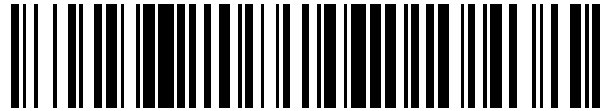


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 534 199**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/505** (2006.01)  
**C07D 401/12** (2006.01)  
**C07D 401/14** (2006.01)  
**C07D 413/12** (2006.01)  
**C07D 413/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **21.10.2009 E 09824018 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.02.2015 EP 2358371**

54 Título: **Antagonistas del receptor P2X<sub>3</sub> para el tratamiento del dolor**

30 Prioridad:

**31.10.2008 US 197869 P**  
**21.07.2009 US 227285 P**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**20.04.2015**

73 Titular/es:

**MERCK SHARP & DOHME CORP. (100.0%)**  
**126 East Lincoln Avenue**  
**Rahway, NJ 07065-0907, US**

72 Inventor/es:

**BURGEY, CHRISTOPHER S.;**  
**DENG, ZHENGWU J.;**  
**NGUYEN, DIEM N.;**  
**PAONE, DANIEL V.;**  
**SHAW, ANTHONY W. y**  
**GINETTI, ANTHONY**

74 Agente/Representante:

**VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro**

**ES 2 534 199 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

Antagonistas del receptor P2X<sub>3</sub> para el tratamiento del dolor

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere generalmente a compuestos que actúan como moduladores, por ejemplo antagonistas del receptor P2X<sub>3</sub>, a composiciones y a usos terapéuticos de los mismos.

10 **Antecedentes de la invención**

Se ha implicado a las purinas, que actúan a través del purinoreceptor extracelular, en la posesión de diversos papeles fisiológicos y patológicos. (Véase Burnstock (1993) *Drug Dev. Res.* 28:195-206.) Generalmente se han clasificado los purinoreceptores (P2) como receptores de nucleótidos metabotrópicos o receptores ionotrópicos para nucleótidos extracelulares. Se cree que los receptores de nucleótidos metabotrópicos (normalmente designados P2Y o P2Y<sub>(n)</sub>, en el que "n" es un número entero subíndice que indica el subtipo), difieren de los receptores ionotrópicos (normalmente designados P2Y o P2Y<sub>(n)</sub>, en cuanto a que se basan en un medio fundamental diferente de transducción de señal transmembrana. Los receptores P2Y funcionan a través de un sistema acoplado a proteína G, mientras que los receptores P2X sin canales iónicos dependientes de ligando.

Hasta la fecha se han identificado al menos siete receptores P2X y las secuencias de ADNc que los codifica. El ADNc de P2X<sub>1</sub> se clonó a partir de músculo liso del conducto deferente de rata (Valera et al. (1994) *Nature* 371:516-519) y el ADNc de P2X<sub>2</sub> se clonó a partir de células PC 12 (Brake et al. (1994) *Nature* 371:519-523). En bibliotecas de ADNc se han descubierto otros cinco receptores P2X en virtud de su similitud de secuencia a P2X<sub>1</sub> y P2X<sub>2</sub> - P2X<sub>3</sub>: Lewis et al. (1995) *Nature* 377:432-435, Chen et al. (1995) *Nature* 377:428-431; P2X<sub>4</sub>: Buell et al. (1996) *EMBO J.* 15:55-62, Seguela et al. (1996) *J. Neurosci.* 16:448-455, Bo et al. (1995) *FEBS Lett.* 375:129-133, Soto et al. (1996) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93:3684-3688, Wang et al. (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 220:196-202; P2X<sub>5</sub>: Collo et al. (1996) *J. Neurosci.* 16:2495-2507, Garcia-Guzman et al. (1996) *FEBS Lett.* 388:123-127; P2X<sub>6</sub>: Collo et al. (1996), citado anteriormente, Soto et al. (1996) *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 223:456-460; P2X<sub>7</sub>: Surprenant et al. (1996) *Science* 272:735-738). Para una comparación de las secuencias de aminoácidos del receptor P2X de rata véase Buell et al. (1996) *Eur. J. Neurosci.* 8:2221-2228.

Se sabe que los receptores purinérgicos, en particular los receptores P2X, funcionan como canales iónicos homomultiméricos permeables a cationes y, en algunos casos, como canales heteroméricos que consisten en dos subtipos de receptores P2X diferentes (Lewis et al., *Nature* 377:432-435 (1995); Le et al., *J. Neurosci.* 18:7152-7159 (1998); Torres et al., *Mol. Pharmacol.* 54:989-993 (1998)). Las subunidades de P2X<sub>2</sub> y P2X<sub>3</sub> forman canales funcionales cuando se expresan solos y también pueden formar un canal heteromultimérico funcional que tiene propiedades similares a las corrientes que se ven en los canales sensoriales nativos cuando se coexpresan. Al menos un par de subtipos del receptor P2X, P2X<sub>2</sub> and P2X<sub>3</sub>, funciona como canal heteromérico en neuronas ganglionares nodosas de rata donde exhibe diferentes propiedades farmacológicas y electrofisiológicas (Lewis et al., citado anteriormente (1995)).

Se sabe que los receptores P2X nativos forman canales catiónicos no selectivos que se activan rápidamente tras activación con ATP. Los canales formados por los receptores P2X generalmente tienen una elevada permeabilidad al Ca<sup>2+</sup> (P<sub>(Ca)</sub> / P<sub>(Na)</sub>). Con respecto a los receptores individuales, el receptor purinérgico P2X<sub>3</sub> es un canal catiónico dependiente de ligando que es permeable selectivamente a cationes pequeños. Los ligandos conocidos para los receptores P2X incluyen nucleótidos naturales, por ejemplo ATP, UTP, UDP, o nucleótidos sintéticos, por ejemplo 2-metiltilioATP. El ATP, además de su función como donante de energía intracelular, ahora se reconoce como un importante neurotransmisor o cotransmisor, tanto en el sistema nervioso central como en el periférico (Ralevic, V., et al., *Pharmacol. Rev.*, 50:413-492 (1998)). Se libera de diversos tipos de células, incluidas fibras nerviosas, tras la estimulación y produce diversos efectos sobre muchos tejidos mediante la activación de receptores de membrana específicos, incluyendo los purinoreceptores (receptor P2) (véase Burnstock, G., *Pharmacol. Rev.*, 24:509-581 (1972); Burnstock, G., *Cell Membrane Receptor for Drugs and Hormones: A Multidisciplinary Approach*, editado por R. W. Straub y L. Bolid. New York: Raven, 1978, p. 107-118). Con respecto al receptor purinérgico P2X, los datos sugieren que el ATP es capaz de activar los receptores homodiméricos P2X<sub>3</sub> y los receptores heteroméricos P2X<sub>2</sub> /P2X<sub>3</sub>, en los que funciona como un neurotransmisor excitatorio en el asta posterior de la médula espinal y en los aferentes primarios de los ganglios sensoriales. In vitro, es necesaria la coexpresión de las subunidades de los receptores P2X<sub>2</sub> y P2X<sub>3</sub> para producir corrientes dependientes de ATP con las propiedades vistas en algunas neuronas sensoriales. Véase Lewis, et al. (1995) *Nature* 377:432-435.

El ATP, y en menor medida, la adenosina, puede estimular las terminales nerviosas sensoriales que tienen como resultado dolor intenso y un incremento pronunciado en la descarga de los nervios sensoriales. De acuerdo con los datos disponibles, el ATP liberado de las células dañadas puede evocar dolor activando los receptores homodiméricos P2X<sub>3</sub> o los receptores heteroméricos expresados sobre los terminales nerviosos nociceptivos de los nervios sensoriales. Esto es consistente con los informes de la inducción del dolor mediante ATP aplicado intradérmicamente en el modelo basado en ampollas humanas; la identificación del receptor que contiene P2X<sub>3</sub> sobre las neuronas

nociceptivas en la pulpa dental; y con informes de que los antagonistas de P2X son analgésicos en modelos animales. Hasta la fecha, los datos de investigación sugieren que el mecanismo por el cual la activación inducida por ATP de los receptores purinérgicos P2X sobre los terminales nerviosos ganglionares de la raíz dorsal en la médula espinal y sobre las neuronas en el cerebro tiene como resultado la sensación del dolor es mediante la estimulación de la liberación de glutamato, un neurotransmisor clave implicado en la señalización nociceptiva.

Recientemente también se ha demostrado que la alteración del gen del receptor P2X<sub>3</sub> tiene como resultado una disminución de la sensibilidad a estímulos químicos nocivos y un dolor reducido. Los efectos nociceptivos del ATP administrado de forma exógena y los agonistas del receptor que contiene P2X también se han demostrado en animales de laboratorio. Véase Bland-Ward et al., *Dr. J. Pharmacol.* 122:366-371 (1997); Hamilton et al., *Br. J. Pharmacol.* 126:326-332 (1999). Las acciones nociceptivas periféricas de la activación de P2X y estimulación del receptor que contiene P2X espinal también contribuyen a la nocicepción, como indica la capacidad de los agonistas del receptor P2 administrados por vía intratecal (i.t.) para aumentar la sensibilidad a estímulos nocivos agudos y persistentes en roedores. Véase Driessen et al., *Brain Res.* 666:182-188 (1994); Tsuda et al., *Br. J. Pharmacol.* 127:449-4S6 (1999); Tsuda et al., *Br. J. Pharmacol.* 128:1497-1504 (1999). Recientemente, en ratas tras un daño neural por constricción crónica también se ha notificado un incremento mediado por el receptor selectivo P2 en la excitabilidad neuronal ectópica que se localiza en los aferentes sensoriales dañados. Véase Chen et al., *NeuroReport* 10:2779-2782 (1999). Este papel en la transmisión del dolor es consistente con la observación de que la expresión del receptor P2X<sub>3</sub> de rata se encuentra principalmente en una subpoblación de neuronas de los ganglios sensoriales, que están implicadas en la transmisión del dolor. Véase Chen et al., *Nature* 377:428-430 (1995); Vulchanova et al., *Neuropharmacol.* 36:1229-1242 (1997). Véanse también los documentos US20080004442, US200700409609, WO2007041087, WO2006119504, WO200112627, WO2007001973 y WO2007010553.

En conjunto, la localización funcional e inmunohistoquímica de los receptores que contienen P2X<sub>3</sub> (P2X<sub>3</sub> y/o P2X<sub>2/3</sub>) sobre los nervios sensoriales indica que estos receptores P2X tienen un papel fundamental en la participación de los efectos nociceptivos del ATP. Por tanto, los compuestos que bloquean o inhiben la activación de los receptores P2X<sub>3</sub> sirven para bloquear el estímulo de dolor. Además, los antagonistas del receptor de los compuestos que normalmente activan el receptor P2X<sub>3</sub> y/o los canales heteroméricos P2X<sub>2</sub>/P2X<sub>3</sub>, tal como ATP, podrían bloquear con éxito la transmisión del dolor. De hecho, los moduladores de los receptores P2X, por ejemplo el receptor P2X<sub>3</sub>, pueden ser útiles como analgésicos.

Adicionalmente, los compuestos que bloquean o inhiben la activación de los receptores P2X<sub>3</sub> también sirven para tratar enfermedades, trastornos y afecciones genitourinarias, gastrointestinales y respiratorias, o antagonistas del receptor de compuestos que normalmente activan el receptor P2X<sub>3</sub> y/o los canales heteroméricos P2X<sub>2</sub>/P2X<sub>3</sub>, tal como ATP, son útiles para el tratamiento de enfermedades, trastornos y afecciones genitourinarias, gastrointestinales y respiratorias.

Burnstock (1999) *J. Anatomy* 194:335-342; y Ferguson et al. (1997) *J. Physiol.* 505:503-511 divulgan que se han encontrado subunidades del receptor P2X en aferentes en el urotelio de la vejiga urinaria de roedores y seres humanos. Estos datos sugieren que se puede liberar ATP de las células epiteliales/endoteliales de la vejiga urinaria u otros órganos huecos como resultado de distensión. El ATP liberado de este modo puede desempeñar un papel en el transporte de la información a las neuronas sensoriales localizadas en los componentes subepiteliales, por ejemplo la lámina propia suburotelial (Namasibayam, et al. (1999) *BJU Intl.* 84:854-860). Los receptores P2X se han estudiado en una serie de neuronas que incluyen neuronas sensoriales, simpáticas, parasimpáticas, mesentéricas y centrales (Zhong, et al. (1998) *Br. J. Pharmacol.* 125:771-781). Estos estudios indican que los receptores purinérgicos desempeñan un papel en la neurotransmisión aferente de la vejiga urinaria y que los moduladores de los receptores P2X son potencialmente útiles en el tratamiento de trastornos de la vejiga urinaria, tal como incontinencia urinaria y otras enfermedades o afecciones genitourinarias.

Se ha demostrado que los receptores P2X<sub>3</sub> se expresan en el colon humano y se expresan a niveles más altos en el colon inflamado que en el colon normal (Y. Yiangou et al. *Neurogastroenterol Mot* (2001) 13:365-69). Asimismo se ha implicado a los receptores P2X<sub>3</sub> en la detección de la distensión o la presión intraluminal en el intestino y el inicio de las contracciones reflejas (X. Bian et al. *J. Physiol* (2003) 551.1:309-22), y han relacionado esto con colitis (G. Wynn et al., *Am J. Physiol Gastrointest Liver Physiol* (2004) 287:G647-57).

Asimismo se ha demostrado que los receptores P2X<sub>3</sub> se expresan en los cuerpos neuroepiteliales pulmonares (CNE), de modo que se implica al receptor en la transmisión del dolor en los pulmones (Inge Brouns et al., *Am J. Respir Cell Mol Biol* (2000) 23:52061). Adicionalmente, se ha implicado a los receptores P2X<sub>2</sub> and P2X<sub>3</sub> en la detección de pO<sub>2</sub> en los CNE pulmonares (W. Rong et al., *J. Neurosci* (2003) 23(36):11315-21).

No obstante, la utilidad de los ligandos purinérgicos disponibles para evaluar el papel de los subtipos del receptor P2 individual en la fisiología de mamíferos se ha complicado por la susceptibilidad de los agonistas del receptor P2 a sufrir degradación enzimática. Asimismo, el estudio del papel de un receptor P2X individual se ha visto dificultado por la ausencia de agonistas y antagonistas específicos de subtipo de receptor.

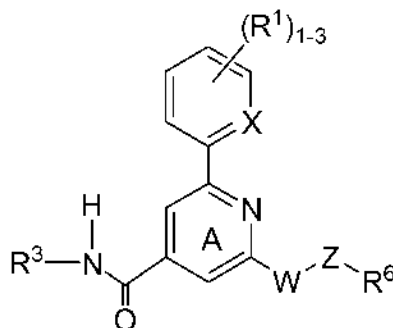
En consecuencia, el estado de la técnica requiere investigar en métodos y/o compuestos que proporcionarán la capacidad para regular o controlar los receptores P2X, por ejemplo, P2X<sub>3</sub>, dado que el control de dichos receptores proporcionará la capacidad para minimizar el dolor en pacientes que necesiten dicho tratamiento. Además, con fines tanto de investigación como terapéuticos, existe la necesidad en la técnica de agonistas y antagonistas específicos para cada subtipo del receptor P2X y, en particular, agentes que serán eficaces in vivo, así como de métodos para identificar compuestos agonistas y antagonistas específicos de purinoreceptores.

Véase en los documentos WO9824780, US6420385, US6096753, US6410729, US6649604, US6436972, US6544986, US6977266 y US6610698 el estado de la técnica con respecto a las estructuras de compuestos.

La presente invención está dirigida a superar algunos de los inconvenientes mencionados anteriormente proporcionando nuevos antagonistas del receptor P2X<sub>3</sub> que desempeñan un papel crucial en el tratamiento de estados de enfermedad asociados con el dolor, en particular el dolor periférico, el dolor inflamatorio o el dolor por lesión tisular, que se pueden tratar usando un modulador de la subunidad del receptor P2X<sub>3</sub>.

