunoestimulantes,

antibióticos y agentes antiinflamatorios. Los agentes antivirales a modo de ejemplo incluyen zanamivir, rimantidina, amantidina, ribavirina, AZT, 3TC, (-) FTC, aciclovir, famciclovir, penciclovir, ddl, ddC, ganciclovir, saquinavir, lovirida, otros inhibidores de transcriptasa inversa (RT) no nucleotídicos e inhibidores de proteasa, anticuerpos antivirales y antirreceptor y análogos de receptor, tales como ICAM-1. Los inmunomoduladores e inmunoestimulantes a modo de ejemplo incluyen diversas interleucinas, citocinas y preparaciones de anticuerpos. Los antibióticos a modo de ejemplo incluyen agentes antifúngicos y agentes antibacterianos. Los agentes antiinflamatorios a modo de ejemplo incluyen glucocorticoides y compuestos antiinflamatorios no esteroideos.

Las formulaciones farmacéuticas incluyen aquellas adecuadas para administración oral, rectal, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), vaginal o parenteral (incluyendo intramuscular, subcutánea e intravenosa) o en una forma adecuada para la administración mediante inhalación o insuflación. Por tanto, los compuestos de la invención, junto con un adyuvante, portador o diluyente convencional, pueden ponerse en forma de composiciones farmacéuticas y dosificaciones unitarias de las mismas, y pueden emplearse en una forma tal como sólidos, tales como comprimidos o cápsulas rellenas, o líquidos tales como disoluciones, suspensiones, emulsiones, elixires o cápsulas rellenas con los mismos, todos para uso oral, en forma de supositorios para administración rectal; o en forma de disoluciones inyectable estériles para uso parenteral (incluyendo subcutáneo). Tales composiciones farmacéuticas y formas de dosificación unitaria de las mismas pueden comprender componentes convencionales en proporciones convencionales, con o sin principios o compuestos activos adicionales, y tales formas de dosificación unitaria pueden contener cualquier cantidad eficaz adecuada del principio activo acorde con el intervalo de dosificación diaria previsto que va a emplearse. Por consiguiente, formulaciones que contienen diez (10) miligramos de principio activo o, de manera más amplia, de 0,1 a doscientos (200) miligramos, por comprimido, son formas de dosificación unitaria representativas adecuadas. Los compuestos de la presente invención pueden administrarse en una amplia variedad de formas de dosificación orales y parenterales. Resultará obvio para los expertos en la técnica que las siguientes formas de dosificación pueden comprender, como componente activo, o bien un compuesto de la invención o bien una sal farmacéuticamente aceptable de un compuesto de la invención.

Para preparar composiciones farmacéuticas a partir de los compuestos de la presente invención, los portadores farmacéuticamente aceptables pueden ser o bien sólidos o bien líquidos. Las preparaciones en forma sólida incluyen polvos, comprimidos, píldoras, cápsulas, sellos, supositorios y gránulos dispersables. Un portador sólido puede ser una o más sustancias que también pueden actuar como diluyentes, agentes aromatizantes, solubilizantes, lubricantes, agentes de suspensión, aglutinantes, conservantes, agentes de disgregación de comprimidos o un material de encapsulación.

En polvos, el portador es un sólido finamente dividido que está en mezcla con el componente activo finamente dividido.

En comprimidos, el componente activo se mezcla con el portador que tiene la capacidad de aglutinación necesaria en proporciones adecuadas y se compacta para dar la forma y el tamaño deseados.

Los polvos y comprimidos contienen preferiblemente desde el cinco o el diez hasta aproximadamente el setenta por ciento del compuesto activo. Portadores adecuados son carbonato de magnesio, estearato de magnesio, talco, azúcar, lactosa, pectina, dextrina, almidón, gelatina, goma tragacanto, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica, una cera de bajo punto de fusión, manteca de cacao y similares. Se pretende que el término "preparación" incluya la formulación del compuesto activo con material de encapsulación como portador que proporciona una cápsula en la que el componente activo, con o sin portadores, está rodeado por un portador, que está por tanto en asociación con el mismo. De manera similar, se incluyen sellos y pastillas para chupar. Pueden usarse comprimidos, polvos, cápsulas, píldoras, sellos y pastillas para chupar como formas sólidas adecuadas para administración oral.

Para preparar supositorios, en primer lugar se funde una cera de bajo punto de fusión, tal como mezcla de glicéridos de ácidos grasos o manteca de cacao, y se dispersa el componente activo de manera homogénea en la misma, tal como mediante agitación. Entonces se vierte la mezcla homogénea fundida en moldes de tamaño conveniente, se deja que se enfríen y de ese modo se solidifican.

Las formulaciones adecuadas para administración vaginal pueden presentarse como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o pulverizaciones que contienen, además del principio activo, portadores tal como se sabe en la técnica que son apropiados.

Las preparaciones en forma líquida incluyen disoluciones, suspensiones y emulsiones, por ejemplo, agua o disoluciones en agua-propilenglicol. Por ejemplo, pueden formularse preparaciones líquidas para inyección parenteral como disoluciones en disolución acuosa de polietilenglicol.

Por tanto, los compuestos según la presente invención pueden formularse para la administración parenteral (por ejemplo mediante inyección, por ejemplo inyección en bolo o infusión continua) y pueden presentarse en forma de dosis unitaria en ampollas, jeringas precargadas, infusión de pequeño volumen o en recipientes de múltiples dosis con un conservante añadido. Las composiciones pueden adoptar formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de

suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el principio activo puede estar en forma de polvo, obtenido mediante aislamiento aséptico de sólido estéril o mediante liofilización de disolución, para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo agua estéril, libre de pirógenos, antes de su uso.

- 5 Pueden prepararse disoluciones acuosas adecuadas para uso oral disolviendo el componente activo en agua y añadiendo colorantes, aromatizantes, agentes estabilizantes y espesantes adecuados, según se desee.

10 Pueden prepararse suspensiones acuosas adecuadas para uso oral dispersando el componente activo finamente dividido en agua con material viscoso, tal como gomas naturales o sintéticas, resinas, metilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica u otros agentes de suspensión bien conocidos. También se incluyen preparaciones en forma sólida que se pretende que se conviertan, poco antes de su uso, en preparaciones en forma líquida para administración oral. Tales formas líquidas incluyen disoluciones, suspensiones y emulsiones. Estas preparaciones pueden contener, además del componente activo, colorantes, aromatizantes, estabilizadores, tampones, edulcorantes artificiales y naturales, dispersantes, espesantes, agentes de solubilización y similares.

15 Para la administración tópica a la epidermis los compuestos según la invención pueden formularse como pomadas, cremas o lociones, o como un parche transdérmico. Las pomadas y cremas pueden formularse, por ejemplo, con una base acuosa o aceitosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Pueden formularse lociones con una base acuosa o aceitosa y en general también contendrán uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes o agentes colorantes.

20 Las formulaciones adecuadas para la administración tópica en la boca incluyen pastillas para chupar que comprenden agente activo en una base aromatizada, habitualmente sacarosa y goma arábica o goma tragacanto; pastillas que comprenden el principio activo en una base inerte tal como gelatina y glicerina o sacarosa y goma arábica; y enjuagues bucales que comprenden el principio activo en un portador líquido adecuado.

30 Las disoluciones o suspensiones se aplican directamente a la cavidad nasal mediante medios convencionales, por ejemplo con un gotero, una pipeta o un pulverizador. Las formulaciones pueden proporcionarse en forma de una única o de múltiples dosis. En este último caso de un gotero o una pipeta, esto puede lograrse administrando el paciente un volumen apropiado, predeterminado, de la disolución o suspensión. En el caso de un pulverizador, esto puede lograrse por ejemplo por medio de una bomba de pulverizador de atomización de dosificación. Para mejorar el suministro nasal y la retención los compuestos según la invención pueden encapsularse con ciclodextrinas, o formularse con sus agentes que se espera que potencien el suministro y la retención en la mucosa nasal.

35 La administración a las vías respiratorias también puede lograrse por medio de una formulación de aerosol en la que el principio activo se proporciona en un envase presurizado con un propelente adecuado tal como un clorofluorocarbono (CFC), por ejemplo diclorodifluorometano, triclorofluorometano o diclorotetrafluoroetano, dióxido de carbono u otro gas adecuado. El aerosol también puede contener convenientemente un tensioactivo tal como lecitina. La dosis de fármaco puede controlarse proporcionando una válvula dosificada.

40 Alternativamente los principios activos pueden proporcionarse en forma de un polvo seco, por ejemplo una mezcla en polvo del compuesto en una base de polvo adecuada tal como lactosa, almidón, derivados de almidón tales como hidroxipropilmetilcelulosa y polivinilpirrolidona (PVP).

45 Convenientemente, el portador en polvo formará un gel en la cavidad nasal. La composición de polvo puede presentarse en forma de dosis unitaria, por ejemplo en cápsulas o cartuchos de, por ejemplo, gelatina, o envases de tipo blíster a partir de los cuales puede administrarse el polvo por medio de un inhalador.

50 En las formulaciones previstas para la administración a las vías respiratorias, incluyendo formulaciones intranasales, el compuesto tendrá generalmente un tamaño de partícula pequeño por ejemplo del orden de 1 a 10 micrómetros o menos. Tal tamaño de partícula puede obtenerse mediante medios conocidos en la técnica, por ejemplo mediante micronización.

55 Cuando se desee, pueden emplearse formulaciones adaptadas para proporcionar una liberación sostenida del principio activo.

60 Las preparaciones farmacéuticas están preferiblemente en formas de dosificación unitaria. En tal forma, la preparación está subdividida en dosis unitarias que contienen cantidades apropiadas del componente activo. La forma de dosificación unitaria puede ser una preparación envasada, conteniendo el envase cantidades diferenciadas de preparación, tales como comprimidos envasados, cápsulas y polvos en viales o ampollas. Además, la forma de dosificación unitaria puede ser una cápsula, un comprimido, un sello o una pastilla para chupar en sí mismo, o puede ser el número apropiado de cualquiera de estos en forma envasada.

65 Los líquidos o polvos para administración intranasal, comprimidos o cápsulas para administración oral y líquidos para administración intravenosa son composiciones preferidas.

Ahora se describirá la invención con referencia a los siguientes ejemplos que ilustran algunos aspectos preferidos de la presente invención. Sin embargo debe entenderse que la particularidad de la siguiente descripción de la invención no debe sustituir a la generalidad de la descripción anterior de la invención.

5 Ejemplos

Ejemplo 1: Preparación de 6-{2-[1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etoxi}-2-metiltiobenzoxazol (compuesto 4 de la tabla 1)

10 (a) Preparación de 2-mercapto-6-hidroxibenzoxazol (véase también J. Org.Chem., 19, 758)

Se disolvió una mezcla de clorhidrato de aminoresorcinol (1,1 g), etilxantato de potasio (1,2 g) y carbonato de potasio (1,0 g) en etanol/agua (1:1, 20 ml) y (bajo un globo de argón) se calentó a reflujo durante 3 horas. Se enfrió la disolución de color amarillo pálido hasta TA y después se añadió ácido acético (2 ml) para hacer que la disolución fuera ligeramente ácida (desprendimiento de gas). Pronto se formó un precipitado de color crema y se mantuvo el matraz sellado en el frigorífico durante la noche. Se recogió el sólido de color crema mediante filtración y se usó inmediatamente el producto húmedo (0,9 g) en la siguiente etapa.

20 (b) Preparación de 6-hidroxi-2-metiltiobenzoxazol

Se disolvió una mezcla de 6-hidroxi-2-mercaptobenzoxazol (165 mg), bicarbonato de sodio (84 mg) y sulfato de dimetilo (94 µl) en agua (2 ml) con agitación y bajo una atmósfera de argón. Se agitó la mezcla de reacción a TA durante la noche y la HPLC mostró que todo el material de partida había desaparecido. Se evaporó la mezcla de reacción hasta sequedad para dar un sólido de color marrón oscuro (también puede extraerse la mezcla de reacción con cloroformo para dar el producto bruto). La cromatografía sobre gel de sílice usando el 10% de acetato de etilo/hexano dio el producto puro como un sólido cristalino casi blanco (45 mg, 25%).

(c) Preparación de 2-metiltio-6-[N-(6-metil-3-piridazinil)piperidinil-4-etoxi]benzoxazol (compuesto 4)

30 Se calentó una mezcla de 6-hidroxi-2-metiltiobenzoxazol (100 mg), 3-[4-(2-cloroetil)-1-piperidinil]-6-metilpiridazina (130 mg) y carbonato de potasio (100 mg) y se agitó en DMF (3 ml) a 90-100°C bajo argón durante 20 h. La CCF mostró que la reacción era prácticamente completa y se eliminó la DMF a presión reducida y se repartió el residuo entre agua y cloroformo. Se evaporaron los extractos de cloroformo y se sometió el residuo a cromatografía sobre sílice/cloroformo para dar el producto como un sólido de color crema pálido (110 mg, 50%). En la tabla 6 a continuación se resume el espectro de ¹H-RMN.

Ejemplo 2: Preparación de 2-etoxi-6-{2-[N-(6-metil-3-piridazinil)piperidinil]-4-etoxi}benzoxazol (compuesto n.º 5)

40 Se disolvió metal de sodio (100 mg) en etanol (5 ml) y se añadió la disolución a una disolución del metiltiobenzoxazol (compuesto n.º 4) (74 mg) en THF (2 ml). Se agitó la disolución resultante a TA durante 24 h, momento en el que la HPLC indicó que todo el material de partida había desaparecido. Se evaporó la mezcla de reacción hasta sequedad y se repartió el residuo entre agua y diclorometano. Se purificó el producto orgánico bruto mediante cromatografía sobre sílice/CH₂Cl₂ para dar el compuesto n.º 5 como un sólido de color crema pálido (46 mg). En la tabla 6 a continuación se registran los datos de ¹H-RMN y EM.

Ejemplo 3

50 Se prepararon los compuestos n.ºs 1, 2, 3, 9, 17, 19, 22, 25, 26, 27 haciendo reaccionar el Het-A-Alk-Cl o Het-A-Alk-OH apropiado con el 5- o 6-hidroxibenzazol 2-sustituido requerido (benzoxazol, benzotiazol o bencimidazol) siguiendo condiciones similares a las descritas en el ejemplo 1, parte (c). En la tabla 6 a continuación se registran los datos de ¹H-RMN y/o EM.

Ejemplo 4

55 Se prepararon los derivados de 2-alcoxibenzazol, compuestos n.ºs 10, 18, 20, 21, 23, a partir del 2-metiltio o 2-etiltio-benzoxazol o benzotiazol correspondiente mediante reacción con el alcóxido de sodio apropiado siguiendo esencialmente las mismas condiciones que las descritas en el ejemplo 2. En la tabla 6 a continuación se registran los datos de ¹H-RMN y/o EM.

60 Ejemplo 5: Preparación de una mezcla de 2-etiltio-3-metil-6-{2-[N-(6-metil-3-piridazinil)piperidinil]-4-etoxi}bencimidazol y 2-etiltio-3-metil-5-{2-[N-(6-metil-3-piridazinil)piperidinil]-4-etoxi}bencimidazol (compuesto n.º 16)

65 La metilación de 2-etiltio-5-hidroxibencimidazol dio una mezcla aproximadamente 1:1 de 2-etiltio-3-metil-5-hidroxibencimidazol y 2-etiltio-3-metil-6-hidroxibencimidazol que no pudo separarse fácilmente. La reacción de esta mezcla de compuestos de hidroxilo con 3-[4-(2-cloroetil)-1-piperidinil]-6-metilpiridazina, siguiendo el método descrito en el ejemplo 1, dio una mezcla 1:1 de productos isoméricos (compuesto n.º 16).

Ejemplo 6: Preparación de 6-[2-[1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etoxi]-3-etoxi-1,2-bencisoxazol (compuesto 35 de la tabla 3)

- 5 (a) Preparación de ácido 2-hidroxi-4-metoxibenzohidroxámico según el procedimiento de la bibliografía Chem. Ber. 100, 954-960 (1967)

10 Se preparó una disolución de hidroxilamina mediante adición de hidróxido de sodio acuoso (393 mg, 9,82 mmol)/agua (1,6 ml) a una disolución con agitación de clorhidrato de hidroxilamina (292 mg, 4,21 mmol) en agua (3,5 ml). Inmediatamente se añadió lentamente una disolución de 2-hidroxi-4-metoxibenzoato de metilo (511 mg, 2,81 mmol) en 1,4-dioxano (1,5 ml). Se agitó la mezcla de reacción resultante a temperatura ambiente durante 18 horas, bajo una atmósfera de argón. Se concentró la mezcla de reacción en un evaporador rotatorio hasta la mitad del volumen original, y el producto precipitó mediante adición de ácido clorhídrico concentrado, manteniendo el matraz frío en un baño de hielo. Se filtró la suspensión para dar ácido 2-hidroxi-4-metoxibenzohidroxámico (476 mg, 92%) como un sólido de color marrón pálido.

15 Espectro de $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 3,72 (s, 3H); 6,36 (m, 2H); 7,41 (d, 1H).

- 20 (b) Preparación de 3-hidroxi-6-metoxi-1,2-bencisoxazol

25 Se añadió una disolución de carbonildiimidazol (1,07 g, 6,57 mmol) en THF anhidro (8 ml) a una disolución en ebullición con agitación del ácido hidroxámico (602 mg, 3,29 mmol) en THF (6 ml). Se calentó la disolución resultante a reflujo durante aproximadamente 8-10 horas, después se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche bajo una atmósfera de argón. La cromatografía en capa fina (CCF) (sílice; hexano/acetato de etilo 1:1) mostró material de partida mínimo y nuevo material no polar. Se evaporó la disolución en un evaporador rotatorio para dar un aceite de color naranja. Se añadió agua (6 ml) y se enfrió el contenido (baño de hielo) y se acidificó a pH 2 con ácido clorhídrico concentrado. El 3-hidroxi-6-metoxi-1,2-bencisoxazol húmedo, bruto, precipitó como un sólido de color crema anaranjado (645 mg).

30 Espectro de $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 3,82 (s, 3H); 6,73 (fd, 1H); 6,80 (dd, 1H); 7,52 (d, 1H).

CL-EM (ESI) 166 ($\text{M}+1$)⁺

- 35 (c) Preparación de 3-etoxi-6-metoxi-1,2-bencisoxazol

40 Se disolvieron bencisoxazol de la parte (b) (193 mg, 1,17 mmol), etanol (75 μl , 1,29 mmol) y trifetilfosfina (460 mg, 1,75 mmol) en THF anhidro (4 ml) y se enfrió (0°C). Se añadió lentamente azodicarboxilato de diisopropilo (345 μl , 1,75 mmol) y tras 10-15 min se retiró el matraz de reacción del baño de hielo y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante la noche bajo una atmósfera de argón. Se evaporó la disolución hasta sequedad y se absorbió previamente el residuo sobre sílice y se sometió a cromatografía sobre sílice (19 g); eluyente: hexano (300 ml), el 10-30% de acetato de etilo/hexano para dar 3-etoxi-6-metoxi-1,2-bencisoxazol (101 mg, 44%) como cristales blancos.

45 Espectro de $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 1,50 (t, 3H); 3,87 (s, 3H); 4,47 (q, 2H); 6,86 (m, 2H), 7,47 (d, 1H).

CL-EM (ESI) 194 ($\text{M}+1$)⁺

- (d) Preparación de 3-etoxi-6-hidroxi-1,2-bencisoxazol

50 Se añadió tribromuro de boro (disolución 1,0 M en diclorometano; 1,39 ml, 1,39 mmol) a una disolución con agitación, enfriada a -78°C, de bencisoxazol de la parte (c) (179 mg, 928 μmol) en diclorometano (4 ml) bajo una atmósfera de argón. Se calentó gradualmente la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente a lo largo de aproximadamente 2 horas y se agitó durante la noche. La CCF (sílice, hexano/acetato de etilo 2:1) mostró nuevo material polar así como material de partida sin reaccionar. Se sometió la reacción a tratamiento final añadiendo agua (5 ml) y hielo. Se neutralizó la fase acuosa mediante adición de disolución saturada de NaHCO_3 y se saturó con NaCl . Se extrajo la fase acuosa en diclorometano (3 x 60 ml), después se combinaron los extractos orgánicos y se lavaron con salmuera (10 ml) y se secaron (NaSO_4). Se purificó el producto mediante cromatografía sobre sílice (18 g; eluyente el 2,5%, el 5%, después el 15% de acetato de etilo/hexano). El primer compuesto que eluyó fue 3-etoxi-6-metoxi-1,2-bencisoxazol sin reaccionar (46 mg), seguido por 3-etoxi-6-hidroxi-1,2-bencisoxazol, 108 mg (65%).

60 Espectro de $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ (ppm): 1,45 (t, 3H); 4,40 (q, 2H); 6,74 (m, 2H); 7,38 (m, 1H).

65 CL-EM (ESI) 180 ($\text{M}+1$)⁺

(e) Preparación del compuesto 35

Se enfrió (0°C) una mezcla de 2-[-1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etanol (42 mg, 188 µmol), bencisoxazol de la parte (d) (28 mg, 156 µmol) y trifenilfosfina soportada en polímero (145 mg, 234 µmol) en THF anhidro (3 ml) y se agitó bajo una atmósfera de argón. Se añadió lentamente azodicarboxilato de diisopropilo puro (46 µmol, 234 µmol) y se dejó calentar la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y agitar durante la noche. Se filtró la mezcla de reacción, después se adsorbió previamente sobre sílice y se sometió a cromatografía sobre sílice (aproximadamente 5 g); usando en primer lugar hexano/acetato de etilo 2:1 como eluyente, después aumentando gradualmente hasta el 70% de acetato de etilo/hexano para proporcionar compuesto 35 (44 mg; 73%) como un polvo blanco. En la tabla 6 a continuación se registran los datos de ¹H-RMN y EM.

Ejemplo 7

Se prepararon los compuestos n.ºs 36, 39, 49, 50, 56 y 57 haciendo reaccionar el Het-A-Alk-Cl o Het-A-Alk-OH apropiado con el 6-hidroxi-1,2-bencisoxazol (o 1,2-bencisotiazol) 3-sustituido requerido siguiendo condiciones similares a las descritas en el ejemplo 6. En la tabla 6 a continuación se registran los datos de ¹H-RMN y/o EM.

Ejemplo 8

Se preparó el derivado de n-propilaminobenzotiazol, compuesto n.º 24, a partir del 2-metoxi-benzotiazol (compuesto 14) correspondiente calentando con un exceso de n-propilamina. En la tabla 6 a continuación se registran los datos de ¹H-RMN y/o EM.

Ejemplo 9: Preparación de 2-etoxi-6-{2-[N-(5,6-dimetil-3-piridazinil)piperidinil]-4-etoxi}benzoxazol (compuesto n.º 28)

(a) Preparación de 2-etoxi-6-hidroxibenzoxazol

Se agitó una mezcla de cantidades equivalentes de clorhidrato de 4-aminorresorcinol y acetato de sodio anhidro en etanol anhidro durante 16 horas a temperatura ambiente con un ligero exceso de ortocarbonato de tetraetilo para dar 2-etoxi-6-hidroxibenzoxazol con un rendimiento del 60%.

(b) Se llevó a cabo la reacción de 2-etoxi-6-hidroxibenzoxazol con 2-[-1-(5,6-dimetil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etanol usando un acoplamiento de Mitsunobu y condiciones similar a las descritas en el ejemplo 6, parte (e). En la tabla 6 a continuación se registran los datos de ¹H-RMN y/o EM para el compuesto 28.

Ejemplo 10

Se prepararon los compuestos n.ºs 29, 30, 31, 32, 33 y 34 haciendo reaccionar el Het-A-Alk-Cl o Het-A-Alk-OH apropiado con 2-etoxi-6-hidroxibenzoxazol siguiendo condiciones similares a las descritas en el ejemplo 1, parte (c) o el ejemplo 6, parte (e). En la tabla 6 a continuación se registran los datos de ¹H-RMN y/o EM.

Ejemplo 11: Preparación de 6-{2-[1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etoxi}-4-etoxi-cinolina (compuesto 53 de la tabla 5)

(a) Preparación de 4-cloro-6-metoxicinolina

Se preparó 6-metoxi-4-hidroxicinolina (Osborn, A.R. y Schofield, K. J. Chem. Soc., 1955, 2100) a partir de 2-amino-5-metoxiacetofenona mediante diazotización.

Se añadió oxiclóruo de fósforo (5 ml) a una mezcla de dimetilaminilina (157 mg, 1,3 mmol) y 6-metoxi-4-hidroxicinolina (208 mg, 1,2 mmol). Se calentó la reacción a reflujo durante 15 min, después se enfrió y se concentró a vacío. Se repartió el residuo entre cloroformo (100 ml) y agua (30 ml), después se lavó la fase orgánica con salmuera y se secó (Na₂SO₄). La cromatografía del residuo adsorbido sobre gel de sílice (3 g) sobre gel de sílice (15 g), eluyente de CH₂Cl₂ al 10% de acetato de etilo/CH₂Cl₂ dio 6-metoxi-4-clorocinolina (135 mg, 0,7 mmol) con un rendimiento del 59% como un sólido de color blanco amarillento. δ_H (CDCl₃) = 4,03 (s, 3H); 7,28 (d, 1H); 7,51 (dd, 1H); 8,41 (d, 1H) y 9,22 (s. a., 1H). EM (ESI) (M+H)⁺ 195.