### Sumario de la invención

La presente invención se refiere a nuevos antagonistas del receptor de tipo P2X<sub>3</sub> de fórmula estructural I:



I

o sales farmacéuticamente aceptables y enantiómeros individuales y diastereómeros de los mismos, en la que: X es N o CH;

W y Z independientemente están ausentes o representan C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, -O-, NR<sup>2</sup>, CO o SO<sub>0-2</sub>;

R<sup>1</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CF<sub>3</sub> y R<sup>3</sup> es CR<sup>2</sup>R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>, en el que R<sup>2</sup> de CR<sup>2</sup>R<sup>4</sup>R<sup>5</sup> es hidrógeno, y uno de R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub> o hidrógeno y el otro es (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> arilo C<sub>6-10</sub> o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>heterociclilo C<sub>6-10</sub>, estando dicho alquilo, arilo y heterociclilo opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos de R<sup>a</sup>;

R<sup>2</sup> representa H, alquilo C<sub>1-6</sub>, CF<sub>3</sub>, OH, CHF<sub>2</sub> o CH<sub>2</sub>F;

R<sup>3</sup> representa CR<sup>2</sup>R<sup>4</sup>R<sup>5</sup>;

uno de R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub> o hidrógeno y el otro es (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>arilo C<sub>6-10</sub> o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>heterociclilo C<sub>6-10</sub>, estando dicho alquilo, arilo y heterociclilo opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos de R<sup>a</sup>, en el que dicho arilo y heterociclilo es (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>fenilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>piridilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>pirimidinilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> triazolilo, pirazinilo o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>oxadiazolilo;

R<sup>6</sup> representa hidrógeno, OR<sup>2</sup>, -O-, CF<sub>3</sub>, C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>OR<sup>2</sup>, alquilo C<sub>1-6</sub>, alquenilo C<sub>2-6</sub>, alquinilo C<sub>2-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> arilo C<sub>6-10</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>heterociclilo C<sub>5-10</sub>, estando dicho alquilo, cicloalquilo, arilo y heterociclilo opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos de R<sup>a</sup>;

R<sup>a</sup> representa alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, hidroxilo, OR<sup>2</sup>, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CF<sub>3</sub>, -O-, cicloalquilo C<sub>3-6</sub>, NR<sup>2</sup>C(O)R<sup>2</sup>, C(O)N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, C(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>OR<sup>2</sup>, C(O)R<sup>2</sup>, NO<sub>2</sub>, CN, N(R<sup>2</sup>)<sub>2</sub>, C(O)OR<sup>2</sup>, SO<sub>2</sub>R<sup>2</sup>, OR<sup>2</sup>, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>heterociclilo C<sub>5-10</sub> o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>arilo C<sub>6-10</sub>, estando dicho heterociclilo y arilo opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos de alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, hidroxilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CF<sub>3</sub> o CN; y

n representa de 0 a 4.

### Descripción detallada de la invención

La presente invención se refiere a nuevos antagonistas del receptor de tipo P2X<sub>3</sub> de fórmula estructural I que son útiles en el tratamiento del dolor y de enfermedades asociadas con el dolor.

Una realización de la invención de fórmula I se realiza cuando W y Z están ambos ausentes. Otra realización más de la invención se realiza cuando R<sup>6</sup> es hidrógeno, OR<sup>2</sup>, alquilo C<sub>1-6</sub>, cicloalquilo C<sub>3-10</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> arilo C<sub>6-10</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> heterociclilo C<sub>5-10</sub>, estando dicho alquilo, cicloalquilo, arilo y heterociclilo opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos de R<sup>a</sup>. Una subrealización de esta invención se realiza cuando R<sup>6</sup> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, OR<sup>2</sup>, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> morfolino, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> piridilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> piperidinilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> oxazolilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> isoxazolilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> fenilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> imidazolilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> pirimidinilo, ciclopropilo, ciclobutilo, preferentemente hidrógeno, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> piridilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> morfolino, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> fenilo, alquilo C<sub>1-6</sub>, ciclopropilo, todos opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos de R<sup>a</sup>. Una subrealización adicional de esta invención se realiza cuando R<sup>6</sup> es hidrógeno, alquilo C<sub>1-6</sub>, OR<sup>2</sup>, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> morfolino, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> piridilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> fenilo o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> piridiminilo.

5  
10 Otra realización de la presente invención se realiza cuando R<sup>2</sup> es hidrógeno y todas las otras variables son como se han descrito previamente.

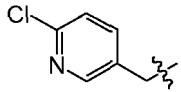
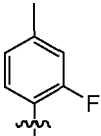
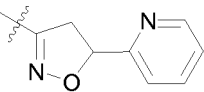
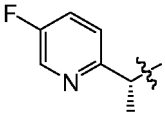
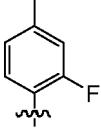
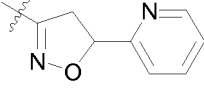
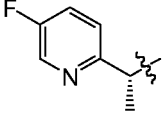
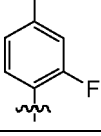
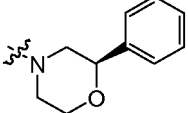
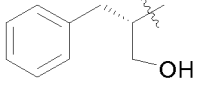
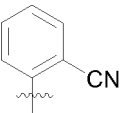
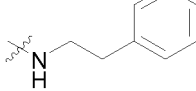
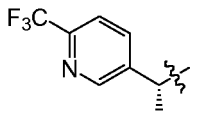
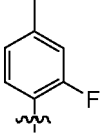
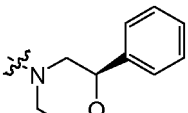
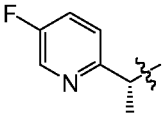
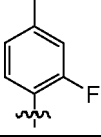
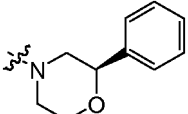
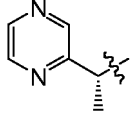
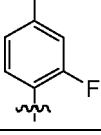
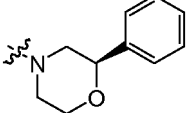
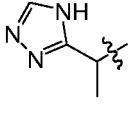
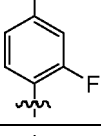
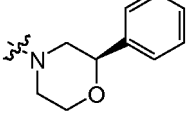
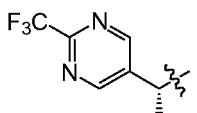
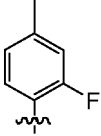
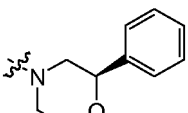
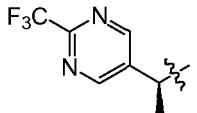
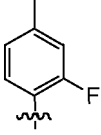
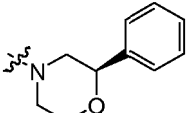
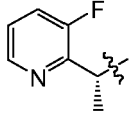
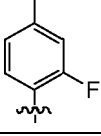
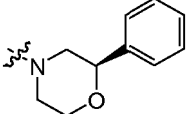
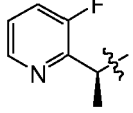
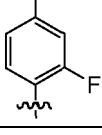
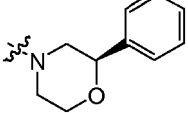
15 Otra realización más de esta invención se realiza cuando R<sup>2</sup> de CR<sup>2</sup>R<sup>4</sup>R<sup>5</sup> es hidrógeno, y uno de R<sup>4</sup> y R<sup>5</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub> o hidrógeno y el otro es (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> piridilo o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> oxadiazolilo, estando dicho oxadiazolilo opcionalmente sustituido con 1 a 3 grupos de R<sup>a</sup>.

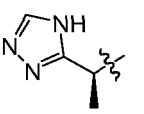
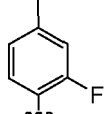
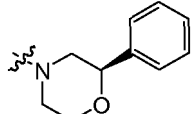
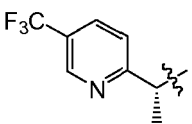
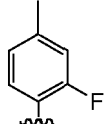
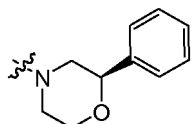
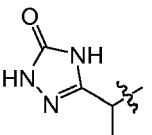
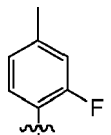
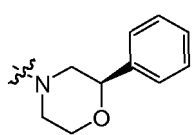
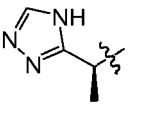
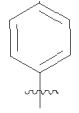
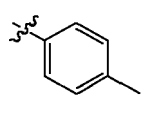
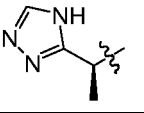
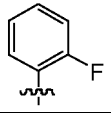
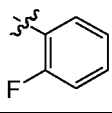
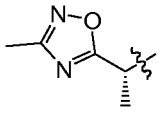
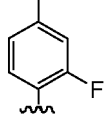
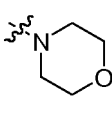
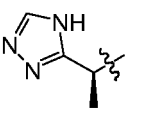
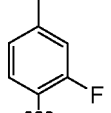
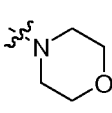
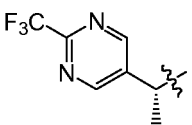
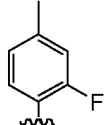
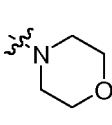
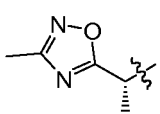
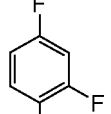
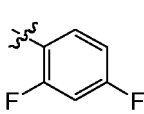
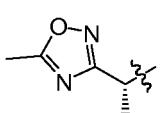
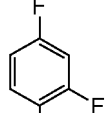
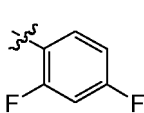
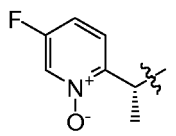
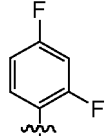
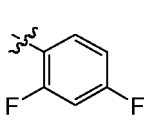
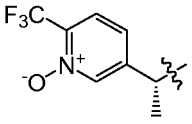
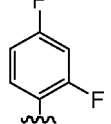
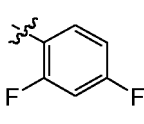
20 Otra realización más de la presente invención se realiza cuando R<sup>a</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno (preferentemente cloro o flúor), -O-, OR<sup>2</sup>, CN, CF<sub>3</sub>, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> heterociclilo C<sub>5-10</sub> o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub> arilo C<sub>6-10</sub>, estando dicho heterociclilo y arilo opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos de alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno, hidroxilo, (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CF<sub>3</sub> o CN.

Una subrealización de fórmula I se realiza cuando W y Z están ausentes, R<sup>6</sup> es alquilo C<sub>1-6</sub>, opcionalmente sustituido con 1 a 3 grupos de R<sup>a</sup>, X es CH, R<sup>1</sup> es H, alquilo C<sub>1-6</sub>, halógeno o (CH<sub>2</sub>)<sub>n</sub>CF<sub>3</sub> y R<sup>2</sup> de CR<sup>2</sup>R<sup>4</sup>R<sup>5</sup> es hidrógeno.

Tabla 1

Ejemplo	R <sup>x</sup>	R <sup>y</sup>	R <sup>z</sup>	EM (M+1)
1.1				445,2029
1.2				448,1536
1.3				514,2299
1.4				464,2513
1.6				498,2304
1.7				550,1855

1.8				502,1454
1.9				500,1887
1.10				434,2247
1.15				477,2293
1.17				565,2232
1.18				515,2274
1.20				498,2312
1.21				487,2305
1.22				566,2162
1.23				566,2161
1.24				515,2254
1.25				515,2255

1.26				487,2272
1.27				565,2261
1.28				503,2214
1.29				398,1987
1.30				406,1481
1.31				426,1930
1.32				411,1936
1.33				490,1853
1.34				457,1277
1.35				457,1282
1.36				486,1236
1.37				536,1206

1.38				413,1967
1.39				413,1964
1.40				442,1926
1.41				492,1886
1.42				440,1052
1.43			H	424,1084
1.44			H	345,1158
1.45			H	345,1159
1.46			H	374,1110
1.47				442,1293
1.48				381,1921
1.49				388,1590



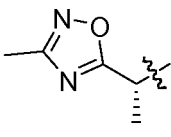
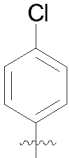

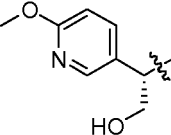
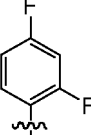

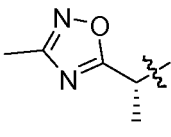
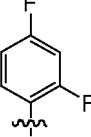
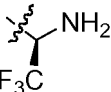
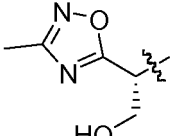
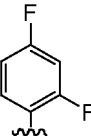

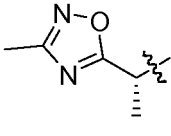
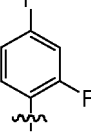
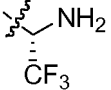
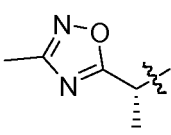
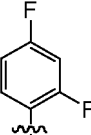
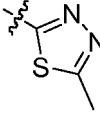
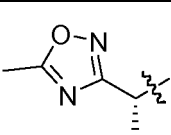
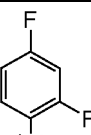
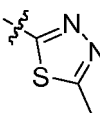
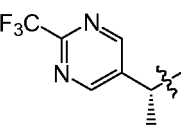
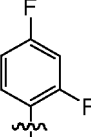
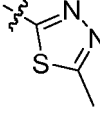
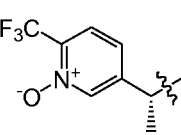
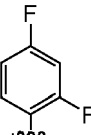
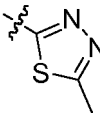
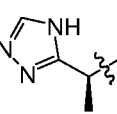
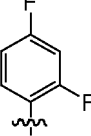
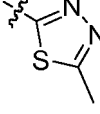
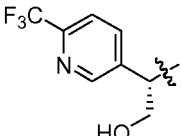
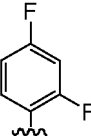

1.50				466,1542
1.51				387,1620
1.52				387,1620
1.53				372,1624
1.54				416,1575
1.55				375,1255
1.56				375,1256
1.57				454,1183
1.58				404,1213
1.59				403,1563
1.60				467,1474

1.61				403,1560
1.62				482,1461
1.63				366,1926
1.64				460,1843
1.65				437,1535
1.66				437,1535
1.67				501,1459
1.68				516,1455
1.69				359,1324
1.70				359,1322
1.71				423,1246

1.72				438,1245
1.73				385,1468
1.74				385,1470
1.75				449,1392
1.76				464,1390
1.77				338,1618
1.78				522,1063
1.79				443,1144
1.80				386,1381
1.81				401,1370
1.82				480,1292

1.83				505,1112
1.84				481,1253
1.85				366,1927
1.86				351,1928
1.87				430,1850
1.88				445,1846
1.89				367,1869
1.90				446,1786
1.91				461,1783
1.92				382,1865
1.93				466,1543
1.94				520,0869

1.95				521,0830
1.99				400,1879
1.100				502,0856
1.101				486,0905
1.102				470,0950
1.103				423,0932
1.104				423,0933
1.107				406,0752
1.109				484,0704
1.110				500,0667
1.112				421,0758

1.113				421,0739
1.115				444,1728
1.116				442,1298
1.119				419,1525
1.121				442,1295
1.122				443,1102
1.123				443,1096
1.125				507,1026
1.126				522,1016
1.127				428,1096
1.128				482,1498

1.130				482,1494
1.131				435,0886
1.132				432,1522
1.133				449,3
1.135				489,2
1.136				475,3
1.137				479,1353
1.138				494,1358
1.140				494,1358
1.141				426,1475
1.142				382,1874

o sales farmacéuticamente aceptables y diastereómeros y enantiómeros individuales de los mismos.

5 Cuando cualquier variable (por ejemplo, arilo, heterociclo, R<sup>1</sup>, R<sup>5</sup> etc.) aparece más de una vez en cualquier constituyente, su definición cada vez que aparece es independiente en cualquier otra aparición. También, son permisibles combinaciones de sustituyentes o variables solo si dichas combinaciones dan como resultado compuestos estables.