(b) Preparación de 4-cloro-6-hidroxicinolina

Se añadió una disolución de 6-metoxi-4-clorocinolina (135 mg, 0,7 mmol) en tolueno (7 ml) a una suspensión con agitación de tricloruro de aluminio (231 mg, 1,73 mmol) en tolueno (7 ml) y se sometió la suspensión de color marrón rojizo a reflujo durante 1 h. Se eliminó el disolvente a vacío y se repartió el residuo entre agua (20 ml) y el 10% de etanol/cloroformo (2x100 ml). Se lavó la fase orgánica con salmuera y se secó (Na₂SO₄). La eliminación del disolvente a vacío dio 6-hidroxi-4-clorocinolina (154 mg) como un único componente mediante CCF (acetato de etilo/hexanos 1:1). δ_H (CD₃OD) = 7,33 (d, 1H); 7,56 (dd, 1H); 8,32 (d, 1H) y 9,15 (s. a. 1H). EM (ESI) (M+H)⁺ 181.

(c) Preparación de 6-{2-[(1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etoxi}-4-clorocinolina

5 Se añadió lentamente una disolución de DIAD (42 mg, 0,21 mmol) en THF (0,4 ml) a una suspensión que contenía 6-hidroxi-4-clorocinolina (30 mg, 0,17 mmol), trifenilfosfina (65 mg, 0,25 mmol) y 1-(6-metil-3-piridazinil)-4-(2-hidroxietil)-piperidina (40 mg, 0,18 mmol) en THF (5 ml) y se aclaró la suspensión. Se dejó agitar la reacción durante la noche, después se adsorbió la reacción sobre sílice (1,5 g) y la cromatografía sobre gel de sílice (8 g), eluyente acetato de etilo, dio el producto (50 mg, 0,13 mmol) con un rendimiento del 72%. ¹H-RMN δ_H (CD₃OD) = 1,35 (m, 2H); 1,9 (m, 5H); 2,46 (s, 3H); 2,95 (m, 2H); 4,34 (m, 4H); 7,19 (d, 1H); 7,26 (d, 1H); 7,42 (d, 1H); 7,64 (dd, 1H); 8,34 (d 1H) y 9,24 (s. a. 1H).

10 EM (ESI) (M+H)⁺ 384.

(d) Preparación del compuesto n.º 53

15 Se añadió gota a gota una disolución de etóxido de sodio (0,3 mmol) en etanol (0,15 ml) a una disolución de la 4-clorocinolina anterior (parte c) (23 mg, 60 μmol) en etanol seco (3 ml) y se dejó agitar la reacción durante 2 h. Se extinguió la reacción con cloruro de amonio saturado/salmuera (1 ml) y se eliminaron los disolventes a vacío. Se repartió el residuo entre salmuera (5 ml) y el 5% de etanol/acetato de etilo (2x30 ml), se secó (Na₂SO₄) y se adsorbió sobre sílice (1 g) a vacío. La cromatografía sobre gel de sílice (8 g), eluyente el 5% de metanol/acetato de etilo, dio el compuesto n.º 53 (15 mg, 38 μmol) con un rendimiento del 63%.

Ejemplo 12: Preparación de 7-{2-[1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etoxi}-4-etoxi-cinolina (compuesto 52 de la tabla 5)

25 Se preparó 4-hidroxi-7-metoxi-cinolina (Osborn, A.R. y Schofield, K. J. Chem. Soc. (1955) 2100) siguiendo un método similar al descrito en el ejemplo 11 para el isómero 6. Se convirtió este compuesto en el compuesto 52 de una manera similar a la descrita en el ejemplo 11 para el isómero 6. En la tabla 6 a continuación se registran los datos de ¹H-RMN y EM

Ejemplo 13: Preparación de 7-{2-[1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etoxi}-4-etoxi-quinazoline (compuesto 51 de la tabla 5)

(a) Síntesis de 7-nitroquinazolin-4-ona

35 Se calentó una mezcla de ácido 4-nitroantranílico (2,17 g, 11,91 mmol) y formamida (1,5 ml, 38,43 mmol) a 165°C durante 4 horas. Se vertió la mezcla de reacción caliente en hielo/agua (30 ml) y se recogió el precipitado resultante mediante filtración, para dar un sólido naranja (2,16 g, rendimiento del 95%) que se secó sobre P₂O₅. Esto se usó sin purificación adicional.

40 ¹H-RMN; 8,24 (d, 1H), 8,32 (s, 1H), 8,34 (s, 1H), 8,35 (d, 1H).

(b) Síntesis de 7-aminoquinazolin-4-ona

45 Se añadió Pd/C (100 mg) como una única porción a una suspensión desgasificada y purgada (3 x Ar) de 7-nitroquinazolin-4-ona (1,15 g, 6,02 mmol) en metanol (150 ml). Se desgasificó la mezcla negra resultante, se purgó con hidrógeno y se dejó agitar durante 4 horas. Se filtró la mezcla a través de Celite, se lavó bien con metanol y se concentró el filtrado para dar un sólido de color tostado. Esto se purificó mediante cromatografía en columna (sílice) usando el 10% de metanol/acetato de etilo como eluyente. Las fracciones combinadas dieron un sólido beis (949 mg, rendimiento del 98%).

50 ¹H-RMN; 6,68 (s, 1H), 6,87 (d, 1H), 7,73 (d, 1H), 7,83 (s, 1H), 11,40 (s. a., 1H).

(c) Síntesis de 7-hidroxiquinazolin-4-ona

55 Se añadió gota a gota una disolución de nitrito de sodio (1,40 g, 20,32 mmol) en agua (17 ml) a una suspensión enfriada de 7-aminoquinazolin-4-ona (712 mg, 4,42 mmol) en ácido sulfúrico/agua (4,4 ml, 18 ml), manteniendo la temperatura a aproximadamente 0°C. Se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 2 horas, se diluyó con agua (15 ml) y se calentó a reflujo durante 15 minutos. Se neutralizó la mezcla enfriada y se recogió el precipitado mediante filtración y se purificó mediante cromatografía en columna (sílice) usando el 10% de metanol/acetato de etilo como eluyente. Las fracciones combinadas dieron un sólido naranja (541 mg, 76%).

60 ¹H-RMN; 6,85-6,91 (m, 2H), 7,87 (s, 1H), 7,92 (s, 1H).

(d) Síntesis de 7-hidroxi-4-etoxiquinazolina

65

Se calentó una mezcla de 7-hidroxiquinazolin-4-ona (105 mg, 648 μmol), oxiclورو de fósforo (2 ml) y dimetilanilina (85 μl , 671 μmol) a reflujo durante 15 minutos en una atmósfera de argón. Se concentró la mezcla enfriada a vacío y se mantuvo en una atmósfera de argón para evitar la hidrólisis. Se disolvió este residuo en etanol (anhidro, 3 ml) y se añadió gota a gota una disolución de sodio (283 mg, 12,34 mmol) en etanol (3 ml). Se agitó la mezcla amarilla resultante a temperatura ambiente bajo argón durante 2 horas, se acidificó a pH 6 usando NaH_2PO_4 y se extrajo con acetato de etilo (3 x 50 ml). Se secaron los extractos combinados (MgSO_4), se filtraron y se concentraron. Se usó el sólido blanco (156 mg) sin purificación adicional.

$^1\text{H-RMN}$; 1,49 (t, 3H), 4,78 (q, 2H), 7,26 (d, 1H), 7,43 (s, 1H), 8,11 (d, 1M), 8,83 (s, 1H).

(e) Preparación del compuesto n.º 51

Se calentó una mezcla de 3-[4-(2-cloroetil)-1-piperidinil]-6-metil-piridazina (76 mg, 318 μmol), 7-hidroxi-4-etoxiquinazolina (100 mg, 526 μmol), carbonato de potasio (109 mg, 789 μmol) y yoduro de potasio (53 mg, 319 μmol) en DMF (5 ml) a 90°C durante la noche en una atmósfera de argón. Se concentró la mezcla y se repartió el residuo entre acetato de etilo (100 ml) y agua (20 ml). Se secó la fase orgánica (MgSO_4), se filtró, se concentró y se purificó mediante cromatografía en columna (sílice), usando elución en gradiente (acetato de etilo - metanol/EA). Las fracciones combinadas dieron un sólido blanco (22 mg, 18%). En la tabla 6 a continuación se registran los datos de $^1\text{H-RMN}$.

Ejemplo 14

Se prepararon los compuestos n.ºs 54 y 55 haciendo reaccionar 3-[4-(2-cloroetil)-1-piperidinil]-6-metil-piridazina con la 6-hidroxiquinazolina apropiada siguiendo condiciones similares a las descritas en el ejemplo 13, parte (e). En la tabla 6 a continuación se registran los datos de ^1H y/o EM.

Ejemplo 15: Preparación de 6-{2-[1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etoxi}-2-etoxi-quinoxalina (compuesto 43 de la tabla 4)

(a) Preparación de 2-cloro-6-hidroxiquinoxalina

Se añadió tricloruro de aluminio (85 mg, 638 μmol) como una única porción a una mezcla con agitación de 2-cloro-6-metoxiquinoxalina (73 mg, 375 μmol) y tolueno anhidro (3 ml) bajo una atmósfera de argón. Se calentó la mezcla de reacción a reflujo durante aproximadamente 1 h, después se dejó agitar durante la noche a temperatura ambiente. La CCF (sílice; hexano/acetato de etilo 2:1) no mostró nada de material de partida restante y mostró nuevo material polar. Se añadieron agua (1 ml) y hielo y se agitó la mezcla. Se repartió el contenido entre agua (5 ml) y acetato de etilo (100 ml). Se extrajo la fase acuosa en acetato de etilo (50 ml), después se combinaron los extractos orgánicos y se lavaron con agua (10 ml), seguido por salmuera (10 ml) y se secaron (Na_2SO_4). La concentración dio un sólido marrón, que se adsorbió previamente sobre sílice, después se sometió a cromatografía sobre sílice (9 g; eluyente: el 20% de acetato de etilo en hexano, después el 25% de acetato de etilo en hexano para dar 2-cloro-6-hidroxiquinoxalina, 54 mg (79%).

(b) Preparación de 2-cloro-6-{2-[1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etoxi}-quinoxalina

Se calentó una mezcla de 2-cloro-6-hidroxiquinoxalina (52 mg, 288 μmol), 3-[4-(2-cloroetil)-1-piperidinil]-6-metil-piridazina (76 mg, 317 μmol), yoduro de potasio (53 mg, 317 μmol) y carbonato de potasio (199 mg, 1,44 mmol) en dimetilformamida anhidra (2 ml) a 90°C bajo una atmósfera de argón durante 2 días. La CCF (sílice; acetato de etilo) mostró nuevo material polar. La eliminación del disolvente a alto vacío y después la cromatografía sobre sílice (5 g; eluyente: el 30% de hexano en acetato de etilo) dieron el producto como un sólido blanco, 68 mg (61%).

(c) Preparación del compuesto 43

Se añadió sodio (78 mg, 3,39 mmol) en porciones a etanol anhidro (2 ml). Se añadió la disolución de etóxido de sodio resultante a una disolución con agitación de la cloroquinoxalina de la parte (b) (65 mg, 169 μmol) en tetrahidrofurano anhidro (2 ml) bajo una atmósfera de argón. Se calentó la mezcla de reacción a reflujo durante varias horas, después se dejó agitar a temperatura ambiente durante la noche. Se extinguió la mezcla de reacción con disolución saturada de cloruro de amonio (1 ml), después se repartió el contenido entre agua (3 ml) y diclorometano (50 ml). Se extrajo la fase acuosa en diclorometano (50 ml), se combinaron los extractos orgánicos y se lavaron con salmuera, después se secaron (Na_2SO_4). Se adsorbió previamente el producto bruto sobre sílice, después se sometió a cromatografía sobre sílice (11 g; eluyente acetato de etilo/hexano 2:1) para dar el compuesto 43 como un sólido blanco (57 mg 86%).

Ejemplo 16

Se prepararon los compuestos n.ºs 44, 45 y 46 haciendo reaccionar 3-[4-(2-cloroetil)-1-piperidinil]-6-metil-piridazina o

ES 2 477 571 T3

2-[-1-(6-metil-3-piridazinil)-4-piperidinil]etanol con la 6-hidroxiquinoxalina apropiada siguiendo condiciones similares a las descritas en ejemplos anteriores. En la tabla 6 a continuación se registran los datos de ¹H-RMN y/o EM.

Ejemplo 17

5 Los compuestos de la invención que se indican en las tablas 1 a 5 se purificaron generalmente mediante cromatografía sobre gel de sílice y se aislaron como sólidos y se caracterizaron mediante ¹H-RMN y espectroscopía de masas. Por conveniencia, en la tabla 6 a continuación se registran los datos de RMN y EM.

10 Tabla 6

N.º de compuesto	Datos de EM (ESI)	Datos de RMN: Desplazamiento químico de protón d en ppm (CDCl ₃ a menos que se indique lo contrario)
19	415 (M+1) ⁺	1,35 (m, 1H), 1,49 (t, 3H), 1,80-1,90 (m, 6H), 2,64 (s, 3H), 2,99 (m, 2H), 3,34 (q, 2H), 4,10 (t, 2H), 4,37 (m, 2H), 6,93 (dd, 1H), 7,05 (d, 1H), 7,21 (d, 1H), 7,38 (s, 1H), 7,59 (d, 1H),
20	413 (M+1) ⁺	1,05 (t, 3H), 1,33 (m, 1H), 1,88 (m, 8H), 2,79 (s, 3H), 3,10 (m, 2H), 4,07 (t, 2H), 4,40 (m, 2H), 4,50 (t, 2H), 6,84 (dd, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,25 (d, 1H), 7,42 (d, 1H), 7,48 (m, 1H)
21	399 (M+1) ⁺	1,33 (m, 1H), 1,48 (t, 3H), 1,79 (m, 2H), 1,92 (m, 4H), 2,73 (s, 3H), 3,04 (m, 2H), 4,07 (t, 2H), 4,39 (m, 2H), 4,60 (q, 2H), 6,84 (dd, 1H), 7,22 (s, 1H), 7,25 (d, 1H), 7,36 (d, 1H), 7,48 (d, 1H)
22	No registrado	1,35 (m, 1H), 1,49 (t, 3H), 1,80-1,90 (m, 6H), 2,58 (s, 3H), 2,99 (m, 2H), 3,32 (q, 2H), 4,05 (t, 2H), 4,37 (m, 2H), 6,85 (dd, 1H), 6,95 (d, 1H), 7,1 (m, 2H), 7,35 (d, 1H),
23	No registrado	1,35 (m, 1H), 1,53 (t, 3H), 1,80-1,90 (m, 6H), 2,58 (s, 3H), 2,99 (m, 2H), 4,05 (t, 2H), 4,37 (m, 2H), 4,60 (q, 2H), 6,76 (dd, 1H), 6,95 (d, 1H), 7,0-7,1 (m, 2H), 7,15-7,25 (m, 2H),
24	412 (M+1) ⁺	1,01 (t, 3H), 1,35 (m, 3H), 1,68-1,88 (m, 6H), 2,54 (s, 3H), 2,92 (m, 2H), 3,37 (t, 2H), 4,02 (t, 2H), 4,33 (m, 2H), 6,87-6,92 (m, 2H), 7,08 (d, 1H), 7,12 (s, 1H), 7,42 (d, 1H)
25	398 (M+1) ⁺	1,31 (m, 1H), 1,39-1,42 (2x t, 3H), 1,68-1,85 (m, 6H), 2,52 (s, 3H), 2,90 (m, 2H), 3,27-3,43 (2 x q, 2H), 4,02-4,14 (m, 2H), 4,25 (m, 2H), 6,75-6,85 (m, 1-2H), 6,95-7,21 (m, 3H)
26	No registrado	0,98 (t, 3H); 1,25-1,55 (m, 3H), 1,80-1,95 (m, 6H), 2,61 (s, 3H), 2,85-3,0 (m, 4H), 4,06 (t, 2H), 4,37 (m, 2H), 6,88 (dd, 1H), 6,95-7,05 (m, 2H), 7,17 (d, 1H), 7,54 (d, 1H)
27	No registrado	1,06 (t, 3H); 1,35 (m, 1H), 1,80-1,95 (m, 8H), 2,61 (s, 3H), 2,85-3,0 (m, 4H), 4,06 (t, 2H), 4,37 (m, 2H), 6,88-6,94 (m, 2H), 7,03 (d, 1H), 7,10 (d, 1H), 7,54 (d, 1H)
28	No registrado	1,25-1,35 (m, 2H), 1,50 (t, 3H), 1,73-1,88 (m, 5H), 2,23 (s, 3H), 2,54 (s, 3H), 2,90 (t, 2H), 4,03 (t, 2H), 4,32-4,37 (m, 2H), 4,58 (q, 2H), 6,78-6,83 (m, 2H), 6,93 (fd, 1H), 7,32 (d, 1H)
29	No registrado	1,25-1,27 (m, 2H), 1,39 (t, 3H), 1,76-1,91 (m, 5H), 2,42 (s, 3H), 3,18 (t, 2H), 3,89-3,93 (m, 2H), 4,01 (t, 2H), 4,57 (q, 2H), 6,82 (dd, 1H), 6,92 (fd, 1H), 7,33 (d, 1H)
30	398 (M+1) ⁺	1,24-1,29 (m, 2H), 1,49 (t, 3H), 1,75-1,86 (m, 5H), 2,33 (s, 3H), 2,46 (s, 3H), 2,92 (t, 2H), 4,03 (t, 2H), 4,58 (q, 2H), 4,78-4,83 (m, 2H), 6,81 (dd, 1H), 6,92 (fd, 1H), 7,33 (d, 1H)
31	373 (M+1) ⁺	1,46-1,52 (m, 5H), 1,78-1,90 (m, 5H), 3,03 (t, 2H), 3,55-3,59 (m, 2H), 3,85 (s, 3H), 4,03 (t, 2H), 4,50 (q, 2H), 6,79 (dd, 1H), 6,91 (d. a., 1H), 7,32 (d, 1H)
32	No registrado	1,39-1,43 (m, 2H), 1,50 (t, 3H), 1,77-2,00 (m, 5H), 2,36 (s, 3H), 3,08-3,14 (m, 2H), 4,01 (t, 2H), 4,45-4,49 (m, 2H), 4,57 (q, 2H), 6,79 (dd, 1H), 6,91 (d. a., 1H), 6,98 (s, 1H), 7,35 (d, 1H)
33	No registrado	1,27-1,34 (m, 2H), 1,51 (s, 3H), 1,73-1,88 (m, 5H), 2,24 (s, 3H), 2,94 (t, 2H), 4,02 (t, 2H), 4,37-4,42 (m, 2H), 4,58 (q, 2H), 6,72 (s. a., 1H), 6,83 (dd, 1H), 6,91 (fd, 1H), 7,33 (d, 1H), 8,39 (s. a., 1H),
34	No registrado	1,45-1,55 (m, 5H), 1,69-1,82 (m, 4H), 2,23 (s, 3H), 2,72 (t, 2H), 3,93 (t, 2H), 4,57 (q, 2H), 5,79 (s, 1H), 6,77 (dd, 1H), 6,89 (fd, 1H), 7,31 (d, 1H)
35	383 (M+1) ⁺	1,34 (m, 1H); 1,50 (t, 3H); 1,80-1,95 (m, 6H); 2,74 (s, 3H); 3,05 (m, 2H); 4,08 (t, 2H); 4,40 (m, 2H); 4,46 (q, 2H); 6,85 (m, 2H); 7,24 (d. a., 1H); 7,37 (d. a., 1H); 7,47 (d, 1H)
36	367 (M+1) ⁺	1,34 (m, 2H), 1,43 (t, 3H), 1,82-1,94 (m, 5H), 2,74 (s, 3H), 2,96 (q, 2H), 3,05 (m, 2H), 4,10 (t, 2H), 4,40 (m, 2H), 6,89 (dd, 1H), 6,97 (fd, 1H), 7,22 (d, 1H), 7,35 (d, 1H), 7,50 (d, 1H)

ES 2 477 571 T3

39	381 (M+1) ⁺	1,03 (t, 3H), 1,35 (m, 2H), 1,81-1,94 (m, 7H), 2,69 (s, 3H), 2,90 (t, 2H), 3,03 (t, 2H), 4,10 (t, 2H), 4,36 (m, 2H), 6,89 (d. a., 1H), 6,96 (s, 1H), 7,14 (d. a., 1H), 7,29 (d. a., 1H), 7,49 (d. a., 1H)
43	No registrado	1,37 (m, 1H), 1,46 (t, 3H), 1,85-1,92 (m, 6H), 2,66 (s, 3H), 3,01 (t, 2H), 4,16 (t, 2H), 4,38 (m, 2H), 4,51 (q, 2H), 7,08 (d. a., 1H), 7,22-7,26 (m, 1H), 7,32 (m, 1H), 7,34 (fd, 1H), 7,72 (d, 1H), 8,40 (s, 1H)
44	418 (M+1) ⁺	1,37 (m, 1H), 1,86-1,96 (m, 6H), 2,74 (s, 3H), 3,06 (t, 2H), 4,19 (t, 2H), 4,41 (m, 2H), 7,22 (d. a., 1H), 7,29 (fd, 1H), 7,35 (d. a., 1H), 7,43 (dd, 1H), 7,91 (d, 1H)
45	No registrado	1,36 (m, 1H), 1,50 (2 x t, 6H), 1,80-1,94 (m, 6H), 2,68 (s, 3H), 3,02 (m, 2H), 4,13 (t, 2H), 4,38 (m, 2H), 4,59 (2 x q, 4H), 7,09 (dd, 1H), 7,11-7,15 (m, 1H), 7,15 (fd, 1H), 7,27 (d. a., 1H), 7,62 (d, 1H)
46	394 (M+1) ⁺	1,37 (m, 2H), 1,47 (t, 3H), 1,82-1,95 (m, 5H), 2,69 (s, 3H), 3,03 (m, 2H), 4,18 (t, 2H), 4,39 (m, 2H), 4,52 (q, 2H), 7,13 (d. a., 1H), 7,15 (s, 1H), 7,15-7,19 (m, 1H), 7,27 (d. a., 1H), 7,87 (d, 1H), 8,29 (s, 1H)
49	No registrado	1,46-1,57 (m, 5H), 1,73-1,85 (m, 4H), 2,25 (s, 3H), 2,73 (t, 2H), 3,99 (t, 2H), 4,45 (q, 2H), 5,80 (s, 1H), 6,81-6,84 (m, 2H), 7,43 (d, 1H)
50	No registrado	1,42-1,44 (m, 2H), 1,49 (t, 3H), 1,79-1,86 (m, 5H), 2,56 (s, 3H), 3,08-3,15 (m, 2H), 3,91-3,94 (m, 2H), 4,06 (t, 2H), 4,45 (q, 2H), 6,82-6,85 (m, 2H), 7,45 (d, 1H)
51	No registrado	1,22-1,37 (m, 2H), 1,48 (t, 3H), 1,51-1,88 (m, 3H), 2,53 (s, 3H), 2,93 (t, 2H), 4,14 (t, 2H), 4,31-4,35 (m, 2H), 4,59 (q, 2H), 6,88 (d, 1H), 7,06 (d, 1H), 7,13 (d, 1H), 7,22 (d, 1H), 8,04 (d, 1H), 8,69 (s, 1H)
52	394 (M+H) ⁺	(CD ₃ OD) 1,4 (m, 2H); 1,62 (t, 3H); 1,93 (m, 5H); 2,51 (s, 3H); 2,99 (m, 2H); 4,35 (m, 4H); 4,52 (q, 2H); 7,24 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,47 (dd, 1H); 7,64 (d, 1H); 8,19 (d, 1H) y 8,99 (s. a., 1H)
53	394 (M+H) ⁺	(CD ₃ OD) 1,3 (m, 2H); 1,62 (t, 3H); 1,93 (m, 5H); 2,51 (s, 3H); 2,99 (m, 2H); 4,32 (m, 2H); 4,38 (m, 2H); 4,52 (q, 2H); 7,23 (d, 1H); 7,31 (d, 1H); 7,47 (d, 1H); 7,58 (dd, 1H); 8,27 (d, 1H) y 8,95 (s. a., 1H)
54	No registrado	1,31-1,43 (m, 2H), 1,52 (t, 3H), 1,82-1,91 (m, 3H), 2,55 (s, 3H), 2,95 (t, 2H), 4,16 (t, 2H), 4,32-4,37 (m, 2H), 4,65 (q, 2H), 6,87-6,93 (m, 1H), 7,05-7,11 (m, 1H), 7,39 (s, 1H), 7,45 (d, 1H), 7,84 (d, 1H), 8,67 (s, 1H)
55	No registrado	1,29-1,33 (m, 2H), 1,42-1,53 (m, 6H), 1,78-1,89 (m, 5H), 2,52 (s, 3H), 2,93 (t, 2H), 4,08-4,14 (m, 2H), 4,31-4,35 (m, 2H), 4,44 (q, 2H), 4,63 (q, 2H), 6,89 (d, 1H), 7,06 (d, 1H), 7,32-7,37 (m, 2H), 7,58 (d, 1H)
56	384 (M+1) ⁺	1,34-1,38 (m, 2H), 1,36 (t, 3H), 1,79-1,89 (m, 5H), 2,59 (s, 3H), 2,96 (dt, 2H), 4,02 (q, 2H), 4,08 (t, 2H), 4,36 (m, 2H), 6,64 (fd, 1H), 6,81 (dd, 1H), 6,98 (d. a., 1H), 7,15 (d. a., 1H), 7,67 (d, 1H)
57	397 (M+1) ⁺	0,98 (t, 3H), 1,35 (m, 2H), 1,78-1,96 (m, 7H), 2,78 (s, 3H), 3,08 (t, 2H), 3,95 (t, 2H), 4,09 (t, 2H), 4,41 (m, 2H), 6,64 (fd, 1H), 6,81 (dd, 1H), 7,50 (d. a., 1H), 7,41 (d. a., 1H), 7,69 (d, 1H)
58	No registrado	0,96 (t, 3H), 1,4 (m, 3H), 1,68-1,88 (m, 6H), 2,11 (q, 2H), 2,52 (s, 3H), 2,92 (m, 2H), 4,06 (t, 2H), 4,33 (m, 2H), 4,60 (t, 2H), 6,86 (d, 1H), 7,0-7,1 (m, 3H), 7,08 (d, 1H), 7,70 (d, 1H)