10 Cuando R<sup>a</sup> o R<sup>b</sup> es -O- y está unido a un carbono, se refiere a un grupo carbonilo y cuando está unido a un átomo de nitrógeno (por ejemplo, átomo de nitrógeno en un grupo piridilo) o un azufre, se refiere a un N-óxido y grupo sulfóxido, respectivamente.

15 Como se usa en el presente documento, "alquilo" y el prefijo "alq", tal como, por ejemplo, alcoxi, alcanóilo, alquenilo y alquinilo significan cadenas de carbono que pueden ser lineales o ramificadas o combinaciones de las mismas. Los ejemplos de grupos alquilo incluyen metilo, etilo, propilo, isopropilo, butilo, sec y terc-butilo, pentilo, hexilo y heptilo. "Alquenilo" se refiere a un radical hidrocarburo, lineal o ramificado, que contiene de 2 a 6 átomos de carbono y un doble enlace carbono-carbono. Los grupos alquenilo preferidos incluyen etenilo, propenilo y butenilo.

20 Como se usa en el presente documento, "fluoroalquilo" se refiere a un sustituyente alquilo como se describe en el presente documento que contiene al menos un sustituyente flúor.

El término "cicloalquilo" se refiere a un hidrocarburo saturado que contiene un anillo que tiene un número especificado de átomos de carbono. Los ejemplos de cicloalquilo incluyen ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

25 El término "C<sub>1-6</sub>" incluye alquilos que contienen 6, 5, 4, 3, 2 o 1 átomo de carbono.

30 El término "alcoxi" como se usa en el presente documento, solo o en combinación, incluye un grupo alquilo conectado al átomo de conexión oxígeno. El término "alcoxi" también incluye grupos alquil éter, en los que el término "alquilo" se ha definido anteriormente y "éter" significa dos grupos alquilo con un átomo de oxígeno entre ellos. Los ejemplos de grupos alcoxi adecuados incluyen metoxi, etoxi, n-propoxi, i-propoxi, n-butoxi, s-butoxi, t-butoxi, metoximetano (también denominado "éter dimetilico") y metoxietano (también denominado "etil metil éter").

Como se usa en el presente documento, "arilo" pretende significar fenilo o naftilo.

35 El término heterociclo, heterociclilo o heterocíclico, como se usa en el presente documento, representa un anillo heterocíclico monocíclico estable de 5 a 7 miembros o bicíclico estable de 8 a 11 miembros que está saturado o insaturado, y que consiste en átomos de carbono y de uno a cuatro heteroátomos seleccionados entre el grupo que consiste en N, O y S, y que incluyen cualquier grupo bicíclico en el que cualquiera de los anillos heterocíclicos definidos anteriormente está condensado a un anillo de benceno. El anillo heterocíclico puede estar unido a cualquier heteroátomo o átomo de carbono que de como resultado la creación de una estructura estable. El término heterociclo o heterocíclico incluye restos heteroarilo. Los ejemplos de tales elementos heterocíclicos incluyen, pero sin limitación, azepinilo, bencimidazolilo, bencisoxazolilo, benzofurazanilo, benzopirano, benzotiazolilo, benzotiazolilo, benzotienilo, benzoxazolilo, cromanilo, cinolinilo, dihidrobenzofurilo, dihidrobenzotienilo, dihidrobenzotiazolilo, dihidrobenzotiazolilo, dihidrobenzotiazolilo, furilo, imidazolidinilo, imidazolilo, imidazolilo, indolinilo, indolilo, isocromanilo, isoindolinilo, isoquinolinilo, isotiazolidinilo, isotiazolilo, isotiazolidinilo, morfolinilo, naftiridinilo, oxadiazolilo, 2-oxoazepinilo, oxazolilo, 2-oxopiperazinilo, 2-oxopiperdinilo, 2-oxopirrolidinilo, piperidilo, piperazinilo, piridilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, quinoxalinilo, tetrahydrofurilo, tetrahydroisoquinolinilo, tetrahydroquinolinilo, tiamorfolinilo, tiamorfolinilo sulfóxido, tiazolilo, tiazolinilo, tienofurilo, tienotienilo y tienilo. Una realización de los ejemplos de tales elementos heterocíclicos incluye, pero sin limitación, azepinilo, bencimidazolilo, bencisoxazolilo, benzofurazanilo, benzopirano, benzotiazolilo, benzofurilo, benzotiazolilo, benzotienilo, benzoxazolilo, cromanilo, cinolinilo, dihidrobenzofurilo, dihidrobenzotienilo, dihidrobenzotiazolilo, dihidrobenzotiazolilo, dihidrobenzotiazolilo sulfona, furilo, imidazolidinilo, imidazolilo, imidazolilo, indolinilo, indolilo, isocromanilo, isoindolinilo, isoquinolinilo, isotiazolidinilo, isotiazolilo, isotiazolidinilo, morfolinilo, naftiridinilo, oxadiazolilo, 2-oxoazepinilo, oxazolilo, 2-oxopiperazinilo, 2-oxopiperdinilo, 2-oxopirrolidinilo, piperidilo, piperazinilo, piridilo, 2-piridinilo, pirazinilo, pirazolidinilo, pirazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, pirrolidinilo, pirrolilo, quinazolinilo, quinolinilo, quinoxalinilo, tetrahydrofurilo, tetrahydroisoquinolinilo, tetrahydroquinolinilo, tiamorfolinilo, tiamorfolinil sulfóxido, tiazolilo, tiazolinilo, tienofurilo, tienotienilo, tienilo y triazolilo.

60 En determinadas realizaciones, el grupo heterocíclico es un grupo heteroarilo. El término "heteroarilo", como se usa en el presente documento excepto cuando se indique, representa un sistema de anillo heterocíclico monocíclico estable de 5 a 7 miembros o bicíclico condensado estable de 9 a 10 miembros que contiene un anillo aromático, cualquier anillo del mismo puede estar saturado, tal como piperidinilo, parcialmente saturado o insaturado, tal como piridinilo, y que consiste en átomos de carbono y de uno a cuatro heteroátomos seleccionados entre grupo que consiste en N, O y S, y en el que los heteroátomos de nitrógeno y azufre pueden estar opcionalmente oxidados, y el heteroátomo de nitrógeno puede estar opcionalmente cuaternizado, y que incluye cualquier grupo bicíclico en el que cualquiera de los anillos heterocíclicos definidos anteriormente está condensado a un anillo de benceno. El anillo heterocíclico puede estar unido a cualquier heteroátomo o átomo de carbono que de como resultado la creación de una estructura estable.



Los ejemplos de tales grupos heteroarilo incluyen, pero sin limitación, bencimidazol, bencisotiazol, bencisoxazol, benzofurano, benzotiazol, benzotiofeno, benzotriazol, benzoxazol, carbolino, cinolino, furano, furazano, imidazol, indazol, indol, indolizina, isoquinolina, isotiazol, isoxazol, naftiridina, oxadiazol, oxazol, ftalazina, pteridina, purina, pirano, pirazina, pirazol, piridazina, piridina, pirimidina, pirrol, quinazolininas, quinolina, quinoxalina, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiofeno, triazina, triazol y N-óxidos de los mismos.

"Halógeno" se refiere a flúor, cloro, bromo o yodo.

El término "mamífero" o "mamíferos" Incluye seres humanos, así como animales tales como perros, gatos, caballos, cerdos y ganado vacuno.

Como se usa en esta especificación y las reivindicaciones adjuntas, las formas en singular "un", "uno/una" y "el/la" incluyen las referencias en plural a menos que el contenido indique claramente lo contrario. Por tanto, por ejemplo, la referencia a "un cebador" incluye dos o más de estos cebadores, la referencia a un "aminoácido" incluye más de uno de dichos aminoácidos, y similares.

Las frases "cantidad eficaz" o "cantidad terapéuticamente eficaz" significan una concentración del modulador del complejo del receptor P2X suficiente para inhibir o potenciar el efecto del complejo del receptor P2X.

"Dolor" significa la sensación más o menos localizada de malestar, sufrimiento o agonía resultante de la estimulación de terminales nerviosos especializados. Existen muchos tipos de dolor, incluyendo, pero sin limitación, dolores súbitos, dolores fantasma, dolores fulgurantes, dolor agudo, dolor inflamatorio, dolor neuropático, dolor regional complejo, neuralgia, neuropatía, dolor por daño tisular y similares (Dorland's Illustrated Medical Dictionary, 28ª Edición, W. B. Saunders Company, Philadelphia, Pa.). El objetivo del tratamiento del dolor es reducir el grado o la gravedad del dolor percibido por un sujeto en tratamiento.

"Tratar" o "tratamiento" de un estado de enfermedad incluye: 1) prevenir el estado de enfermedad, es decir hacer que los síntomas clínicos del estado de enfermedad no se desarrollen en un mamífero que pueda estar expuesto o predispuesto al estado de enfermedad pero que no experimenta ni muestra todavía síntomas del estado de enfermedad; 2) inhibir el estado de enfermedad, es decir detener el desarrollo del estado de enfermedad o sus síntomas clínicos; 3) o aliviar el estado de enfermedad, es decir provocar la regresión temporal o permanente del estado de enfermedad o sus síntomas clínicos.

Los compuestos descritos en el presente documento pueden contener uno o más dobles enlaces y pueden dar lugar a isómeros cis/trans, así como otros isómeros conformacionales. La presente invención incluye todos los posibles isómeros, así como mezclas de tales isómeros, a menos que específicamente se indique lo contrario.

Los compuestos de la presente invención pueden contener uno o más centros asimétricos y por tanto pueden aparecer como racematos, mezclas racémicas, enantiómeros sencillos, mezclas diastereoméricas y diastereómeros individuales.

En los compuestos de Fórmula genérica (I), los átomos pueden exhibir sus abundancias isotópicas naturales, o uno o más de los átomos pueden estar enriquecidos artificialmente en un isótopo en particular que tiene el mismo número atómico, pero una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra predominantemente en la naturaleza. La presente invención pretende incluir todas las variaciones isotópicas adecuadas de los compuestos de la Fórmula genérica I. Por ejemplo, las diferentes formas isotópicas de hidrógeno (H) incluyen protio ( $^1\text{H}$ ) y deuterio ( $^2\text{H}$ ). El protio es el isótopo de hidrógeno predominante encontrado en la naturaleza. El enriquecimiento por deuterio puede proporcionar determinadas ventajas terapéuticas, tales como incremento de semivida *in vivo* o reducción de los requerimientos de dosificación, o puede proporcionar un compuesto útil como patrón para la caracterización de muestras biológicas. Pueden prepararse compuestos enriquecidos isotópicamente dentro de la Fórmula genérica I sin excesiva experimentación por técnicas convencionales bien conocidas para los expertos en la materia o por procesos análogos a los descritos en los Esquemas y Ejemplos en el presente documento, usando intermedios y/o reactivos enriquecidos isotópicamente adecuados.

Se entenderá que, como se usa en el presente documento, las referencias a los compuestos de fórmula estructural I también pretenden incluir las sales farmacéuticamente aceptables y también sales que no son farmacéuticamente aceptables cuando estas se usan como precursores para los compuestos libres o en otras manipulaciones sintéticas.

Los compuestos de la presente invención pueden administrarse en forma de una sal farmacéuticamente aceptable. La expresión "sales farmacéuticamente aceptables" se refiere a sales preparadas a partir de bases o ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables. Cuando el compuesto de la presente invención es ácido, su sal correspondiente puede prepararse convenientemente a partir de bases no tóxicas farmacéuticamente aceptables, incluyendo bases inorgánicas y bases orgánicas. Las sales obtenidas a partir de tales bases inorgánicas incluyen aluminio, amonio, calcio, cobre (ico y oso), férricas, ferrosas, litio, magnesio, manganeso (ico y oso), potasio, sodio, cinc y sales similares. Las sales obtenidas a partir de bases orgánicas no tóxicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, así como aminas cíclicas y aminas sustituidas, tales como aminas de

origen natural y sintetizadas sustituidas. Otras bases orgánicas no tóxicas farmacéuticamente aceptables, a partir de las cuales pueden formarse sales, incluyen resinas de intercambio iónico, tales como, por ejemplo, arginina, betaína, cafeína, colina, N,N'-dibenciletilendiamina, dietilamina, 2-dietilaminoetanol, 2-dimetilaminoetanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etilpiperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropilamina, lisina, metilglucamina, morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietilamina, trimetilamina, tripropilamina y trometamina.

Cuando el compuesto de la presente invención es básico, su sal correspondiente puede prepararse convenientemente a partir de los ácidos no tóxicos farmacéuticamente aceptables, incluyendo ácidos inorgánicos y orgánicos. Tales ácidos incluyen, por ejemplo, acético, bencenosulfónico, benzoico, alcanforsulfónico, cítrico, etanosulfónico, fumárico, glucónico, glutámico, bromhídrico, clorhídrico, isetiónico, láctico, maleico, málico, mandélico, metanosulfónico, múcido, nítrico, pamoico, pantoténico, fosfórico, succínico, sulfúrico, tartárico, ácido p-toluenosulfónico y similares.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención comprenden compuestos de la invención (o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos) como ingrediente activo, un vehículo farmacéuticamente aceptable y, opcionalmente, uno o más agentes terapéuticos o adyuvantes adicionales. Dichos agentes terapéuticos adicionales pueden incluir, por ejemplo, i) agonistas o antagonistas de opiáceos, ii) antagonistas de los canales de calcio, iii) agonistas o antagonistas del receptor 5HT, iv) antagonistas de los canales de sodio, v) agonistas o antagonistas del receptor de NMDA, vi) inhibidores selectivos de la COX-2, vii) antagonistas de NK1, viii) fármacos antiinflamatorios no esteroideos ("AINE"), ix) inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina ("ISRS") y/o inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y norepinefrina ("ISRSN"), x) fármacos antidepresivos tricíclicos, xi) moduladores de norepinefrina, xii) litio, xiii) valproato, xiv) neurontina (gabapentina), xv) pregabalina, xvi) bloqueantes de los canales de sodio y xvii) antagonistas del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) tal como BIBN4096BS (olcegepant), MK-0974 (telcagepant), y CGRP<sub>8-37</sub> y antagonistas del receptor beta-3 adrenérgico (β3AR) tal como CL316243. Las presentes composiciones incluyen composiciones adecuadas para administración oral, rectal, tópica y parenteral (incluyendo subcutánea, intramuscular e intravenosa), aunque la vía más adecuada en cualquier caso dependerá del huésped concreto y la naturaleza y gravedad de las afecciones para las que se está administrando el ingrediente activo. Las composiciones farmacéuticas se pueden presentar cómodamente en una forma de monodosis y pueden prepararse mediante cualquiera de los procedimientos bien conocidos en la técnica de farmacia.

Los presentes compuestos y composiciones son útiles para el tratamiento de síndromes de dolor crónico, visceral, inflamatorio y neuropático. Son útiles para el tratamiento del dolor resultante de lesión neural traumática, compresión o atrapamiento neural, neuralgia postherpética, neuralgia del trigémino, neuropatía de fibras pequeñas y neuropatía diabética. Los presentes compuestos y composiciones también son útiles para el tratamiento de la lumbalgia crónica, dolor del miembro fantasma, dolor pélvico crónico, dolor por neuroma, síndrome del dolor regional complejo, migrañas, dolor artrítico crónico y neuralgias relacionadas, y dolor asociado con cáncer, quimioterapia, VIH y neuropatía inducida por el tratamiento del VIH. Los compuestos de la presente invención también se pueden usar como anestésicos locales. Los compuestos de la presente invención son útiles para el tratamiento del síndrome del intestino irritable y trastornos relacionados, así como la enfermedad de Crohn.