Ejemplo 15

Actividad anti-RVH en ensayos de cultivo de células de mamífero

5

Inhibición del efecto citopático viral (CPE) y medición de la citotoxicidad

Se midió la capacidad de compuestos para suprimir la replicación del virus, y así proteger las células frente a CPE inducido por RVH, usando células de pulmón embrionario humanas (MRC-5) infectadas con RVH tipo 1A. Se usaron células, que se hicieron crecer en placas de cultivo tisular de 96 pocillos usando medio de cultivo de tejido de mamífero convencional (tal como medio mínimo esencial) complementado con suero de ternero fetal, en un ensayo esencialmente similar al descrito por Sidwell y Huffman (Applied Microbiology, 22, 797-801 (1971)). Se disolvieron compuestos de prueba en dimetilsulfóxido anhidro al 100% y se diluyeron en serie en medio de cultivo tisular. Se evaluó la potencia antiviral de los compuestos de prueba exponiendo pocillos de cultivo tisular repetidos a una serie de dilución seleccionada de entre 6 y 7 concentraciones de compuesto en presencia de virus de prueba suficiente para provocar un CPE significativo a lo largo del transcurso del ensayo. También se expusieron células control a

10

15

concentraciones idénticas de compuestos en ausencia de virus o se infectaron con virus en las mismas condiciones pero en ausencia de compuestos. Se sometieron a ensayo compuestos con eficacia anti-RVH establecida (enviroxima, ribavirina y pirodavir) mediante procedimientos idénticos en paralelo a los compuestos de prueba. Se complementaron medios de cultivo tisular de manera idéntica para mantener la viabilidad celular y soportar el crecimiento viral mientras se suprimía el crecimiento bacteriano a lo largo del periodo del ensayo (complementos: suero de ternero fetal al 2%, bicarbonato de sodio al 0,01%, gentamicina 50 µg/ml, cloruro de magnesio 5 µM, 10 mM de cloruro de zinc). Se incubaron los ensayos a 37°C en una atmósfera de CO₂ al 5% hasta que se observó un CPE significativo mediante exploración con microscopio de las células control infectadas por RVH, no tratadas (generalmente entre 5 y 8 días). En este momento, se examinaron visualmente todos los cultivos infectados usando un microscopio óptico y se puntuó el CPE en una escala de 0 (sin CPE) a 4 (CPE máximo). Se puntuaron de manera similar los cultivos tratados, no infectados, para determinar efectos citotóxicos (por ejemplo, aumento de tamaño de las células, granularidad, redondeo, desprendimiento). Se usaron estas puntuaciones para generar valores de CE₅₀ (concentración del compuesto que proporciona el 50% de la eficacia antiviral) y CC₅₀ (concentración del compuesto que proporciona el 50% de citotoxicidad) mediante análisis de regresión lineal a partir de representaciones gráficas de la concentración del compuesto frente al % de CPE o el % de citotoxicidad, respectivamente. Como alternativa a un valor de CC₅₀, en algunos casos se expresó la citotoxicidad como la concentración tóxica mínima (MTC). La MTC corresponde a la menor concentración del compuesto a la que se observaron efectos citotóxicos.

En algunos casos el sistema de puntuación visual descrito anteriormente se validó mediante tinción con colorante vital para medir la viabilidad celular. La técnica de colorante vital usada fue una modificación del método descrito por McManus (Appl. Environment. Microbiol., 31, 35-38, 1976). Tras haber puntuado el ensayo visualmente con ayuda de un microscopio, se añadieron 100 µl de disolución de rojo neutro (NR) (NR al 0,34% en solución salina tamponada con fosfato (PBS)) a cada pocillo y se mezcló suavemente. Se devolvieron los ensayos a la incubadora a 37°C durante 2 horas para facilitar la captación del NR por las células viables. Entonces se aspiró la mezcla de medio/NR de la superficie de las células, que se lavaron dos veces con PBS. Se añadieron 0,25 ml de etanol absoluto que contenía tampón citrato I de Sorensen con mezclado suave y se incubaron los ensayos a temperatura ambiente en la oscuridad durante 30 minutos para disolver el NR. Entonces se cuantificó la tinción con NR de células viables mediante espectrofotometría midiendo la densidad de color de la disolución de NR usando un lector de microplacas BioTek EL-309 a longitudes de onda dobles de 540 y 405 nm. Se determinaron automáticamente las diferencias en las dos lecturas para eliminar errores de fondo. Se determinaron valores de CE₅₀ y CC₅₀ mediante análisis de regresión haciendo corresponder la concentración del compuesto con la tinción con NR.

En las tablas 7 y 8 a continuación se muestran los resultados. Los índices de selectividad (IS) son la CC₅₀ o la MTC dividida entre la CE₅₀. Las tablas 7 y 8 también muestran datos de CI₅₀ para las pruebas de los compuestos de la invención frente a las cepas de RVH 2 y 14. Estos resultados se obtuvieron usando un método de CPE similar al descrito anteriormente para HRV1A.

Tabla 7

Compuesto n.º	CI ₅₀ (µg/ml)		CI ₅₀ (µg/ml)	
	HRV1A	CC ₅₀	HRV2	HRV14
1	0,179	>1	>0,50	>0,50
2	0,120	>1	>0,50	>0,50
3	0,060	>1	0,144	0,130
4	0,006	>1	0,099	0,047
5			0,003	0,007
9			0,061	0,056
10			0,065	0,056

Tabla 8

Compuesto n.º	CI ₅₀ (µg/ml)	
	HRV2	HRV14
16	0,10	0,169
19	0,165	0,049
20	0,166	0,041
21	0,104	0,014
22	0,004	0,050

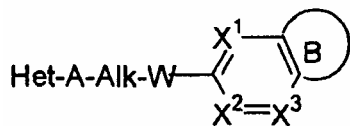
23	0,045	-
24	0,131	>0,250
26	0,130	0,082
27	0,075	0,028
28	0,101	0,040
30	>0,250	0,198
31	0,237	>0,250
32	0,012	0,039
33	0,167	0,166
34	0,209	0,118
35	0,001	0,005
36	0,024	0,088
39	0,084	0,013
43	0,012	0,012
46	0,084	0,013
49	0,035	0,012
50	0,007	0,005
51	0,027	0,120
52	0,190	0,200
56	0,246	>0,250
57	0,133	0,237
58	0,032	0,139

5 A lo largo de esta memoria descriptiva y las siguientes reivindicaciones, a menos que el contexto requiera lo contrario, se entenderá que la palabra “comprender”, y variaciones tales como “comprende” y “que comprende”, implican la inclusión de un número entero o etapa mencionado o grupo de números enteros o etapas, pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas.

10 Los expertos en la técnica apreciarán que la invención descrita en el presente documento es susceptible de variaciones y modificaciones distintas de las descritas específicamente. Debe entenderse que la invención incluye todas de tales variaciones y modificaciones. La invención también incluye todas las etapas, características, composiciones y compuestos a los que se hace referencia o indicados en esta memoria descriptiva, de manera individual o colectiva, y todas y cada una de las combinaciones de dos o más cualesquiera de dichas etapas o características.

REIVINDICACIONES

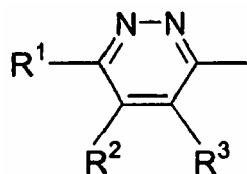
1. Compuesto de fórmula I



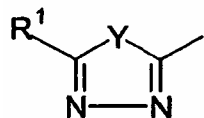
I

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable del mismo, en la que:

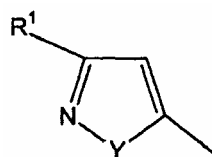
Het es un radical seleccionado de (a-1), (a-2) o (a-8):



(a-1)



(a-2)



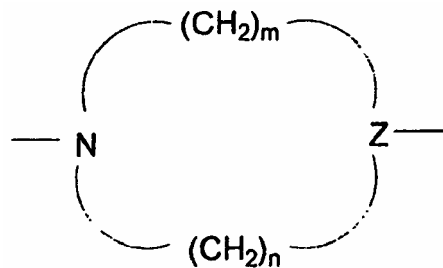
(a-8)

en los que R¹ es hidrógeno, metilo, etilo, cloro, metoxilo o trifluorometilo;

R² y R³ se seleccionan cada uno independientemente de hidrógeno, cloro o metilo; e

Y es O o S;

A es un radical heterocíclico bivalente de la fórmula (b-1):



(b-1)

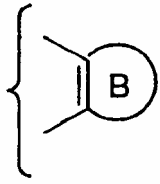
en la que uno o más de los átomos de carbono dentro del radical (b-1) pueden estar opcionalmente sustituidos con alquilo C₁₋₆ o dos átomos de carbono en el radical (b-1) pueden estar unidos por puente con un radical alquileo C₂₋₄, m y n son cada uno independientemente números enteros de 1 a 4 inclusive con la condición de que la suma de m y n en el radical (b-1) sea 3, 4 ó 5; y

Z es CH o N;

Alk es alquileo C₁₋₇;

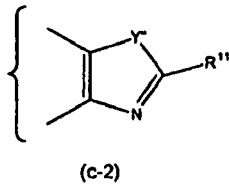
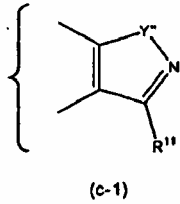
W es O;

X¹, X² y X³ son CH; y



se selecciona de (c-1) o (c-2):

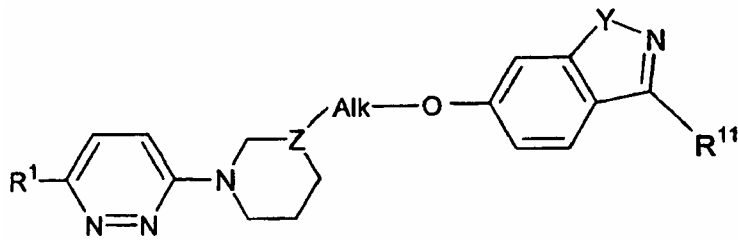
5



en los que Y'' es O, S o NR⁹ en los que R⁹ es hidrógeno o alquilo C₁₋₆; y

10 R¹¹ es R¹⁰, OR¹⁰, SR¹⁰ o NR⁹R¹⁰, en los que R¹⁰ es alquilo C₁₋₆, haloalquilo C₁₋₆, alqueno C₂₋₆, haloalqueno C₂₋₆, alquino C₂₋₆ o haloalquino C₂₋₆.