Los presentes compuestos tienen usos clínicos para el tratamiento de la epilepsia y las convulsiones tónicas parciales y generalizadas. También son útiles para neuroprotección en condiciones isquémicas causadas por ictus o traumatismo neural y para tratar la esclerosis múltiple. Los presentes compuestos son útiles para el tratamiento de las taquiarritmias. Adicionalmente, los presentes compuestos son útiles para el tratamiento de trastornos neuropsiquiátricos, incluyendo esquizofrenia, trastornos del estado de ánimo, tales como depresión o, más particularmente, trastornos depresivos, por ejemplo trastornos de depresión mayor de un solo episodio o recurrente y trastornos ditímicos, o trastornos bipolares, por ejemplo trastorno bipolar I, trastorno bipolar II y trastorno ciclotímico; trastornos de ansiedad, tales como trastorno de pánico con o sin agorafobia, agorafobia sin antecedentes de trastorno de pánico, fobias específicas por ejemplo fobias a animales específicas, fobias sociales, trastorno obsesivo-compulsivo, trastornos de estrés, incluyendo trastorno de estrés postraumático y trastorno de estrés agudo, y trastornos de ansiedad generalizada.

Por tanto, otro aspecto de la presente invención es el uso de los compuestos de fórmula I en la fabricación de un medicamento para tratar el dolor y otras enfermedades asociadas con dolor.

Los compuestos de fórmula I también se pueden usar solos o en combinación con otros fármacos en el tratamiento/prevenición/supresión o mejora de las enfermedades, afecciones o trastornos tales como vejiga hiperactiva, incontinencia urinaria, incontinencia urinaria con urgencia y urgencia urinaria.

Además de los primates, tales como seres humanos, se puede tratar a diversos otros mamíferos con los compuestos de la presente invención. Por ejemplo, se pueden tratar especies de mamíferos, incluidos, entre otros, vacas, ovejas, cabras, caballos, perros, gatos, cobayas, ratas u otras especies bovinas, ovinas, équidos, caninas, felinas, roedores tales como ratones. No obstante también se pueden tratar otras especies, tales como especies de aves (por ejemplo, pollos).

Se apreciará que para el tratamiento de la depresión o la ansiedad se puede usar un compuesto de la presente invención junto con otros agentes antidepresivos o anti-ansiedad, tales como inhibidores de la recaptación de norepinefrina, inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS), inhibidores de la monoamino oxidasa (IMAO), inhibidores reversibles de la monoamino oxidasa (IRMAO), inhibidores de la recaptación de serotonina y noradrenalina (IRSN), antagonistas del  $\alpha$ -adrenoreceptor, antidepresivos atípicos, benzodiazepinas, agonistas o antagonistas de 5-HT<sub>1A</sub>, especialmente agonistas parciales de 5-HT<sub>1A</sub>, antagonistas del receptor de la neuroquinina-1, antagonistas del factor liberador de corticotropina (CRF) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Adicionalmente se entiende que los compuestos de la presente invención se pueden administrar a niveles de dosis eficaces profilácticamente para prevenir las afecciones y trastornos citados en lo que antecede, así como para prevenir otras afecciones y trastornos asociados con la actividad de los canales de calcio.

Para uso tópico se pueden usar cremas, pomadas, gelatinas, soluciones o suspensiones que contienen los presentes compuestos. Los colutorios y gárgaras bucales están incluidos dentro del alcance del uso tópico para los fines de la presente invención.

Los niveles de dosis de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 140 mg/kg de peso corporal al día son útiles en el tratamiento del dolor inflamatorio y neuropático o, como alternativa, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 7 g por paciente al día. Por ejemplo, el dolor inflamatorio puede tratarse con eficacia mediante la administración de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 75 mg del compuesto por kilogramo de peso corporal al día o, como alternativa, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 3,5 g por paciente al día. El dolor neuropático puede tratarse con eficacia mediante la administración de aproximadamente 0,01 mg a aproximadamente 125 mg del compuesto por kilogramo de peso corporal al día o, como alternativa, de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 5,5 g por paciente al día.

La cantidad de ingrediente activo que se puede combinar con los materiales transportadores para producir una única forma de dosificación variará en función del huésped tratado y el modo de administración concreto. Por ejemplo, una formulación destinada para administración oral a seres humanos puede contener convenientemente de aproximadamente 0,5 mg a aproximadamente 5 g del agente activo, mezclado con una cantidad adecuada y conveniente de material vehículo que puede variar aproximadamente 5 a aproximadamente 95 por ciento de la composición total. Las formas de dosificación unitarias generalmente contendrán entre aproximadamente 1 mg a aproximadamente 1.000 mg del ingrediente activo, normalmente 25 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg, 500 mg, 600 mg, 800 mg o 1.000 mg.

No obstante, debe entenderse que el nivel específico de dosis para cualquier paciente concreto dependerá de varios factores. Dichos factores relacionados con el paciente incluyen la edad, el peso corporal, el estado de salud general, el sexo y la dieta del paciente. Otros factores incluyen el tiempo y la vía de administración, la tasa de excreción, la combinación farmacológica y la gravedad de la enfermedad concreta sometida a terapia.

En la práctica, los compuestos de la invención, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, se pueden combinar como el ingrediente activo en una mezcla íntima con un vehículo farmacéutico de acuerdo con técnicas de mezclado farmacéutico convencionales. El vehículo puede tomar una amplia variedad de formas según la forma de preparación deseada para la administración, por ejemplo oral o parenteral (incluyendo intravenosa). Por tanto, las composiciones farmacéuticas de la presente invención se pueden presentar como unidades pequeñas adecuadas para administración oral, tales como cápsulas, sellos o comprimidos, conteniendo cada uno una cantidad predeterminada del ingrediente activo. Adicionalmente, las composiciones se pueden presentar como un polvo, como gránulos, como una solución, como una suspensión en un líquido acuoso, como un líquido no acuoso, como una emulsión de aceite en agua o como una emulsión líquida de agua en aceite. Además de las formas de dosificación habituales establecidas anteriormente, los compuestos de la invención, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, también se pueden administrar por medio de liberación controlada y/o dispositivos de liberación. Las composiciones pueden prepararse mediante cualquiera de los métodos de farmacia. En general, dichos métodos incluyen la etapa de llevar el ingrediente activo en asociación con el transportador, que constituye uno o más ingredientes necesarios. En general, las composiciones se preparan mezclando de forma uniforme e íntima el ingrediente activo con vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos o ambos. Después, el producto se puede conformar de forma conveniente en la presentación deseada.

Por tanto, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden incluir un vehículo farmacéuticamente aceptable y un compuesto o una sal farmacéuticamente aceptable. Los compuestos de la invención, o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, también se pueden incluir en las composiciones farmacéuticas en combinación con uno o más compuestos terapéuticamente activos.

El vehículo farmacéutico empleado puede ser, por ejemplo, un sólido, un líquido o un gas. Ejemplos de vehículos sólidos incluyen lactosa, terra alba, sacarosa talco, gelatina, agar, pectina, goma arábica, estearato de magnesio y ácido esteárico. Ejemplos de vehículos líquidos son jarabe de azúcar, aceite de cacahuete, aceite de oliva y agua. Ejemplos de vehículos gaseosos incluyen dióxido de carbono y nitrógeno. Como se ha descrito anteriormente, en la preparación de las composiciones para forma de dosificación oral se puede emplear cualquiera de los medios

farmacéuticos habituales. Por ejemplo, en el caso de las preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, elixires y soluciones se pueden usar agua glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes, agentes colorantes y similares; o en el caso de las preparaciones sólidas orales tales como polvos, cápsulas y comprimidos se pueden incluir vehículos tales como almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares. Por su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas representan la forma de monodosis oral más ventajosa en cuyo caso se emplean transportadores farmacéuticos sólidos. Si se desea, los comprimidos pueden recubrirse mediante técnicas estándar acuosas o no acuosas. Además de las formas de dosificación habituales establecidas en lo que antecede, a la hora de administrar los presentes compuestos y composiciones también se pueden usar medios de liberación controlada y/o dispositivos de liberación

En la preparación de las composiciones para forma de dosificación oral se puede emplear cualquier medio farmacéutico conveniente. Por ejemplo, para formar preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, elixires y soluciones se pueden usar agua glicoles, aceites, alcoholes, agentes aromatizantes, conservantes, agentes colorantes y similares; mientras que para formar preparaciones sólidas orales tales como polvos, cápsulas y comprimidos se pueden usar vehículos tales como almidones, azúcares, celulosa microcristalina, diluyentes, agentes de granulación, lubricantes, aglutinantes y agentes disgregantes. Por su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas son unidades de dosificación oral ventajosas en las que se emplean vehículos farmacéuticos sólidos. Opcionalmente, los comprimidos pueden recubrirse mediante técnicas estándar acuosas o no acuosas.

Un comprimido que contiene la composición de la presente invención se puede preparar mediante compresión o moldeado, opcionalmente con uno o más ingredientes auxiliares o adyuvantes. Los comprimidos comprimidos se pueden preparar mediante compresión en una máquina adecuada del ingrediente activo en forma de flujo libre, tal como polvos o gránulos, mezclarse opcionalmente con un aglutinante, lubricante, diluyente inerte, agente de superficie activa o de dispersión. Los comprimidos moldeados se pueden fabricar mediante moldeo en una máquina adecuada de una mezcla del compuesto en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte. Cada comprimido contiene de forma ventajosa de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 500 mg del ingrediente activo y cada sello o cápsula contiene de forma ventajosa de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 500 mg del ingrediente activo. Por tanto, un comprimido, sello o cápsula contiene de forma conveniente 0,1 mg, 1 mg, 5 mg, 25 mg, 50 mg, 100 mg, 200 mg, 300 mg, 400 mg o 500 mg del ingrediente activo en uno o dos comprimidos, sellos o cápsulas una, dos o tres veces al día.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para administración parenteral se pueden preparar como soluciones o suspensiones de los compuestos activos en agua. Se puede incluir un tensioactivo adecuado, tal como, por ejemplo, hidroxipropilcelulosa. Las dispersiones también se pueden preparar en glicerol, polietilenglicoles líquidos y sus mezclas en aceites. Adicionalmente se puede incluir un conservante para evitar el crecimiento perjudicial de microorganismos.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención adecuadas para uso inyectable incluyen soluciones o dispersiones acuosas estériles. Adicionalmente, las composiciones pueden estar en forma de polvos estériles para la preparación extemporánea de dichas soluciones o dispersiones inyectables estériles. En todos los casos, la forma inyectable final debe ser estéril y debe ser eficazmente fluida para su fácil introducción en la jeringa. Las composiciones farmacéuticas deben ser estables en las condiciones de fabricación y almacenamiento y, por tanto, deben conservarse frente a la acción contaminante de microorganismos tales como bacterias y hongos. El vehículo puede ser un disolvente o medio de dispersión que contenga, por ejemplo, agua, etanol, polioliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol y polietilenglicol líquido), aceites vegetales y mezclas adecuadas de los mismos.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar en una forma adecuada para uso tópico tal como, por ejemplo, un aerosol, crema, pomada, loción y polvo para espolvorear. Adicionalmente, las composiciones pueden estar en una forma adecuada para su uso en dispositivos transdérmicos. Estas formulaciones se pueden preparar usando un compuesto representado en la invención, o sales farmacéuticamente aceptables del mismo, mediante métodos de procesamiento convencionales. Como ejemplo, se prepara una crema o pomada mezclando material hidrófilo y agua con aproximadamente un 5 % en peso a aproximadamente 10 % en peso del compuesto, para producir una crema o pomada que tenga una consistencia deseada.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden estar en una forma adecuada para administración rectal en la que el vehículo es un sólido, tal como, por ejemplo, cuando la mezcla forma supositorios de monodosis. Vehículos adecuados incluyen manteca de cacao y otros materiales de uso habitual en la técnica. Los supositorios pueden formarse de modo conveniente mezclando primero la composición con el o los vehículos ablandados o fundidos, seguido de enfriamiento y conformado en moldes.

Además de los ingredientes vehículos mencionados anteriormente, las formulaciones farmacéuticas descritas con anterioridad pueden incluir, según sea adecuado, uno o más ingredientes vehículos tales como diluyentes, tampones, agentes aromatizantes, aglutinantes, agentes de superficie activa, espesantes, lubricantes y conservantes (incluyendo antioxidantes). Adicionalmente se pueden incluir otros adyuvantes para hacer que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor al que está destinada. Las composiciones que contienen un compuesto de la invención, o sales

farmacéuticamente aceptables del mismo, también se pueden preparar en forma de polvo o de concentrado líquido.

Adicionalmente, como se ha descrito anteriormente, los presentes compuestos se pueden usar en combinación con uno o más compuestos terapéuticamente activos. En particular, los compuestos de la invención se pueden usar de forma ventajosa en combinación con i) agonistas o antagonistas de opiáceos, ii) otros antagonistas de los canales de calcio, iii) agonistas o antagonistas del receptor 5HT, incluyendo agonistas o antagonistas de 5-HT<sub>1A</sub> y agonistas parciales de 5-HT<sub>1A</sub>, iv) antagonistas de los canales de sodio, v) agonistas o antagonistas del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA), vi) inhibidores selectivos de la COX-2, vii) antagonistas del receptor 1 de neuroquinina (NK1), viii) fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), ix) inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) y/o inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y norepinefrina (ISRSN), x) fármacos antidepresivos tricíclicos, xi) moduladores de norepinefrina, xii) litio, xiii) valproato, xiv) inhibidores de la recaptación de norepinefrina, xv) inhibidores de la monoamino oxidasa (MAO), xvi) inhibidores reversibles de la monoamino oxidasa (IRMAO), xvii) antagonistas del  $\alpha$ -adrenoreceptor, xviii) antidepresivos atípicos, xix) benzodiacepinas, xx) antagonistas del factor liberador de corticotropina (CRF), xxi) neurontina (gabapentina) y xxii) pregabalina.

Las abreviaturas usadas en el presente documento tienen los siguientes significados (las abreviaturas no mostradas aquí, tienen sus significados según se usan comúnmente, a menos que específicamente se indique lo contrario): Ac (acetilo), Bn (bencilo), Boc (butoxi carbonilo terciario), Reactivo Bop hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)tris(dimetilamino)fosfonio, CAMP (adenosina cíclica-3',5'-monofosfato), DAST (trifluoruro de (dietilamino)azufre), DBU (1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno), DIBAL (hidruro de diisobutilaluminio), DIEA (diisopropiletilamina), DMAP (4-(dimetilamino)piridina), DMF (N,N-dimetilformamida), DPPF (1,1'-bis(difenil)fosfina), EDC (clorhidrato de 1-(3-dimetilaminopropil)-3-etilcarbodiimida), Et<sub>3</sub>N (triethylamina), GST (glutatión transferasa), HOBt (1-hidroxibenzotriazol), LAH (hidruro de litio y aluminio), Ms (metanosulfonilo; mesilo; o SO<sub>2</sub>Me), MsO (metanosulfonato o mesilato), MCPBA (ácido meta-cloro perbenzóico), NaHMDS (hexametildisilazano sódico), NBS (N-bromosuccinimida), NCS (N-clorosuccinimida), NSAID (fármaco antiinflamatorio no esteroideo), PDE (fosfodiesterasa), Ph (fenilo), t.a. o TA (temperatura ambiente), Rac (Racémico), SAM (aminosulfonilo; sulfonamida o SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>), SPA (ensayo de proximidad de centelleo), Th (2 o 3-tienilo), TFA (ácido trifluoroacético), THF (Tetrahidrofurano), Ti (Tiofenodiilo), TLC (cromatografía de capa fina), TMEDA (N,N,N',N'-tetrametiletildiamina), TMSI (yoduro de trimetilsililo), Tr o tritilo (N-trifenilmetilo), C<sub>3</sub>H<sub>5</sub> (Alilo), Me (metilo), Et (etilo), n-Pr (propilo normal), i-Pr (isopropilo), n-Bu (butilo normal), i-Butil (isobutilo), s-Bu (butilo secundario), t-Bu (butilo terciario), c-Pr (ciclopropilo), c-Bu (ciclobutilo), c-Pen (ciclopentilo), c-Hex (ciclohexilo).

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse de acuerdo con los procedimientos proporcionados en los Ejemplos. Los siguientes Ejemplos describen adicionalmente, pero no limitan, el alcance de la invención.