2. Compuesto según la reivindicación 1 de fórmula V:



15

V

en la que:

R¹ y Z son tal como se definen en la reivindicación 1;

20

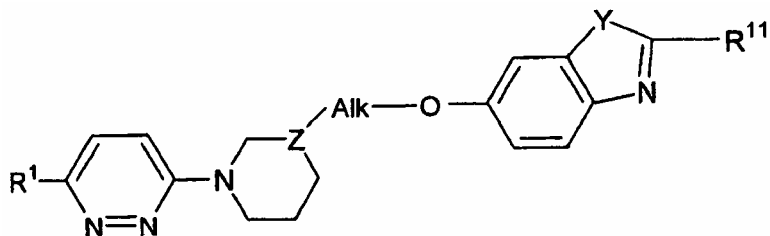
Y es O, S, NH o NMe;

Alk es alqueno C₁₋₆; y

25

R¹¹ es OR¹⁰ o SR¹⁰, en los que R¹⁰ es alquilo C₁₋₄.

3. Compuesto según la reivindicación 1 de fórmula VI:



30

VI

en la que:

R¹ y Z son tal como se definen en la reivindicación 1;

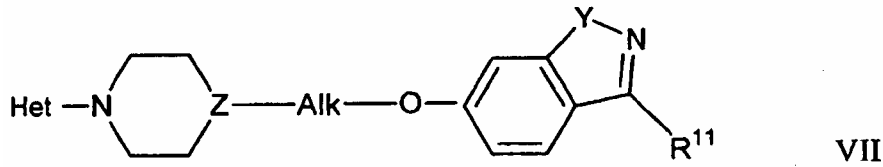
35

Y es O, S, NH o NMe;

Alk es alqueno C₁₋₆; y

R¹¹ es OR¹⁰ o SR¹⁰, en los que R¹⁰ es alquilo C₁₋₄.

4. Compuesto según la reivindicación 1 de fórmula VII:



en la que:

Het y Z son tal como se definen en la reivindicación 1;

10

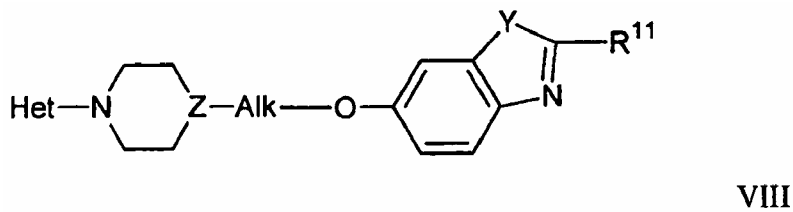
Y es O, S, NH o NMe;

Alk es alquileno C₁₋₆; y

15

R¹¹ es OR¹⁰ o SR¹⁰ en los que R¹⁰ es alquilo C₁₋₄.

5. Compuesto según la reivindicación 1 de fórmula VIII:



20

en la que:

Het y Z son tal como se definen en la reivindicación 1;

25

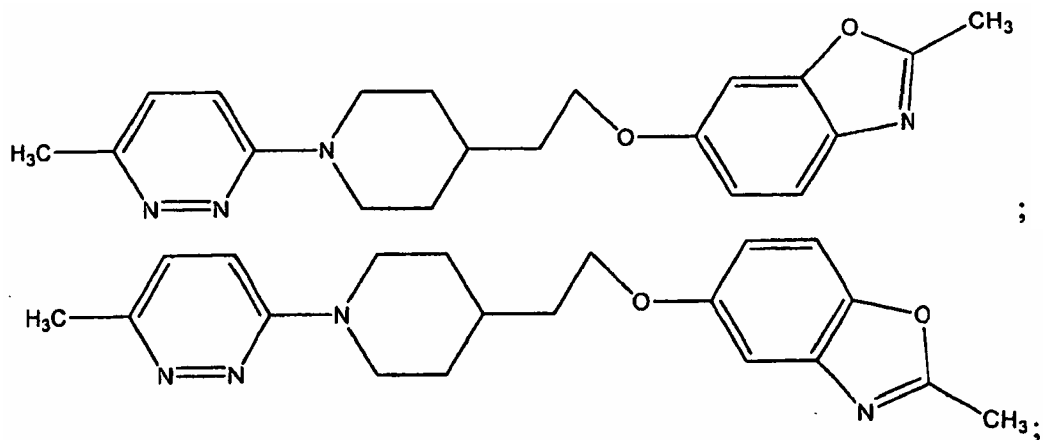
Y es O, S, NH o NMe;

Alk es alquileno C₁₋₆; y

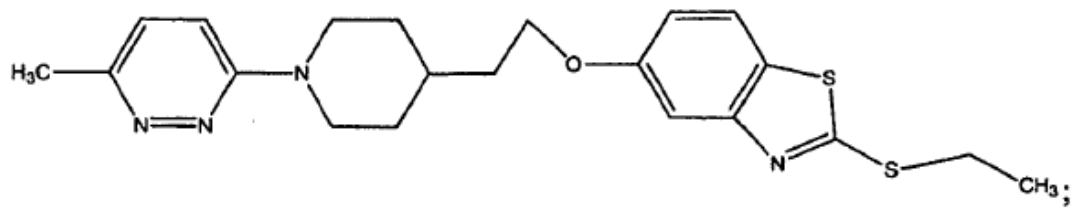
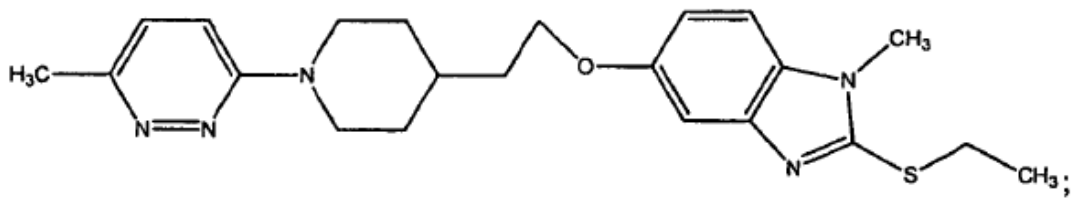
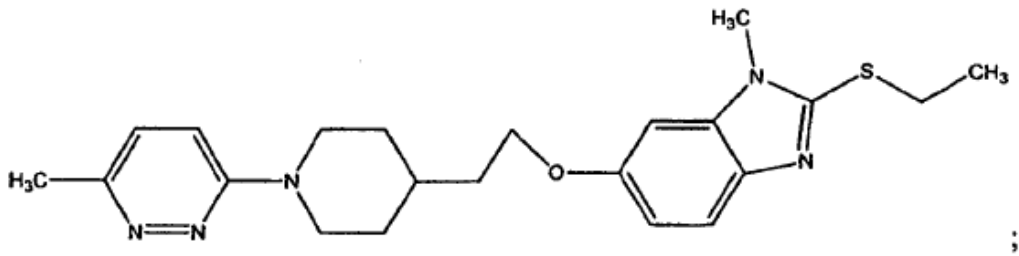
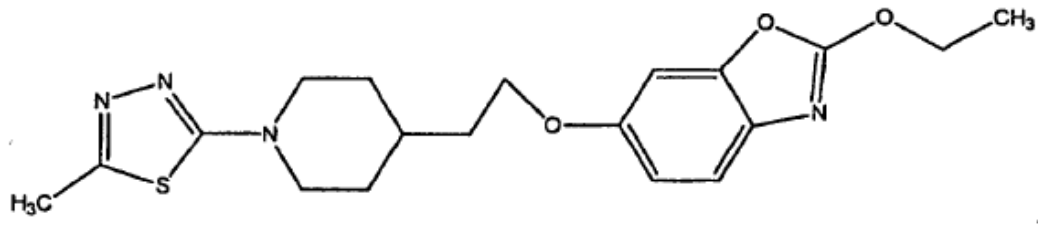
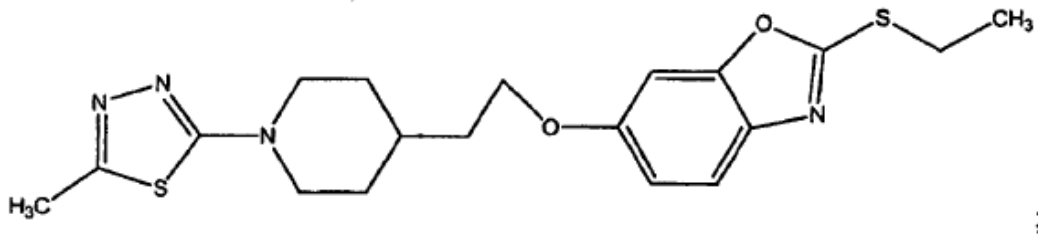
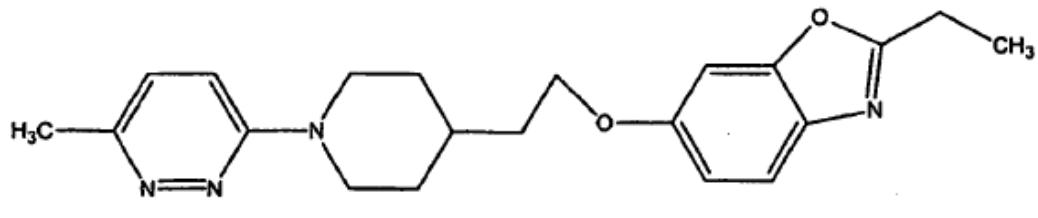
30

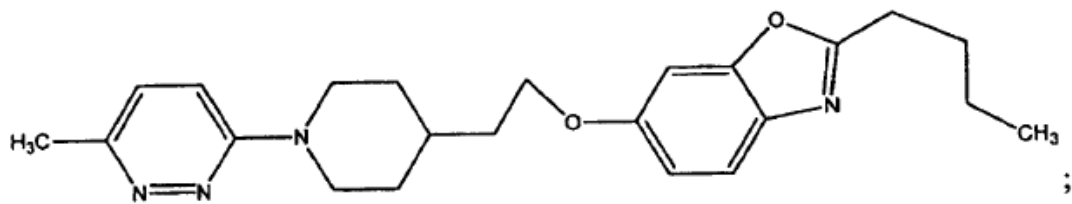
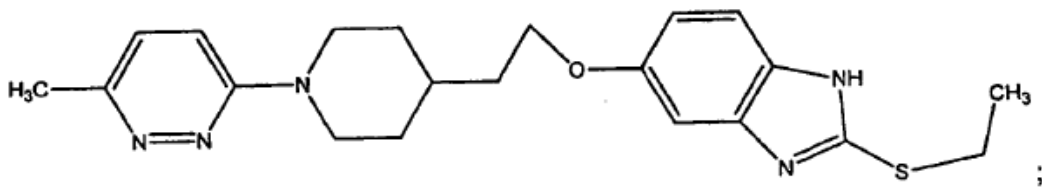
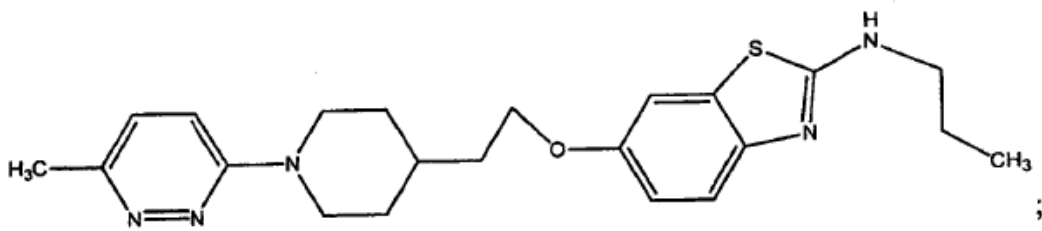
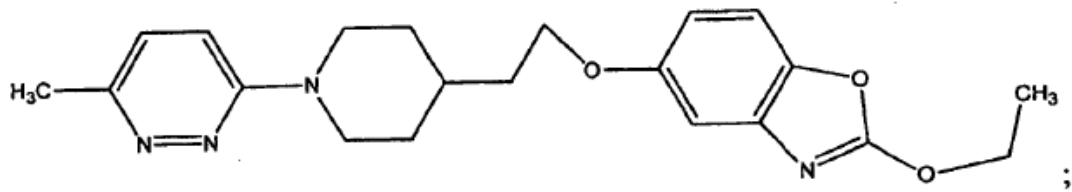
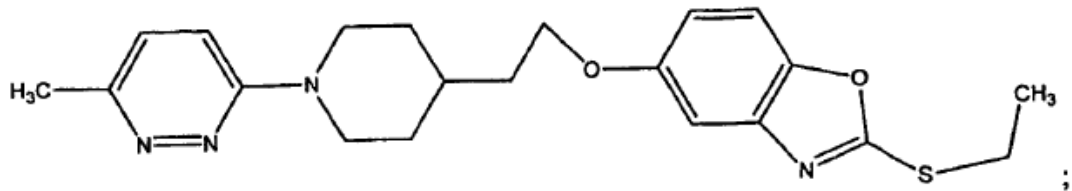
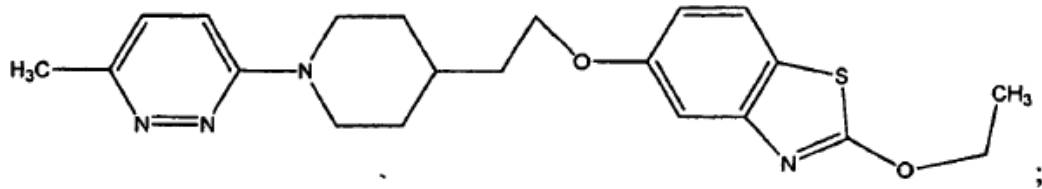
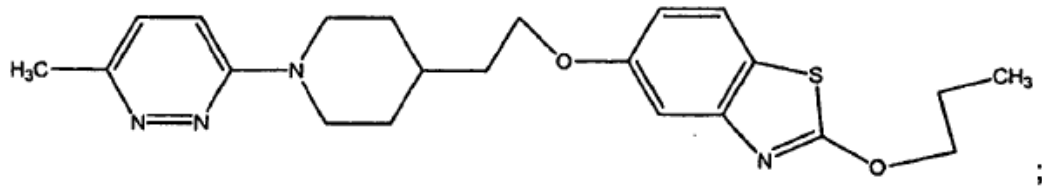
R¹¹ es OR¹⁰ o SR¹⁰, en los que R¹⁰ es alquilo C₁₋₄.