A menos que específicamente se indique otra cosa, los procedimientos experimentales se realizaron en las siguientes condiciones: Todas las operaciones se realizaron a temperatura ambiente o ambiental; es decir, a una temperatura en el intervalo de 18-25 °C. Se usó una protección de gas inerte cuando los reactivos o intermedios eran sensibles al aire y a la humedad. La evaporación del disolvente se realizó usando un evaporador rotatorio a presión reducida (600-4000 pascales: 4,5-30 mmHg) con una temperatura de baño de hasta 60 °C. El transcurso de las reacciones se siguió mediante cromatografía de capa fina (TLC) o por cromatografía líquida de alta presión-espectrometría de masas (HPLC-EM) y los tiempos de reacción se dan únicamente a modo de ilustración. La estructura y la pureza de todos los productos finales se aseguró mediante al menos una de las siguientes técnicas: TLC, espectrometría de masas, espectrometría de resonancia magnética nuclear (RMN) o datos microanalíticos. Cuando se proporcionan, los rendimientos son solo a modo de ilustración. Cuando se proporcionan, los datos de RMN están en forma de valores delta ( $\delta$ ) para los protones de diagnóstico principales, dados en partes por millón (ppm) en relación al tetrametilsilano (TMS) como patrón interno, determinado a 300 MHz, 400 MHz o 500 MHz usando el disolvente indicado. Las abreviaturas convencionales usadas para la forma de la señal son: s. singlete; d. doblete; t. triplete; m. multiplete; a. Ancho; etc. Además, "Ar" significa una señal aromática. Los símbolos químicos tienen sus significados habituales; se usan las siguientes abreviaturas: v (volumen), p (peso), p.e. (punto de ebullición), p.f. (punto de fusión), l (litro(s)), ml (mililitros), g (gramo(s)), mg (miligramo(s)), mol (moles), mmol (milimoles), equiv. (equivalente(s)).

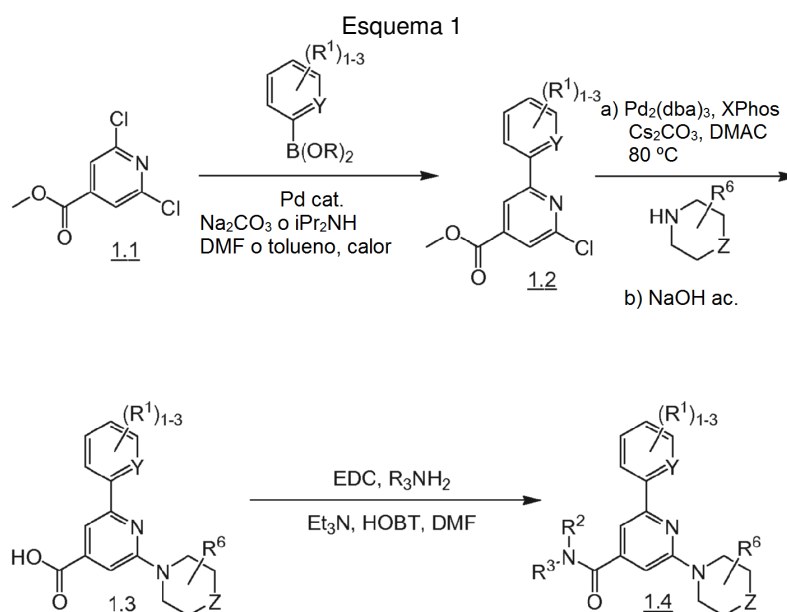
Los procedimientos descritos en el presente documento para sintetizar los compuestos pueden incluir una o más etapas de manipulaciones de grupo protector y de purificación, tales como, recristalización, destilación, cromatografía en columna, cromatografía ultrarrápida, cromatografía de capa fina (TLC), cromatografía radial y cromatografía de alta presión (HPLC). Los productos pueden caracterizarse usando diversas técnicas bien conocidas en las materias químicas, incluyendo resonancia magnética nuclear de protón y de carbono-13 (RMN <sup>1</sup>H y <sup>13</sup>C), espectroscopia infrarroja y ultravioleta (IR y UV), cristalografía de rayos X, análisis elemental y HPLC, y espectroscopia de masas (HPLC-EM). Los métodos de manipulación de grupo protector, purificación, identificación de la estructura y cuantificación son bien conocidos por un experto en materia de síntesis química.

Los disolventes adecuados son aquellos que disolverán, al menos parcialmente, uno o todos los reactivos y no interactuarán de manera adversa con los reactivos o el producto. Son disolventes adecuados, hidrocarburos aromáticos (por ejemplo, tolueno, xilenos), disolventes halogenados (por ejemplo, cloruro de metileno, cloroformo, tetracloruro de carbono, clorobencenos), éteres (por ejemplo, éter dietílico, diisopropiléter, *tert*-butil metil éter, diglima, tetrahidrofurano, dioxano, anisol), nitrilos (por ejemplo, acetonitrilo, propionitrilo), cetonas (por ejemplo, 2-butanona,

- dietyl cetona, *terc*-butil metil cetona), alcoholes (por ejemplo, metanol, etanol, n-propanol, iso-propanol, n-butanol, t-butanol), N,N-dimetilformamida (DMF), dimetilsulfóxido (DMSO) y agua. También pueden usarse mezclas de dos o más disolventes. Son bases adecuadas, en general, hidróxidos de metal alcalino, hidróxidos metal alcalinotérreo, tales como hidróxido de litio, hidróxido sódico, hidróxido potásico, hidróxido de bario e hidróxido de calcio; hidruros de metal alcalino e hidruros de metal alcalinotérreo, tales como hidruro de litio, hidruro sódico, hidruro potásico e hidruro de calcio; amidas de metal alcalino, tales como amida de litio, amida sódica y amida potásica; carbonatos de metal alcalino y carbonatos de metal alcalinotérreo, tales como carbonato de litio, carbonato sódico, carbonato de cesio, hidrogenocarbonato sódico e hidrogenocarbonato de cesio; alcóxidos de metal alcalino y alcóxidos de metal alcalinotérreo, tales como metóxido sódico, etóxido sódico, *terc*-butóxido potásico y etóxido de magnesio; alquilos de metal alcalino, tales como metililitio, n-butillitio, sec-butillitio, t-butillitio, fenillitio, haluros de alquilmagnesio, bases orgánicas, tales como trimetilamina, trietilamina, triisopropilamina, N,N-diisopropoiletilamina, piperidina, N-metil piperidina, morfolina, N-metil morfolina, piridina, colidinas, lutidinas y 4-dimetilaminopiridina; y aminas bicíclicas, tales como DBU y DABCO.
- Se entiende que los grupos funcionales presentes en los compuestos que se describen en los ejemplos a continuación pueden manipularse adicionalmente, cuando sea adecuado, usando las técnicas de transformación de grupo funcional convencionales disponibles para los expertos en la materia, para proporcionar los compuestos deseados descritos en esta invención.
- También se entiende que los compuestos de esta invención contienen uno o más estereocentros que pueden prepararse como enantiómeros o diastereómeros simples, o como mezclas que contienen dos o más enantiómeros o diastereómeros en cualquier proporción.
- Se ilustran varios métodos para preparar los compuestos de esta invención en los siguientes Esquemas y Ejemplos. Los materiales de partida se preparan de acuerdo con procedimientos conocidos en la materia o como se ilustran en el presente documento.

#### ESQUEMAS DE REACCIÓN

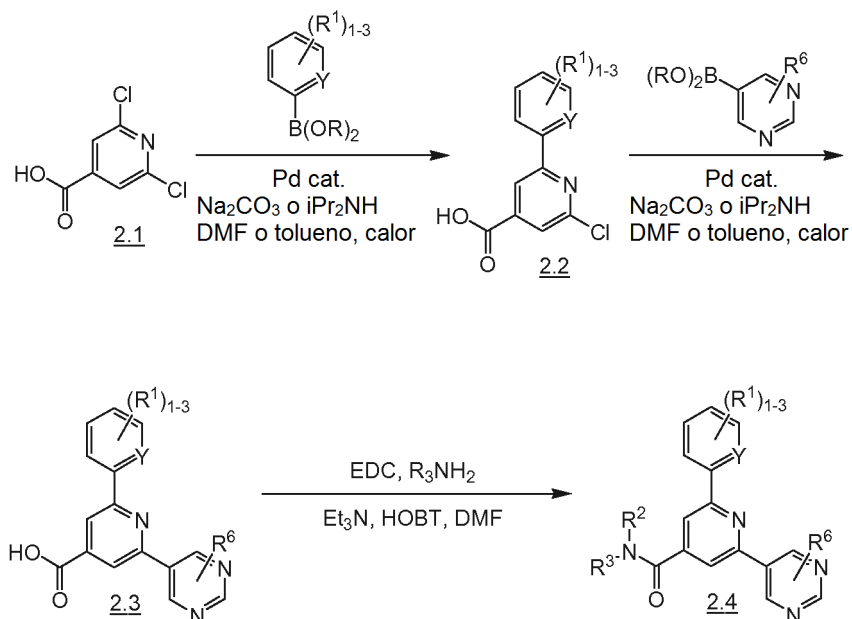
- Los compuestos de la presente invención pueden prepararse de acuerdo con los siguientes Esquemas y ejemplos específicos o modificaciones de los mismos, usando materiales de partida fácilmente disponibles, reactivos y procedimientos de síntesis convencionales. En estas reacciones, también es posible hacer uso de variantes que en sí mismas son conocidas para aquellos con una habilidad normal en esta materia, pero que no se menciona con mayor detalle. Los procedimientos generales para preparar los compuestos reivindicados en esta invención pueden entenderse y apreciarse fácilmente por un experto en la materia a partir de la visualización de los siguientes Esquemas.



- La síntesis de análogos de 2-amino piridina se muestra en el Esquema 1. La dicloropiridina 1.1 puede acoplarse de forma cruzada en catalización mediante paladio con ácidos o ésteres aril o heteroaril borónicos para dar los productos monoacoplados 1.2. La N-arilación de piperidinas sustituidas, morfolinás y piperazinas proporciona las amino piridinas 1.3. La hidrólisis de éster y la formación de enlace de amida usando EDC dan las dianas finales 1.4.

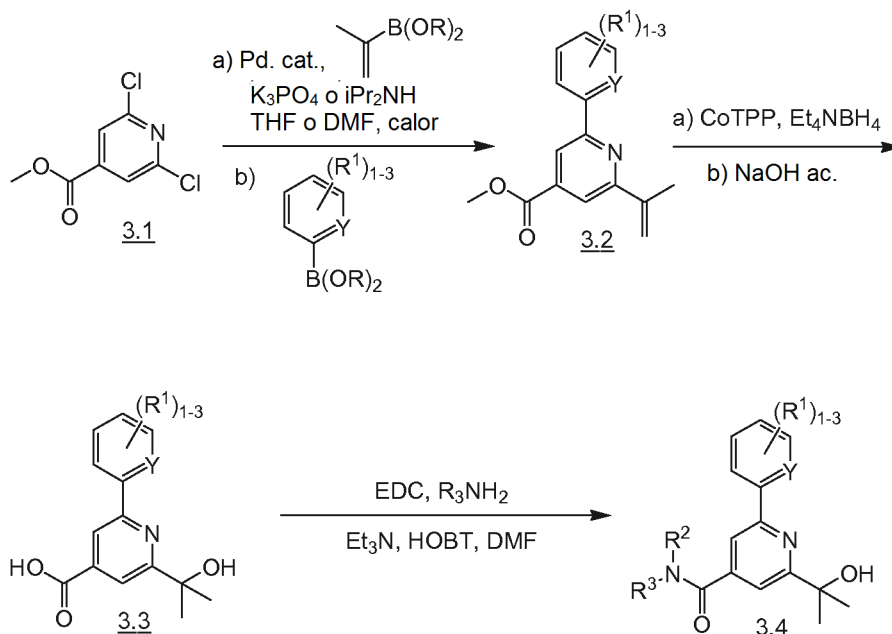
45

Esquema 2



- 5 Se preparan piridinas biaril sustituidas de acuerdo con el Esquema 2. Pueden realizarse acoplamientos cruzados catalizados por paladio en el ácido piridin carboxílico 2.1. A continuación se realiza un segundo acoplamiento cruzado en diversos ácidos o ésteres aril o heteroaril borónicos para dar los intermedios de triarilo 2.3. Después, la formación de enlaces amida proporciona las dianas finales 2.4.

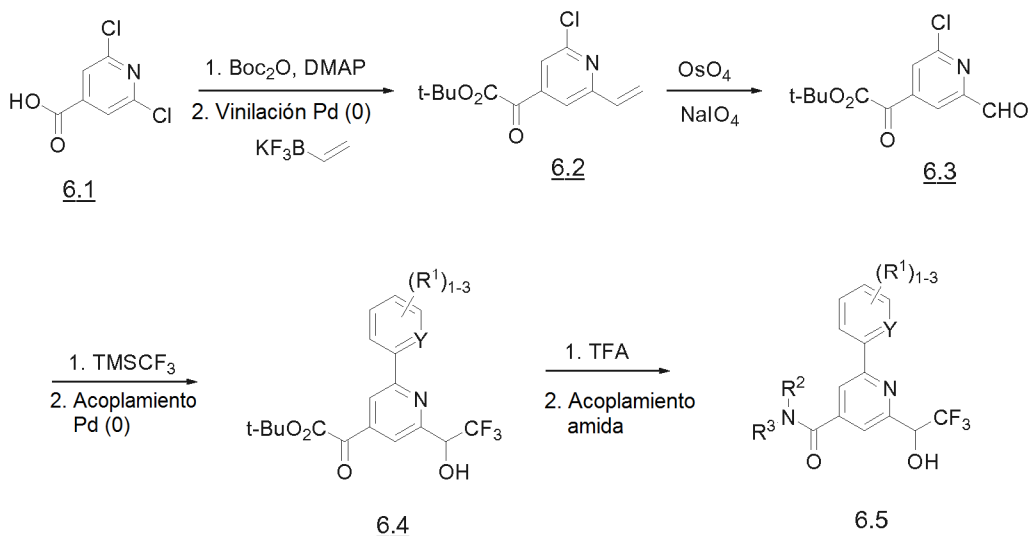
Esquema 3



10

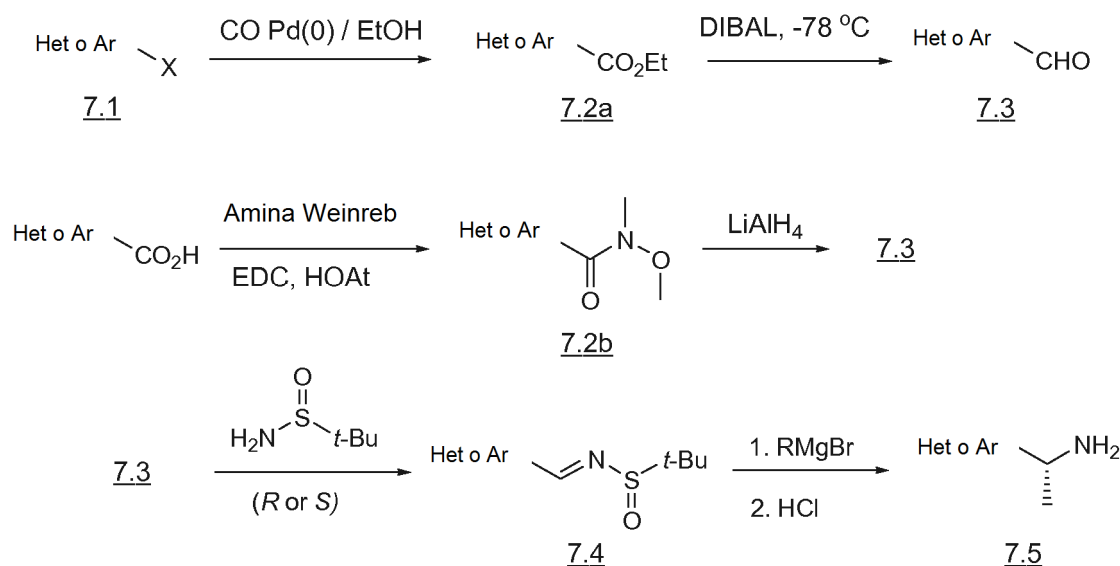
- 15 Se preparan los análogos de hidroxilo terciario como se muestra en el Esquema 3. El acoplamiento Suzuki de la dicloropiridina 3.1 con boronato de isopropenil éster, seguido de la adición secuencial de un ácido o éter aril o heteroaril borónico sustituido proporciona la piridina disustituida 3.2. La oxidación con cobalto tetrafenil porfirina catalítica proporciona el derivado de alcohol terciario que después se hidroliza para dar el ácido 3.3. La formación del enlace de amida da las dianas finales 3.4.

Esquema 6



5 El Esquema 6 representa la ruta sintética general para preparar compuestos del tipo 6.5. La dicloropiridina 6.1 se desprotege usando Boc<sub>2</sub>O y la posterior vinilación da el intermedio 6.2. La oxidación, la incorporación del grupo trifluorometilo y el acoplamiento cruzado de Suzuki da los intermedios del tipo 6.4. La desprotección éster y el acoplamiento de amida final da los ejemplos del tipo 6.5.

Esquema 7



10 Pueden prepararse intermedios amina del tipo 7.5 a partir de uno de los varios intermedios como se muestra en el Esquema 7. Este método utiliza química de adición de sulfonamida de Ellman diastereoselectiva para generar un par de sulfonamidas diastereoméricas. Los diastereómeros se separan por cromatografía sobre sílice antes de la desprotección de HCl para dar 7.5. Dependiendo del sustrato, se utiliza el reactivo de Ellman R o S para favorecer el compuesto alfa metil amino deseado con la estereo configuración preferida mostrada.

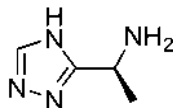
15

### Intermedios y ejemplos

20 Los siguientes ejemplos se proporcionan para que la invención pueda entenderse más completamente. Estos ejemplos son solo ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes de la invención de ningún modo.



## INTERMEDIO 1

5 (1S)-1-(4H-1,2,4-Triazol-3-yl)etanaminaEtapa A: [(1S)-2-Amino-1-metil-2-tioxoetil]carbamato de bencilo

10 A una solución de [(1S)-2-amino-1-metil-2-oxoetil]carbamato (15,0 g, 67,5 mmol) en diclorometano (337 ml) se le añadió 2,4-disulfuro de 2,4-bis-(4-metoxifenil)-1,3-ditia-2,4-difosfetano (15,01 g, 37,1 mmol) y la mezcla se calentó a 55 °C. Después de 1,5 h, la reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se concentró. La recristalización en diclorometano dio el compuesto del título (13,4 g). EM 239,1 (M+1).

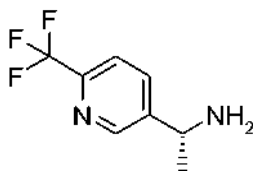
Etapa B: [(1S)-1-(4H-1,2,4-triazol-3-yl)etil]carbamato de bencilo

15 A una solución de [(1S)-2-amino-1-metil-2-tioxoetil]carbamato de bencilo (13,4 g, 56,2 mmol) en etanol (1,125 l) se le añadió hidrazida del ácido fórmico (20,26 g, 337 mmol) y cloruro de mercurio (II) (19,85 g, 73,1 mmol). Después de 1 h, la reacción se filtró y se concentró. Se añadieron carbonato sódico acuoso saturado y acetato de etilo. La fase orgánica se aisló y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. Una solución del residuo resultante en etanol (1,125 l) se calentó a 80 °C. Después de 16 h, la reacción se concentró. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (diclorometano al 100 % → diclorometano al 90 % / metanol con hidróxido de amonio al 1 %) dio el compuesto del título (8,7 g). EM 247,1 (M+1).

25 Etapa C: (1S)-1-(4H-1,2,4-Triazol-3-yl)etanamina

30 A una solución de [(1S)-1-(4H-1,2,4-triazol-3-yl)etil]carbamato de bencilo (8,6 g, 34,9 mmol) en etanol (140 ml) se le añadió ácido clorhídrico 4 M en 1,4-dioxano (43,7 ml, 175 mmol) y paladio al 10 % sobre carbono (1,858 g, 1,746 mmol) y la mezcla se presurizó a 0,32 MPa (47 psi) en una atmósfera de hidrógeno. Después de 4 h, la reacción se despresurizó y se filtró. La concentración dio el compuesto del título en forma de una sal clorhidrato (6,6 g). EM 113,0 (M+1). RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8,82 (s, 1H); 4,67 (c, J = 6,9 Hz, 1H); 1,70 (dd, J = 6,9, 1,0 Hz, 3H).

## INTERMEDIO 2

35 (1R)-1-[6-(Trifluorometil)piridin-3-yl]etanaminaEtapa A: 2-metil-N-[(1E)-[6-(trifluorometil)-3-piridinil]metil]-2-propanosulfonamida

40 A una solución de 6-(trifluorometil)nicotinaldehído (45,0 g, 257 mmol) en dicloroetano (640 ml) se le añadieron (S)-(-)-2-metil-2-propanosulfonamida (34,3 g, 283 mmol) y sulfato de cobre (II) anhidro (82 g, 514 mmol). La mezcla se agitó a 50 °C. Después de 48 h, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite. La torta de filtrado se lavó con diclorometano y el filtrado se concentró para dar el compuesto del título (76,8 g). EM 223,1 (M-*tert*-butilo +1).

Etapa B: 2-Metil-N-[(1R)-1-[6-(trifluorometil)-3-piridinil]etil]-2-propanosulfonamida

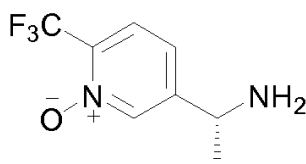
50 A una solución de 2-metil-N-[(1E)-[6-(trifluorometil)-3-piridinil]metil]-2-propanosulfonamida (76,8 g, 276 mmol) en diclorometano (920 ml) a -45 °C, se le añadió bromuro de metilmagnesio (3,0 M en THF; 184 ml, 552 mmol). La mezcla se agitó a -45 °C durante 4 h. La mezcla de reacción se calentó a -20 °C. Se añadió más cantidad de bromuro de metilmagnesio (3,0 M en THF; 276 ml, 828 mmol) a -20 °C. La mezcla de reacción se calentó a 0 °C y se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado (300 ml). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. El concentrado se recristalizó usando alcohol etílico (500 ml). Después, el sólido de color blanco se filtró y se secó a presión reducida (41,6 g). EM 295,0

(M+1).

Etapa C: (1R)-1-[6-(Trifluorometil)-3-piridinil]etanamina

5 A una solución de 2-metil-*N*-{(1R)-1-[6-(trifluorometil)-3-piridinil]etil}-2-propanosulfonamida (41,6 g, 141 mmol) en alcohol metílico (470 ml) a 0 °C se le añadió cloruro de hidrógeno (4,0 M en dioxano; 106 ml, 424 mmol). Después de 30 min, la mezcla se concentró a sequedad. El residuo se recristalizó usando alcohol etílico (15 ml) y éter (40 ml). El sólido de color blanco se filtró y se secó a presión reducida para dar la sal clorhidrato del compuesto del título (26,3 g).  
 10 EM 191,2 (M+1). RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub> OD): δ 8,83 (d, J = 2,2 Hz, 1H); 8,17 (d J = 8,2 Hz, 1H); 7,93 (d J = 8,2 Hz, 1H); 4,69 (c, J = 6,9 Hz, 1H); 1,70 (d, J = 6,9 Hz, 3H).

## INTERMEDIO 3



15

(1R)-1-[1-Oxido-6-(trifluorometil)-3-piridinil]etanaminaEtapa A: {(1R)-1-[6-(Trifluorometil)-3-piridinil]etil}carbamato de *tert*-butilo

20 A una solución de sal clorhidrato de (1R)-1-[6-(trifluorometil)piridin-3-il]etanamina (0,554 g, 0,21 mmol) en diclorometano (7,0 ml) se le añadieron dicarbonato de di-*tert*-butilo (0,506 g, 2,32 mmol) y trietilamina (0,969 ml, 6,95 mmol). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 4 h. Se añadió cloruro de amonio acuoso saturado. La mezcla se extrajo con diclorometano (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para dar el compuesto del título, que se usó directamente en la Etapa B (0,626 g).  
 25

Etapa B: {(1R)-1-[1-Óxido-6-(trifluorometil)-3-piridinil]etil}carbamato de *tert*-butilo

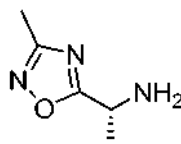
30 A una solución de {(1R)-1-[6-(trifluorometil)-3-piridinil]etil}carbamato de *tert*-butilo (0,626 g, 2,157 mmol) en cloroformo (10,0 ml) se le añadieron 2,6-di-*tert*-butil-4-metilfenol (24 mg, 0,108 mmol) y ácido 3-cloroperbenzóico (0,665 g, 2,70 mmol). La mezcla de reacción se agitó a 50 °C durante 48 h. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente. Se añadieron tiosulfato sódico acuoso saturado y bicarbonato sódico acuoso saturado. La mezcla se extrajo con diclorometano (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (hexanos al 75 % / acetato de etilo → acetato de etilo al 100 %) dio el compuesto del título (140 mg). EM 307,0 (M+1).  
 35

Etapa C: Clorhidrato de (1R)-1-[1-óxido-6-(trifluorometil)-3-piridinil]etanamina

40 A una solución de {(1R)-1-[1-óxido-6-(trifluorometil)-3-piridinil]etil}carbamato de *tert*-butilo (140 mg, 0,457 mmol) en dioxano (2 ml) se le añadió cloruro de hidrógeno (4,0 M en dioxano; 0,343 ml, 1,371 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 4 h. La mezcla de reacción se concentró a sequedad para dar la sal clorhidrato del compuesto del título (118 mg). EM 207,1 (M+1).

## INTERMEDIO 4

45

(1R)-1-(3-Metil-1,2,4-oxadiazol-5-il)etanaminaEtapa A: [(1R)-1-(3-Metil-1,2,4-oxadiazol-5-il)etil]carbamato de *tert*-butilo

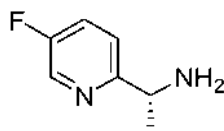
50 A una solución de *N*-(*tert*-butoxicarbonil)-*D*-alanina (20 g, 106 mmol), acetamida oxima (17,3 g, 234 mmol) en 120 ml de 1,4-dioxano y 30 ml de *N,N*-dimetilformamida, se le añadió EDC (44,8 g, 234 mmol). La mezcla se calentó a 60 °C durante 4 h, después a 100 °C durante 16 h. Después de enfriar a temperatura ambiente, se añadieron 300 ml de acetato de etilo. La mezcla se lavó con bicarbonato sódico acuoso saturado (2x). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. El residuo se purificó por cromatografía en  
 55

columna sobre gel de sílice (diclorometano al 100 % → diclorometano al 90 % / metanol) para dar [(1R)-1-(3-metil-1,2,4-oxadiazol-5-il)etil]carbamato de *tert*-butilo (6,0 g). EM 172,1 ((M-*t*-butilo + H)+1).

Etapa B: (1R)-1-(3-Metil-1,2,4-oxadiazol-5-il)etanamina

A una solución de [(1R)-1-(3-metil-1,2,4-oxadiazol-5-il)etil]carbamato de *tert*-butilo (6,0 g, 26,4 mmol) en dioxano (40 ml) se le añadió ácido clorhídrico 4 M en dioxano (30 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 16 h. La solución se concentró y se secó al vacío para dar la sal clorhidrato de (1R)-1-(3-metil-1,2,4-oxadiazol-5-il)etanamina (5,1 g). RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 4,90 - 4,83 (m, 1H); 2,41 (s, 3H); 1,72 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H). EM 128,2 (M+1).

INTERMEDIO 5



(1R)-1-(5-Fluoropiridin-2-il)etanamina

Etapa A: 5-Fluoropiridin-2-carboxilato de etilo

A una solución desgasificada de alcohol etílico (400 ml) en una bomba de acero Parr se le añadió acetato sódico (43,3 g, 528 mmol), 2-bromo-5-fluoropiridina (20 g, 114 mmol), 1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno (2,27 g, 4,09 mmol) y acetato de paladio (204 mg, 0,91 mmol). El recipiente se puso en una atmósfera de nitrógeno y se cerró herméticamente con una tapa Parr. La atmósfera se desplazó con gas de monóxido de carbono y la presión se ajustó a 2,07 MPa (300 psi). La mezcla se calentó a 90 °C. Después de 3 h, la presión se redujo a menos de 0,69 MPa (100 psi). El recipiente se enfrió a temperatura ambiente y la reacción se presurizó de nuevo con monóxido de carbono a 2,07 MPa (300 psi). El recipiente se calentó a 90 °C durante 4 h más. El recipiente se enfrió a temperatura ambiente y se ventiló el monóxido de carbono restante. La mezcla se concentró a la mitad del volumen. Se añadieron acetato de etilo (500 ml) y agua (300 ml). La fase orgánica se aisló y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (hexanos al 100 % → hexanos al 70 % / acetato de etilo) dio el compuesto del título. EM 170,0 (M+1).

Etapa B: 5-Fluoropiridin-2-carbaldehído

A una solución de 5-fluoropiridin-2-carboxilato de etilo (25 g, 148 mmol) en tetrahidrofurano (250 ml) a -78 °C, se le añadió gota a gota hidruro de diisobutilaluminio (1,0 M en hexanos; 296 ml, 296 mmol). Después de 1 h, la reacción se interrumpió con alcohol etílico (10 ml). Se añadió tartrato de sodio y potasio tetrahidrato acuoso saturado (1,3 l) y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron. La mezcla de solución (1,4 l) se llevó a la siguiente etapa sin concentración. EM 125,9 (M+1).

Etapa C: N-[(1E)-(5-Fluoropiridin-2-il)metileno]-2-metilpropano-2-sulfinamida

A una solución de 5-fluoropiridin-2-carbaldehído (18,49 g, 148 mmol) en acetato de etilo (850 ml), THF (250 ml) y hexanos (300 ml), se le añadieron (R)-(+)-2-metil-2-propanosulfinamida (19,71 g, 163 mmol) y sulfato de cobre (II) anhidro (59,0 g, 370 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 18 h, la mezcla se filtró a través de Celite. La torta de filtrado se lavó con acetato de etilo y el filtrado se concentró. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (diclorometano al 100 % → diclorometano al 98 % / metanol) dio el compuesto del título.

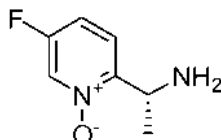
Etapa D: N-[(1R)-1-(5-Fluoropiridin-2-il)etil]-2-metilpropano-2-sulfinamida

A una solución de N-[(1E)-(5-fluoropiridin-2-il)metileno]-2-metilpropano-2-sulfinamida (52,12 g, 228 mmol) en diclorometano (1000 ml) a -78 °C, se le añadió bromuro de metilmagnesio (3,0 M en THF; 198 ml, 594 mmol). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 30 min, la mezcla se enfrió a -78 °C y se inactivó con cloruro de amonio acuoso saturado (100 ml). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (acetato de etilo al 100 %) dio el compuesto del título. EM 245 (M+1).

Etapa E: (1R)-1-(5-Fluoropiridin-2-il)etanamina

A una solución de *N*-[(1R)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etil]-2-metilpropano-2-sulfonamida (34,3 g, 140 mmol) en alcohol metílico (700 ml) a 0 °C, se le añadió cloruro de hidrógeno (4,0 M en dioxano; 105 ml, 421 mmol). Después de 30 min, la mezcla de reacción se concentró a sequedad. El residuo se recrystalizó usando alcohol etílico (15 ml) y éter (40 ml). El sólido de color blanco se filtró y se secó a presión reducida para dar la sal clorhidrato del compuesto del título. EM 141,1 (M+1).

## INTERMEDIO 6

(1R)-1-(5-Fluoro-1-oxidopirindin-2-il)etanaminaEtapa A: [(1R)-1-(5-Fluoropiridin-2-il)etil]carbamato de *tert*-butilo

A una solución de la sal de ácido toluenosulfónico de (1R)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etanamina (7,5 g, 24,0 mmol) en diclorometano (96 ml) a 0 °C, se le añadió trietilamina (7,03 ml, 50,0 mmol) y dicarbonato de di-*tert*-butilo (6,13 ml, 26,4 mmol). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 16 horas, se añadió bicarbonato sódico acuoso saturado. La fase orgánica se aisló y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio y se filtraron. La concentración dio el compuesto del título (7,72 g). EM 241,1 (M+1).