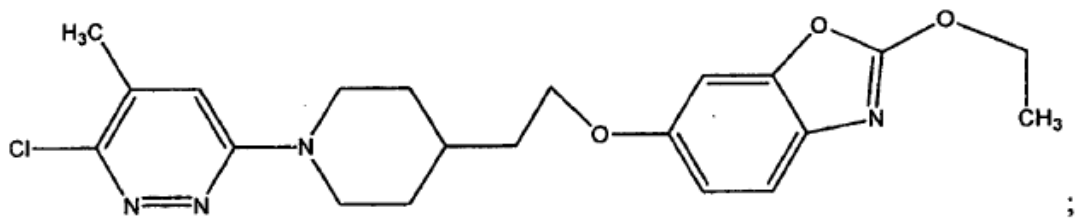
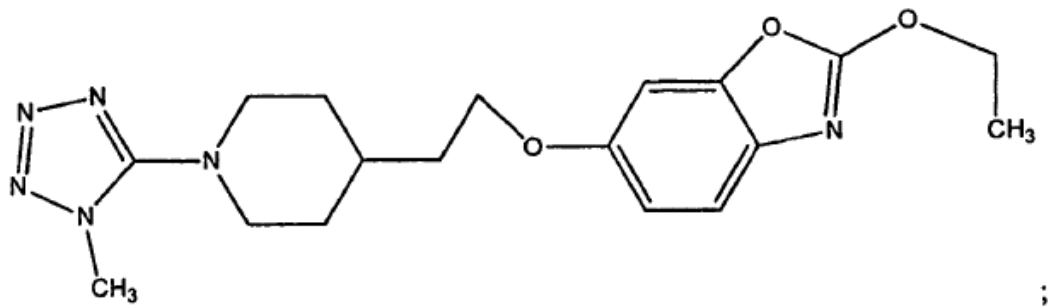
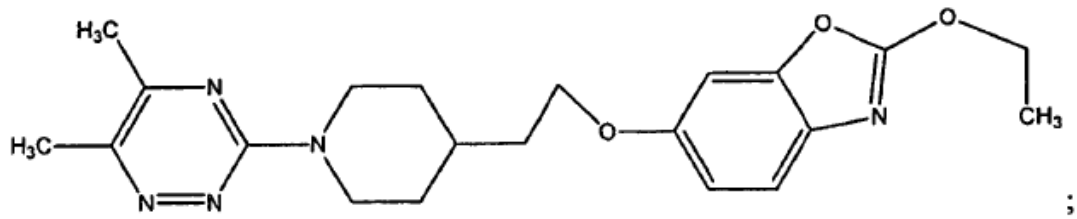
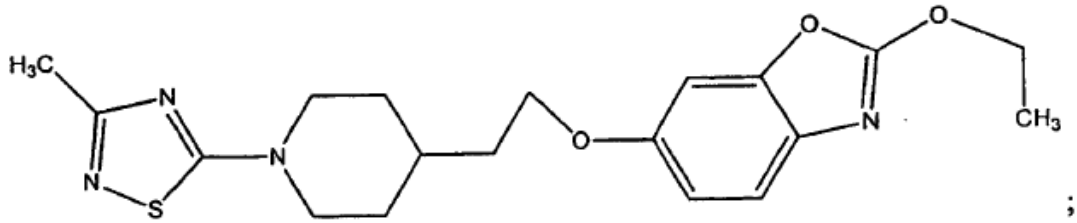
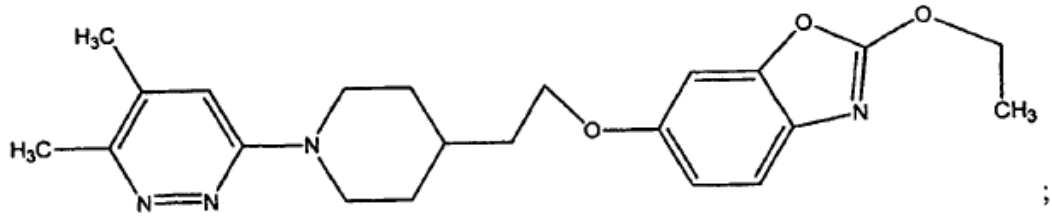
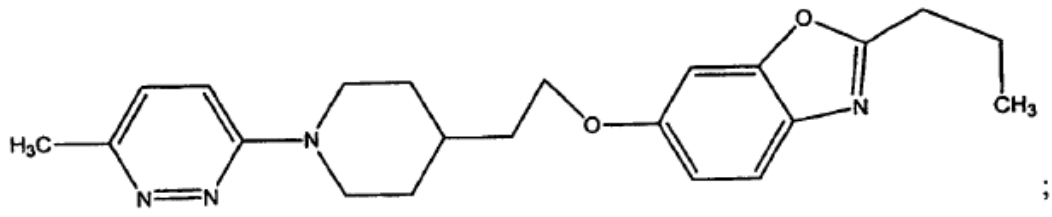
6. Compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

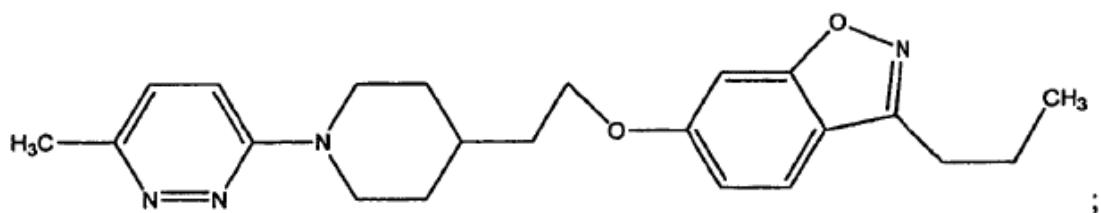
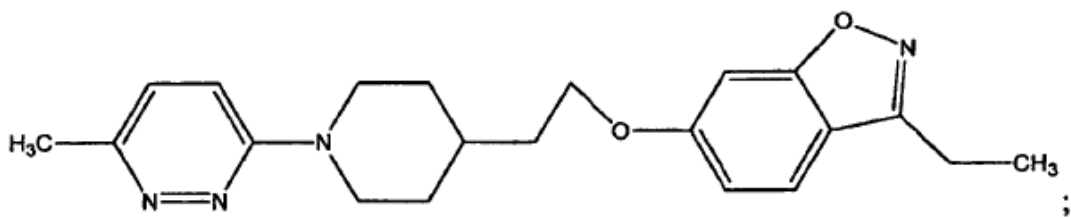
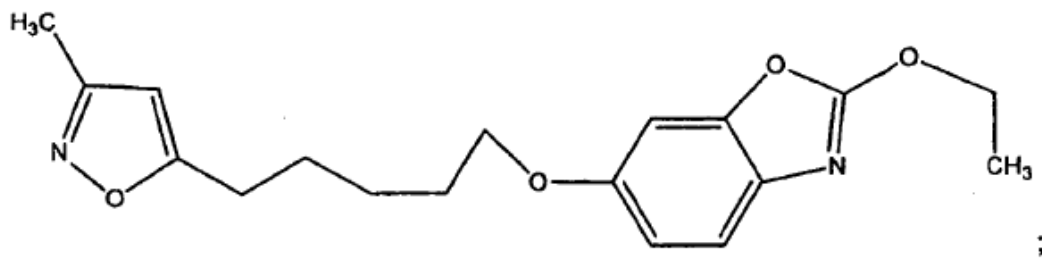
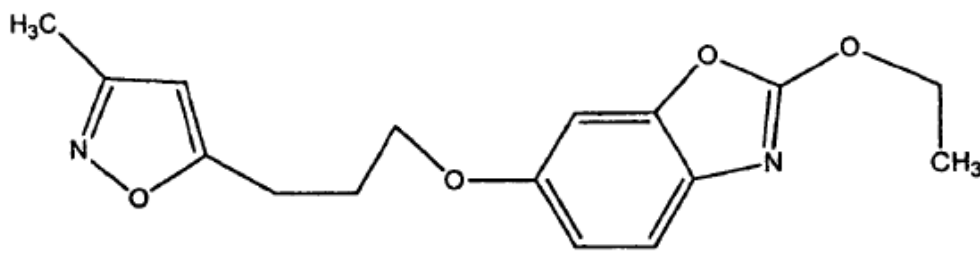
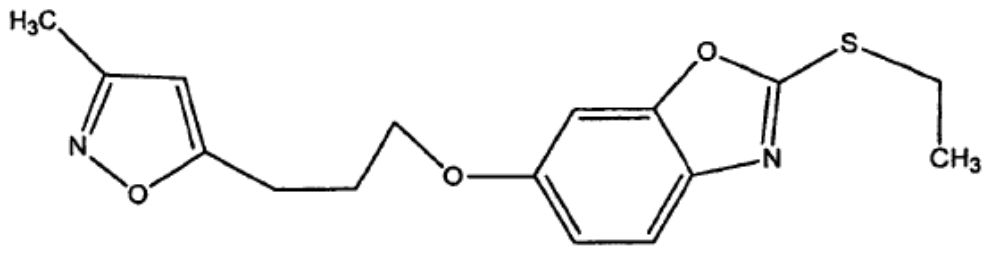
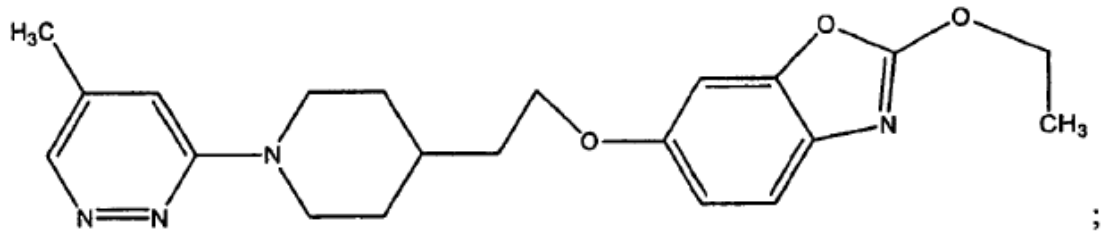