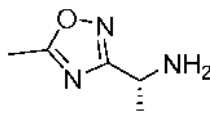
Etapa B: [(1R)-1-(5-Fluoro-1-oxidopirindin-2-il)etil]carbamato de *tert*-butilo

A una solución de [(1R)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etil]carbamato de *tert*-butilo (5,77 g, 24,0 mmol) en diclorometano (96 ml), se le añadió ácido 3-cloroperbenzónico (6,51 g, 26,4 mmol). Después de 4,5 h, se añadió exceso de ácido 3-cloroperbenzónico (0,59 g, 2,6 mmol). Después de 72 h, se añadió sulfito sódico acuoso saturado. Después de 1 h, se añadió bicarbonato sódico acuoso saturado. La fase orgánica se aisló y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (2x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (diclorometano al 100 % → diclorometano al 90 % / metanol con hidróxido de amonio al 1 %) dio el compuesto del título (5,45 g). EM 257,1 (M+1).

Etapa C: (1R)-1-(5-Fluoro-1-oxidopirindin-2-il)etanamina

A una solución de [(1R)-1-(5-fluoro-1-oxidopiridin-2-il)etil]carbamato de *tert*-butilo (1,47 g, 5,74 mmol) en diclorometano (28,7 ml), se le añadió ácido clorhídrico 4 M en 1,4-dioxano (43,0 ml, 172 mmol). Después de 2 h, la concentración dio el compuesto del título en forma de una sal clorhidrato (1,396 g). EM 157,1 (M+1). RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8,55 (dd, *J* = 4,3, 2,4 Hz, 1H); 7,70 (dd, *J* = 9,0, 6,7 Hz, 1H); 7,52 (ddd, *J* = 9,1, 7,1, 2,4 Hz, 1H); 4,80 (c, *J* = 7,0 Hz, 1H); 1,74 (d, *J* = 7,0 Hz, 3H).

## INTERMEDIO 7

(1R)-1-(5-Metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)etanaminaEtapa A: [(1R)-1-cianoetil]carbamato de bencilo

A una solución de [(1R)-2-amino-1-metil-2-oxoetil]carbamato de bencilo (10 g, 45 mmol) en 50 ml de *N,N*-dimetilformamida, se le añadió 2,4,6-tricloro-1,3,5-triazina (4,15 g, 22,5 mmol). Después de 2 h, se añadieron 100 ml de agua y la mezcla se filtró. Los sólidos se lavaron con 100 ml de bicarbonato sódico acuoso (2x) y se secaron al vacío para dar [(1R)-1-cianoetil]carbamato de bencilo puro (7,2 g). EM 205,2 ((M+1).

Etapa B: [(1R,2Z)-2-amino-2-(hidroxiimino)-1-metiletil]carbamato de bencilo

A una solución de [(1R)-1-cianoetil]carbamato de bencilo (2,52 g, 12,3 mmol) en etanol (30 ml), se le añadió sal clorhidrato de hidroxilamina (0,90 g, 13,0 mmol) y trietilamina (3,43 ml, 24,6 mmol) y la mezcla se calentó a 75 °C. Después de 16 h, la solución se concentró y el residuo se disolvió en 200 ml de diclorometano. La mezcla se lavó con 100 ml de bicarbonato sódico acuoso saturado (2x) y salmuera (100 ml). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron para dar [(1R, 2Z)-2-amino-2-(hidroxiimino)-1-metiletil]carbamato de bencilo (2,9 g). EM 238,2 (M+1).

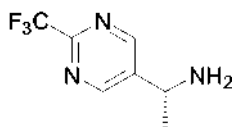
10 Etapa C: [(1R)-1-(5-Metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)etil]carbamato de bencilo

A una solución de [(1R,2Z)-2-amino-2-(hidroxiimino)-1-metiletil]carbamato de bencilo (2,25 g, 9,48 mmol) en dioxano (80 ml), se le añadió 1-acetil-1H-imidazol (3,13 g, 28,5 mmol) y la mezcla se calentó a 90 °C. Después de 16 h, la solución se concentró y el residuo se disolvió en 200 ml de diclorometano. La mezcla se lavó con 100 ml de bicarbonato sódico acuoso saturado (2x) y salmuera (100 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía sobre gel de sílice (diclorometano al 100 % → diclorometano al 95 % / metanol) para dar el compuesto del título (1,1 g). EM 262,1 (M+1).

20 Etapa D: (1R)-1-(5-Metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)etanamina

A una solución de [(1R)-1-(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)etil]carbamato de bencilo (1,10 g, 4,21 mmol) en diclorometano (40 ml), se le añadió una solución 1 M de tricloruro de boro en diclorometano (21,1 ml, 21,1 mmol) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar de 0 °C a 20 °C durante 4 h. La solución se inactivó mediante 5 ml de metanol a 0 °C. Después de calentar a temperatura ambiente, la mezcla se concentró y el residuo se lavó con 100 ml de éter dietílico (2x) para dar la sal clorhidrato de (1R)-1-(5-metil-1,2,4-oxadiazol-3-il)etanamina, que se obtuvo en forma de sólido (0,84 g). RMN <sup>1</sup>H (500 MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 4,70-4,61 (m, 1H); 2,63 (s, 3H); 1,67 (d, J = 6,9 Hz, 3H).

## INTERMEDIO 8



30

(1R)-1-[2-(Trifluorometil)pirimidin-5-il]etanamina35 Etapa A: 2-(Trifluorometil)pirimidin-5-carboxilato de etilo

A una solución de 4-cloro-2-(trifluorometil)pirimidin-5-carboxilato de etilo (30,2 g, 119,0 mmol) en etanol (594 ml) en una atmósfera de nitrógeno, se le añadieron paladio (al 10 % sobre carbono, humedecido al 50 % con agua; 2,58 g, 1,21 mmol) y diisopropiletilamina (50,0 ml, 286,0 mmol). La mezcla se agitó en atmósfera de hidrógeno (1 atm). Después de 6 h, la mezcla se filtró con Celite. El filtrado se concentró y se añadió acetato de etilo. La mezcla se lavó con NaHCO<sub>3</sub> sat. (2x), salmuera, se secó sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtró y se concentró para dar el compuesto del título (25,6 g). EM 221,1 (M+1).

45 Etapa B: 2-(Trifluorometil)pirimidin-5-carbaldehído

A una solución de 2-(trifluorometil)pirimidin-5-carboxilato de etilo (25,5 g, 116,0 mmol) en diclorometano (580 ml) a -78 °C, se le añadió lentamente DIBAL-H (1,0 M; 130,0 ml, 130,0 mmol). La mezcla se agitó a -78 °C. Después de 2 h, la mezcla se inactivó mediante la adición lenta de HCl (2,0 M en agua). La mezcla se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla se extrajo con éter dietílico (3x). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron para dar el compuesto del título (28,2 g).

50 Etapa C: 2-Metil-N-[(1Z)-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]metilen]propano-2-sulfonamida

A una solución de 2-(trifluorometil)pirimidin-5-carbaldehído (27,2 g, 99 mmol) en dicloroetano (250 ml), se le añadió (R)-(+)-2-metil-2-propanosulfonamida (13,3 g, 109,0 mmol) y sulfato de cobre (II) (31,5 g, 197,0 mmol). La mezcla se calentó a 50 °C. Después de 18 h, la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se filtró a través de un lecho de gel de sílice. La torta filtrada se lavó con diclorometano y el filtrado se concentró para dar el compuesto del título (27,3 g). EM 224 [(M+1)-56].

55

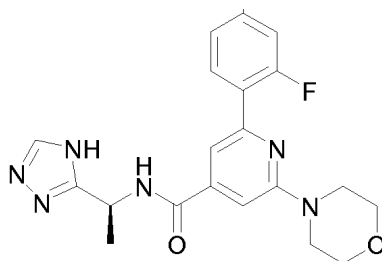
Etapa D: 2-Metil-N-((1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil)propano-2-sulfonamida

A una solución de 2-metil-N-((1Z)-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]metil)propano-2-sulfonamida (14,3 g, 51,2 mmol) en tolueno (260 ml) a -70 °C, se le añadió metilítio (1,6 M; 35,0 ml, 56,0 mmol). La mezcla se agitó a -70 °C durante 15 min. La mezcla se inactivó con NH<sub>4</sub>Cl sat. y la reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. La mezcla se extrajo con diclorometano (3x). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (hexanos al 100 % → hexanos al 35 % / acetato de etilo, después acetato de etilo al 100 % → acetato de etilo al 94 % / metanol) dio el compuesto del título (7,23 g). EM 240,0 [(M+1)-56].

Etapa E: (1R)-1-[2-(Trifluorometil)pirimidin-5-il]etanamina

A una solución de 2-metil-N-((1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil)propano-2-sulfonamida (7,23 g, 24,5 mmol) en metanol (100 ml), se le añadió HCl (4,0 M en dioxano; 18,5 ml, 74,0 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 1 h, la mezcla de reacción se concentró para dar el compuesto del título (4,6 g).

## EJEMPLO 1.32

2-(2-Fluoro-4-metilfenil)-6-morfolin-4-il-N-[(1S)-1-(4H-1,2,4-triazol-3-il)etil]isonicotinamidaEtapa A: 2-Cloro-6-(2-fluoro-4-metilfenil)isonicotinato de metilo

A una solución de 2,6-dicloroisonicotinato de metilo (3,34 g, 16,2 mmol) en tolueno (100 ml), se le añadieron ácido (2-fluoro-4-metilfenil)borónico (1,4 g, 9,09 mmol), (tetraquistrifenilfosfina)paladio (0) (0,94 g, 0,81 mmol) y carbonato sódico (2,0 M en agua; 8,1 g, 16,2 mmol). La mezcla se desgasificó con nitrógeno (3x) y se calentó a 80 °C. Después de 42 h, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se añadió NaHCO<sub>3</sub> saturado. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía de fase inversa (C-18, agua al 85 % / acetonitrilo → agua al 5 % / acetonitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1 %) dio el compuesto del título (1,07 g). EM 280,0 (M+1).

Etapa B: 2-(2-Fluoro-4-metilfenil)-6-morfolin-4-ilisonicotinato de metilo

A una solución de 2-cloro-6-(2-fluoro-4-metilfenil)isonicotinato de metilo (0,26 g, 0,94 mmol) en DMA (4 ml), se le añadieron morfolina (0,10 ml, 1,17 mmol), tris(dibencilidenacetona)dipaladio (0) (21,4 mg, 0,02 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-triisopropilbifenilo (33,5 mg, 0,07 mmol) y carbonato de cesio (0,46 g, 1,41 mmol). La mezcla se calentó a 80 °C. Después de 18 h, la mezcla se filtró. La torta filtrada se lavó con metanol. El filtrado se concentró para retirar metanol. La solución en DMA se llevó a la siguiente etapa.

Etapa C: Ácido 2-(2-fluoro-4-metilfenil)-6-morfolin-4-ilisonicotínico

A una solución de 2-(2-fluoro-4-metilfenil)-6-morfolin-4-ilisonicotinato de metilo (0,31 g, 0,94 mmol) en DMA (4 ml), se le añadió hidróxido sódico (solución 1,0 M en agua; 1,87 ml, 1,87 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 1 h, se añadió HCl (1,0 M en agua; 1,87 ml, 1,87 mmol) y la mezcla se concentró. Se añadió metanol y la mezcla se filtró y el filtrado se concentró. La mezcla se purificó por cromatografía de fase inversa (C-18, agua al 95 % / acetonitrilo → agua al 25 % / acetonitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1 %). Se añadió HCl (1,0 M) y las fracciones se concentraron para dar la sal clorhidrato del compuesto del título (129 mg). EM 317,0 (M+1).

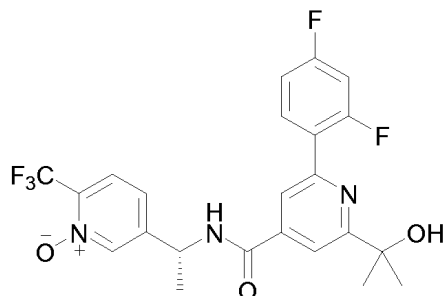
Etapa D: 2-(2-Fluoro-4-metilfenil)-6-morfolin-4-il-N-[(1S)-1-(4H-1,2,4-triazol-3-il)etil]isonicotinamida

A una solución de sal clorhidrato del ácido 2-(2-fluoro-4-metilfenil)-6-morfolin-4-ilisonicotínico (50 mg, 0,14 mmol) en DMF (1,5 ml), se le añadieron sal clorhidrato de (1S)-1-(4H-1,2,4-triazol-3-il)etanamina (31,5 mg, 0,17 mmol), EDC (35,3 mg, 0,18 mmol), HOBT (21,7 mg, 0,14 mmol) y diisopropiletilamina (99,0 µl, 0,57 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 72 h, la mezcla se filtró y el filtrado se purificó por cromatografía de fase inversa (C-18, agua al 95 % / acetonitrilo → agua al 25 % / acetonitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1 %). El producto se trató con HCl (2,0 M en éter) para dar la sal clorhidrato del compuesto del título (69 mg). HRMS 411,1936 (M+1). RMN <sup>1</sup>H δ (ppm) (CH<sub>3</sub> OH-d<sub>4</sub>): 9,32 (s, 1H), 7,74 (t, J = 7,96 Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 7,50 (s, 1H), 7,21 (d, J = 7,95 Hz, 1H), 7,16 (d,

$J = 12,16$  Hz, 1H), 5,52 - 5,46 (m, 1H), 3,87 (t,  $J = 4,72$  Hz, 4H), 3,77 (t,  $J = 4,67$  Hz, 4H), 2,44 (s, 3H), 1,78 (d,  $J = 7,05$  Hz, 3H).

## EJEMPLO 1.62

5

2-(2,4-Difluorofenil)-6-(1-hidroxi-1-metiletil)-N-((1R)-1-[1-oxido-6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil)isonicotinamida10 Etapa A: 2-(2,4-Difluorofenil)-6-isopropenilisonicotinato de metilo

A una solución desgasificada de 2,6-dicloroisonicotinato de metilo (0,1 g, 0,49 mmol), fosfato tripotásico (0,16 g, 0,73 mmol), acetato de paladio (II) (8,72 mg, 0,04 mmol) y tris(2-metoxifenil)fosfina (27,4 mg, 0,08 mmol) en THF (1 ml) y agua (0,25 ml), se le añadió 2-isopropenil-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (0,11 ml, 0,61 mmol). La mezcla se calentó a 65 °C. Después de 4 h, se añadió una solución de ácido (2,4-difluorofenil)borónico (0,12 g, 0,73 mmol) en THF (0,5 ml). La mezcla se continuó agitando a 65 °C. Después de 18 h, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (hexanos al 100 % → hexanos al 90 % / acetato de etilo) dio el compuesto del título (144 mg, pureza del 80 %). EM 290,1 (M+1).

20

Etapa B: Ácido 2-(2,4-difluorofenil)-6-(1-hidroxi-1-metiletil)isonicotínico

A una solución de 2-(2,4-difluorofenil)-6-isopropenilisonicotinato de metilo (0,29 g, 1,01 mmol) en metanol (5,1 ml) y DME (5,1 ml), se le añadió mesotetrafenilporfina de cobalto (II) (6,8 mg, 10,1 μmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 18 h, se añadió borohidruro de tetraetilamonio (73,5 mg, 0,51 mmol). Después de 15 min, se añadió más cantidad de borohidruro de tetraetilamonio (0,14 g, 1,01 mmol). Después de 1,5 h, se añadió hidróxido sódico (1,0 M en agua; 2,03 ml, 2,03 mmol). La mezcla se calentó a 50 °C. Después de 1 h, se añadió HCl (0,17 ml, 2,03 mmol) y la mezcla se concentró. La purificación por cromatografía de fase inversa (C-18, agua al 95 % / acetonitrilo → agua al 25 % / acetonitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1 %) dio el compuesto del título (0,22 g). EM 294,1 (M+1).