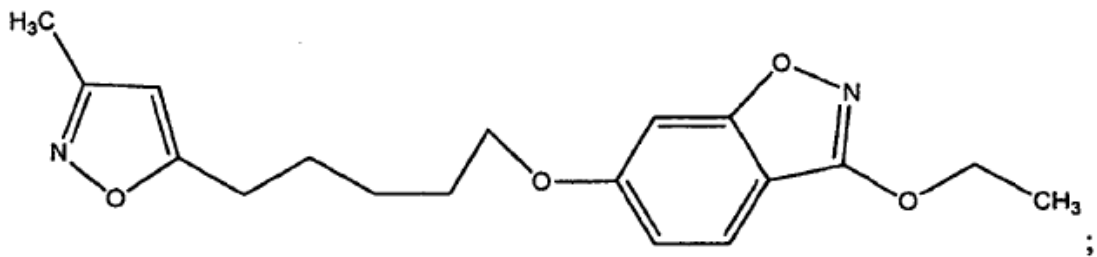
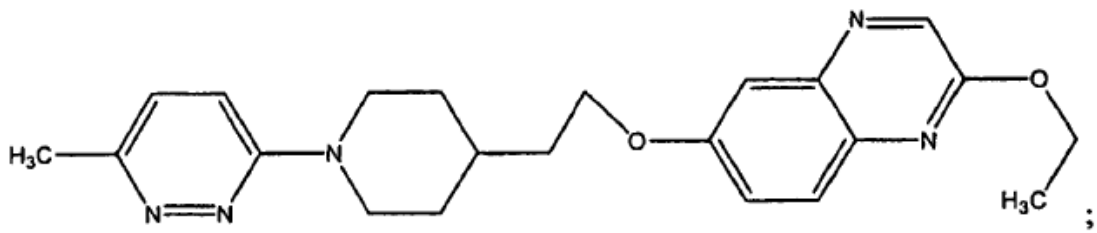
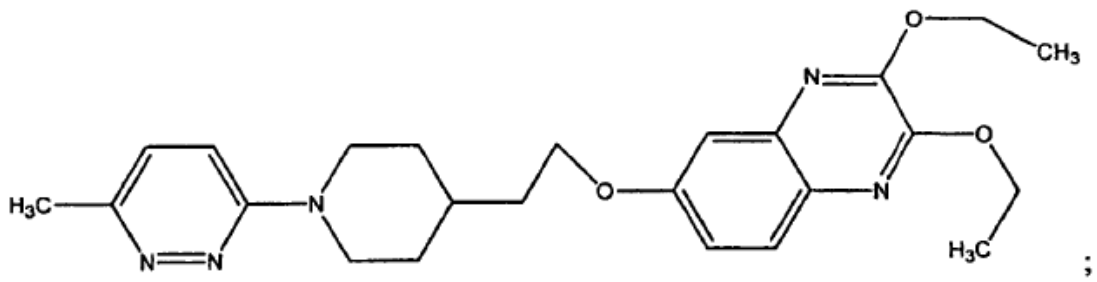
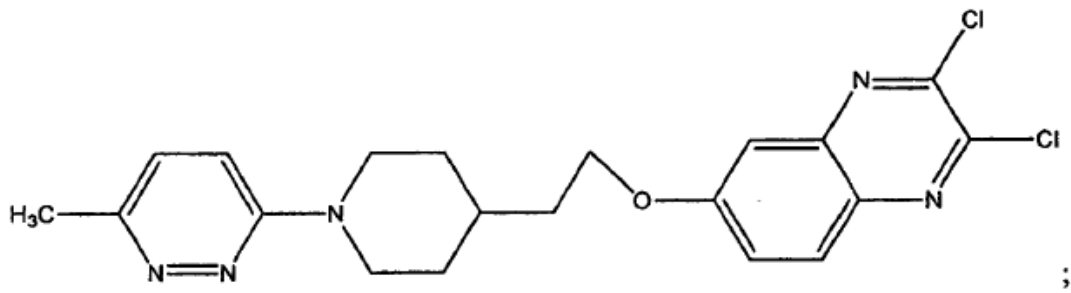
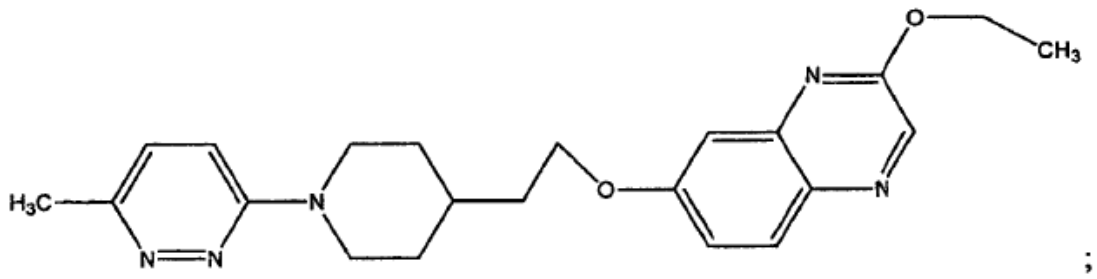
35

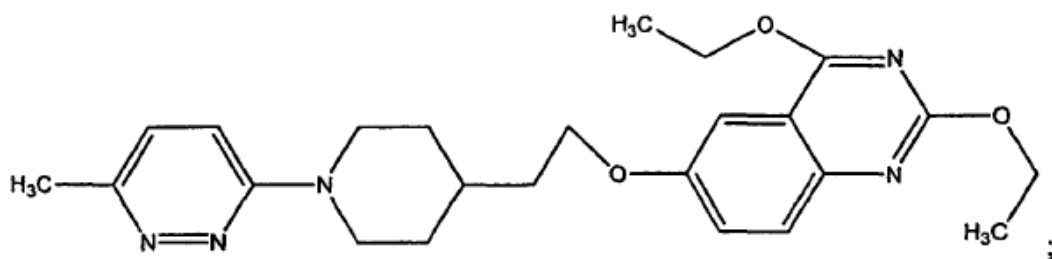
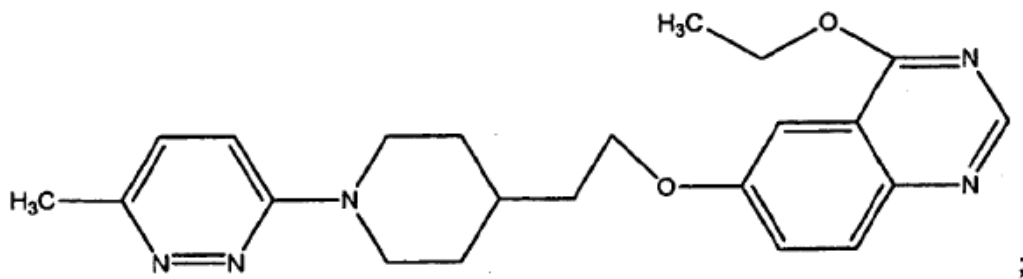
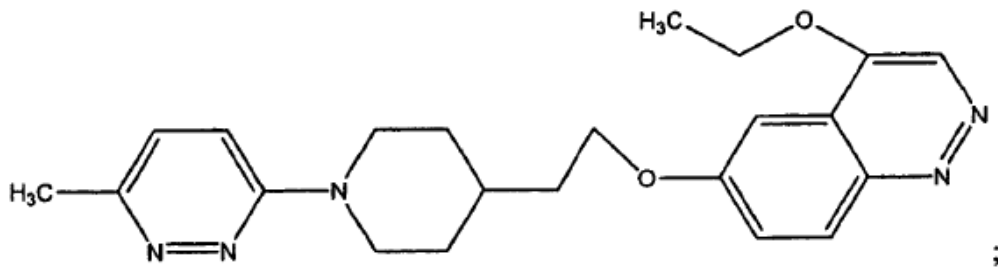
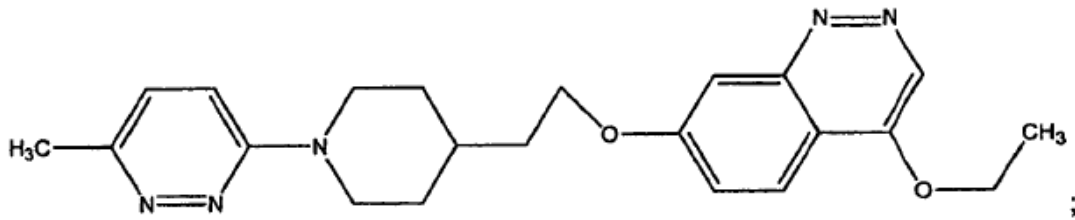
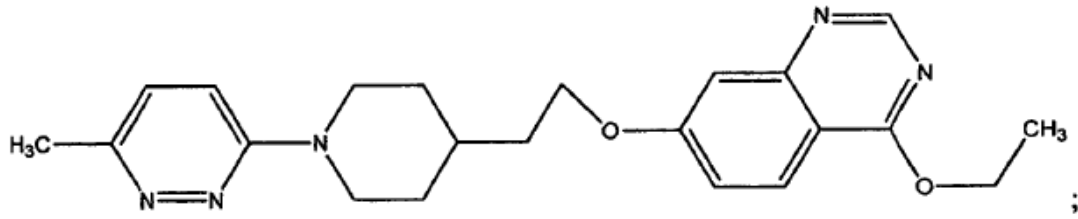
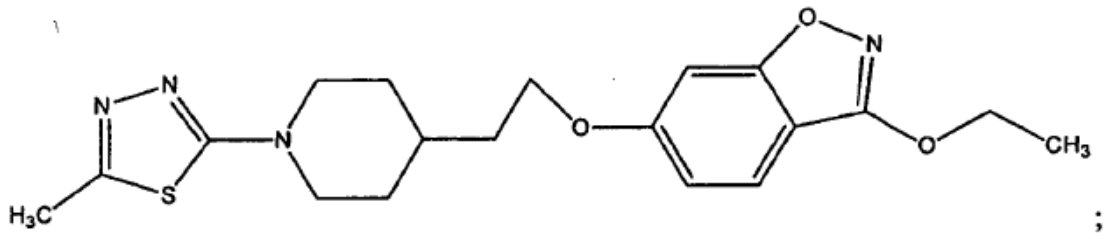


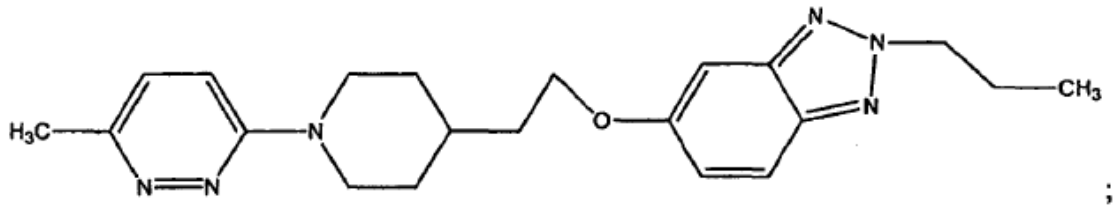
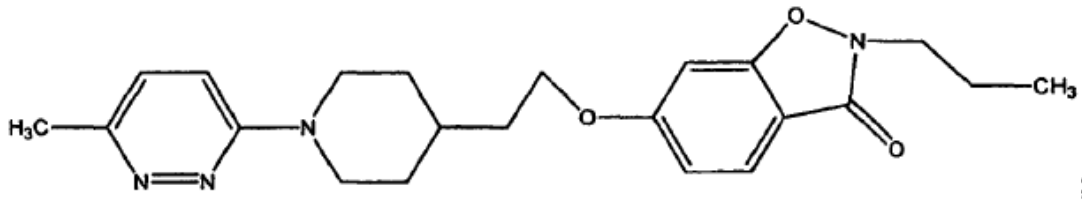
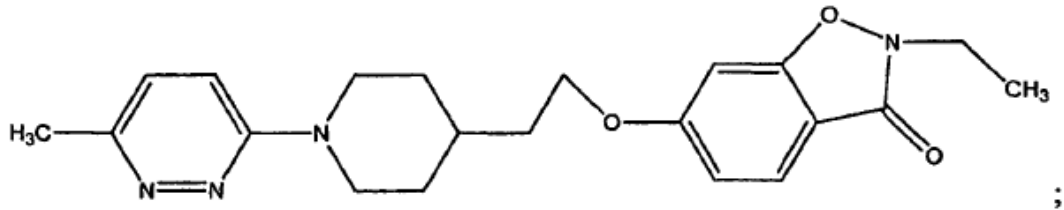








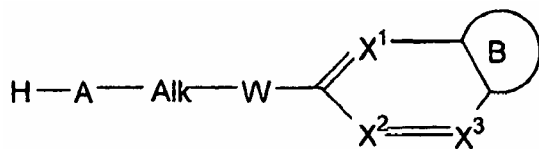




o una sal o derivado farmacéuticamente aceptable de cualquiera de los mismos.

5

7. Compuesto de fórmula XI:



XI

10 en la que A, Alk, W, Ar, X¹, X², X³ y B son tal como se definen en la reivindicación 1.

8. Composición que comprende un compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo junto con un portador farmacéuticamente aceptable.

15 9. Compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo para su uso como medicamento.

10. Compuesto de fórmula I según la reivindicación 1, sus sales o solvatos farmacéuticamente aceptables del mismo para su uso en el tratamiento o la profilaxis de una infección por picornavirus en un mamífero.

20

11. Compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que la infección por picornavirus está provocada por uno o más serotipos de rinovirus

25 12. Compuesto para su uso según la reivindicación 10, en el que la infección por picornavirus es una infección por rinovirus humano (RVH).