30

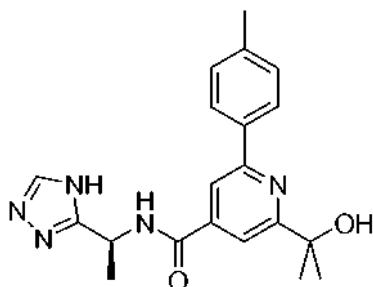
Etapa C: 2-(2,4-Difluorofenil)-6-(1-hidroxi-1-metiletil)-N-((1R)-1-[1-óxido-6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil)isonicotinamida

A una solución de ácido 2-(2,4-difluorofenil)-6-(1-hidroxi-1-metiletil)isonicotínico (19,5 mg, 0,07 mmol) en DMF (0,67 ml), se le añadieron sal clorhidrato de (1R)-1-[1-óxido-6-(trifluorometil)piridin-3-il]etanamina (24,2 mg, 0,10 mmol), HATU (0,5 M en DMA; 0,2 ml, 0,10 mmol) y diisopropiletilamina (46,5 μl, 0,27 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 30 min, se añadieron una pequeña cantidad de agua y ácido trifluoroacético y la mezcla se purificó por cromatografía de fase inversa (C-18, agua al 95 % / acetonitrilo → agua al 5 % / acetonitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1 %) dio el compuesto del título (28 mg). HRMS 482,1462 (M+1). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,38 (s, 1H); 8,09 - 8,01 (m, 1H); 7,94 (s, 1H); 7,73 (s, 1H); 7,67 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H); 7,38 (d,  $J = 8,3$  Hz, 1H); 7,07 - 6,98 (m, 1H); 6,99 - 6,90 (m, 1H); 6,74 (d,  $J = 6,9$  Hz, 1H); 5,32 - 5,25 (m, 1H); 4,38 (s, 1H); 1,67 (d,  $J = 7,1$  Hz, 3H); 1,62 (s, 6H).

40

45

## EJEMPLO 1.63



5 2-(2-Hidroxiopropan-2-il)-6-(4-metilfenil)-N-[(1S)-1-(4H-1,2,4-triazol-3-il)etil]piridin-4-carboxamida

10 Etapa A: 2-(4-Metilfenil)-6-(prop-1-en-2-il)piridin-4-carboxilato de metilo

15 A una solución desgasificada de acetato de paladio (II) (21,8 mg, 0,10 mmol) y tris(2-metoxifenil)fosfina (68,4 mg, 0,19 mmol) en THF (1 ml), se le añadió una mezcla desgasificada de 2,6-dicloroisonicotinato de metilo (250 mg, 1,21 mmol), fosfato tripotásico (386 mg, 1,82 mmol) y 2-isopropenil-4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolano (0,285 ml, 1,52 mmol) en THF (1,5 ml) y agua (0,625 ml). La mezcla se calentó a 63 °C. Después de 4 h, se le añadió una solución desgasificada de ácido 4-metilfenilborónico (247 mg, 1,82 mmol) en DCM (1,25 ml). La mezcla resultante se calentó a 63 °C. Después de 18 h, se añadieron ácido 4-metilfenilborónico (247 mg, 1,82 mmol), acetato de paladio (II) (21,8 mg, 0,10 mmol) y tris(2-metoxifenil)fosfina (68,4 mg, 0,19 mmol). La mezcla resultante se calentó a 63 °C. Después de 18 h, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía de fase inversa (C-18, agua al 80 % / acetonitrilo → agua al 5 % / acetonitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1 %) dio el compuesto del título (191 mg). EM 268,1 (M+1).

20 Etapa B: 2-(2-Hidroxiopropan-2-il)-6-(4-metilfenil)piridin-4-carboxilato de metilo

25 A una solución de 2-(4-metilfenil)-6-(prop-1-en-2-il)piridin-4-carboxilato de metilo (191 mg, 0,71 mmol) en metanol (3,6 ml) y DME (3,6 ml), se le añadió mesotetrafenilporfina de cobalto (II) (2,4 mg, 3,6 μmol). Después de 30 min, se añadió en 3 porciones borohidruro de tetraetilamonio (170 mg, 1,17 mmol) durante 1 h. Se añadió NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado. La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía de fase inversa (C-18, agua al 90 % / acetonitrilo → agua al 5 % / acetonitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1 %) dio el compuesto del título (165 mg). EM 286,1 (M+1).

30 Etapa C: Ácido 2-(2-hidroxiopropan-2-il)-6-(4-metilfenil)piridin-4-carboxílico

35 A una solución de 2-(2-hidroxiopropan-2-il)-6-(4-metilfenil)piridin-4-carboxilato de metilo (165 mg, 0,58 mmol) en alcohol metílico (5,8 ml), se le añadió hidróxido sódico (1 M; 1,16 ml, 1,16 mmol). La mezcla resultante se calentó a 60 °C. Después de 30 min, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió cloruro de hidrógeno (96 μl, 1,16 mmol). La mezcla resultante se concentró, dando la sal cloruro sódico del compuesto del título. EM 272,1 (M+1).

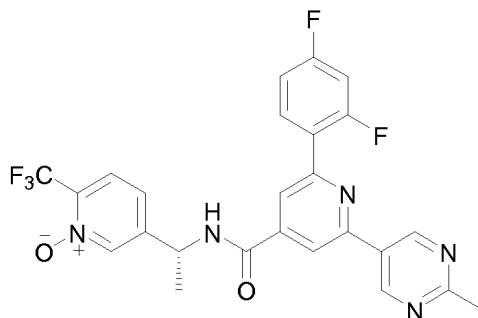
40 Etapa D: 2-(2-Hidroxiopropan-2-il)-6-(4-metilfenil)-N-[(1S)-1-(4H-1,2,4-triazol-3-il)etil]piridin-4-carboxamida

45 A una solución de la sal cloruro sódico del ácido 2-(2-hidroxiopropan-2-il)-6-(4-metilfenil)piridin-4-carboxílico (224 mg, 0,58 mmol) en DMF (2,3 ml) se le añadieron la sal clorhidrato de (1S)-1-(4H-1,2,4-triazol-3-il)etanamina (160 mg, 0,87 mmol), HOBt (89 mg, 0,58 mmol), trietilamina (322 μl, 2,31 mmol) y EDC (139 mg, 0,72 mmol). La mezcla resultante se calentó a 60 °C. Después de 30 min, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió una pequeña cantidad de agua y la mezcla se purificó por cromatografía de fase inversa (C-18, agua al 95 % / acetonitrilo → agua al 5 % / acetonitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1 %). El tratamiento con cloruro de hidrógeno 2 M en éter dietílico dio el compuesto del título en forma de la sal clorhidrato. (230 mg). HRMS 366,1920 (M+1). RMN <sup>1</sup>H (399 MHz, DMSO): δ 9,28 (d, J = 7,9 Hz, 1H); 8,38 (s, 1H); 8,18 (s, 1H); 8,07 (d, J = 8,0 Hz, 2H); 8,02 (d, J = 1,3 Hz, 1H); 7,33 (d, J = 7,9 Hz, 2H); 5,37 (t, J = 7,3 Hz, 1H); 2,38 (s, 3H); 1,59 (d, J = 7,0 Hz, 3H); 1,52 (s, 6H).

50



## EJEMPLO 1.68

5 2-(2,4-Difluorofenil)-6-(2-metilpirimidin-5-il)-N-((1R)-1-M-óxido-6-(trifluorometil)piridin-3-iletil)isonicotinamidaEtapa A: Ácido 2-cloro-6-(2,4-difluorofenil)isonicotínico

10 A una solución de ácido 2,6-dicloroisonicotínico (2,43 g, 12,67 mmol) en DMF (38 ml) y agua (12,7 ml) se le añadieron ácido (2,4-difluorofenil)borónico (2,0 g, 12,67 mmol), sal sódica de tri(m-sulfofenil)fosfina (0,54 g, 0,95 mmol), acetato de paladio (II) (71,0 mg, 0,32 mmol) y diisopropilamina (6,3 ml, 44,3 mmol). La mezcla se calentó a 50 °C. Después de 2,5 h, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. Se añadió HCl (1,0 M en agua) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía de fase inversa (C-18, agua al 85 % / acetoneitrilo → agua al 5 % / acetoneitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1 %) dio el compuesto del título (1,24 g). EM 270,0 (M+1).

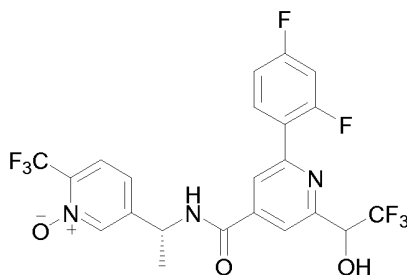
Etapa B: Ácido 2-(2,4-Difluorofenil)-6-(2-metilpirimidin-5-il)isonicotínico

20 A una solución de ácido 2-cloro-6-(2,4-difluorofenil)isonicotínico (0,10 g, 0,37 mmol) en DMF (1,9 ml) y agua (0,6 ml), se le añadieron ácido (2-metilpirimidin-5-il)borónico (0,31 g, 2,23 mmol), acetato de paladio (II) (12,5 mg, 0,06 mmol), sal trisódica de 3,3',3"-fosfinidinatris(ácido benenosulfónico) (95,0 mg, 0,17 mmol) y diisopropilamina (0,19 ml, 1,30 mmol). La mezcla se calentó a 80 °C. Después de 2 h, la mezcla se filtró y el filtrado se purificó por cromatografía de fase inversa (C-18, agua al 95 % / acetoneitrilo → agua al 25 % / acetoneitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1 %). A las fracciones del producto se les añadió HCl (2,0 M en éter) y la mezcla se concentró para dar la sal clorhidrato del compuesto del título. EM 328,1 (M+1).

Etapa C: 2-(2,4-Difluorofenil)-6-(2-metilpirimidin-5-il)-N-((1R)-1-[1-óxido-6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil)isonicotinamida

30 A una solución de ácido 2-(2,4-difluorofenil)-6-(2-metilpirimidin-5-il)isonicotínico (21,3 mg, 0,05 mmol) en DMF (0,5 ml), se le añadieron sal clorhidrato de (1R)-1-[1-óxido-6-(trifluorometil)piridin-3-il]etanamina (27,0 mg, 0,07 mmol), HATU (0,5 M en DMF; 0,16 ml, 0,08 mmol) y diisopropiletilamina (65 µl, 0,37 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 25 min, la mezcla se purificó por cromatografía de fase inversa (C-18, agua al 95 % / acetoneitrilo → agua al 25 % / acetoneitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1 %) para dar el compuesto del título, que se convirtió en sal clorhidrato usando HCl 2,0 M en éter (31 mg). HRMS 516,1453 (M+1). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 9,34 (2H), 8,42 (s, 1H), 8,24 - 8,15 (m, 1H), 8,09 (s, 1H), 8,06 (s, 1H), 7,68 (d, J = 8,3 Hz, 1H), 7,40 (d, J = 8,4 Hz, 1H), 7,11 - 7,04 (m, 1H), 6,97 (t, J = 9,8 Hz, 1H), 6,85 (d, J = 7,0 Hz, 1H), 5,37 - 5,30 (m, 1H), 2,83 (s, 3H), 1,69 (d, J = 7,1 Hz, 3H).

## EJEMPLO 1.79



40

N-((1R)-1-[6-(1,1-Difluoroetil)-1-oxidopiridin-3-ilet]]-2-(2,4-difluorofenil)-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)isonicotinamidaEtapa A: 2,6-Dicloroisonicotinato de *tert*-butilo

5 A una solución de ácido 2,6-dicloroisonicotínico (10,0 g, 52,1 mmol) en THF (200 ml), se le añadieron dicarbonato de di-*tert*-butilo (12,5 g, 57,3 mmol) y DMAP (1,9 g, 15,6 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 72 h, se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron.

Etapa B: 2-Cloro-6-vinilisonicotinato de *tert*-butilo

15 A una solución de 2,6-dicloroisonicotinato de *tert*-butilo (11,0 g, 44,3 mmol) en THF (200 ml), se le añadieron viniltrifluoroborato potásico (7,1 g, 53,2 mmol), aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno] paladio (II) diclorometano (0,97 g, 1,33 mmol) y trietilamina (9,3 ml, 66,5 mmol). La mezcla se calentó a 65 °C. Después de 1 h, se añadió bicarbonato sódico acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (hexanos al 100 % → hexanos al 90 % / acetato de etilo) no dio la separación del producto deseado. La mezcla se llevó a la siguiente etapa.

Etapa C: 2-Cloro-6-formilisonicotinato de *tert*-butilo

25 A una solución de 2-cloro-6-vinilisonicotinato de *tert*-butilo (9,6 g, 40,1 mmol) en THF (100 ml) y agua (100 ml), se le añadieron tetróxido de osmio (al 4 % en agua; 6,3 ml, 0,80 mmol) y peryodato sódico (25,7 g, 120,0 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 30 min, se añadió bicarbonato sódico acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron.

Etapa D: 2-Cloro-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)isonicotinato de *tert*-butilo

30 A una solución de 2-cloro-6-formilisonicotinato de *tert*-butilo (1,5 g, 6,2 mmol) en THF (40 ml), se le añadieron (trifluorometil)trimetilsilano (1,49 ml, 4,31 mmol) y tamices moleculares 4Å molidos. La mezcla se enfrió a 0 °C y se añadió gota a gota TBAP (1,0 M en THF; 1,86 ml, 1,86 mmol). La mezcla se calentó a temperatura ambiente. Después de 30 min, se añadieron más cantidades de (trifluorometil)trimetilsilano (0,5 ml, 1,44 mmol), TBAP (1,0 M en THF; 0,62 ml, 0,62 mmol) y tamices moleculares 4Å molidos. Después de 30 min, la mezcla se filtró con Celite. Se añadió HCl acuoso 1 N al filtrado y el filtrado se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (hexanos al 100 % → hexanos al 95 % / acetato de etilo) dio el compuesto del título (1,4 g). EM 312,2 (M+1).

Etapa E: 2,4-Difluorofenil)-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)isonicotinato de *tert*-butilo

40 A una solución de 2-cloro-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)isonicotinato de *tert*-butilo (0,5 g, 1,6 mmol) en tolueno (15 ml), se le añadieron ácido (2,4-difluorofenil)borónico (0,38 g, 2,41 mmol), acetato de paladio (II) (36,0 mg, 0,16 mmol), 2-diciclohexilfosfino-2',4',6'-trisisopropilbifenilo (76,0 mg, 0,16 mmol) y fosfato potásico tribásico (1,02 g, 4,81 mmol). La mezcla se desgasificó y se calentó a 100 °C. Después de 1 h, se añadió bicarbonato sódico acuoso saturado y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (hexanos al 100 % → hexanos al 80 % / acetato de etilo) dio el compuesto del título (0,56 g). EM 390,3 (M+1).

Etapa F: Ácido 2-(2,4-difluorofenil)-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)isonicotínico

50 A una solución de 2-(2,4-difluorofenil)-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)isonicotinato de *tert*-butilo (0,56 g, 1,44 mmol) en diclorometano (3 ml), se le añadió ácido trifluoroacético (3 ml). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 18 h, se añadió más cantidad de ácido trifluoroacético (1 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La mezcla se concentró a sequedad para dar el compuesto del título (0,43 g). EM 334,2 (M+1).

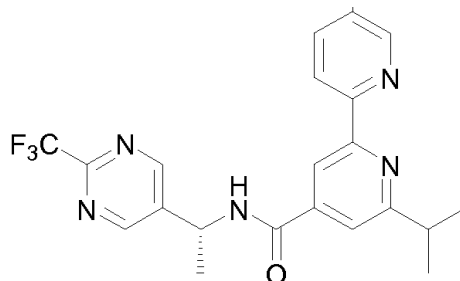
Etapa G: N-((1R)-1-[6-(1,1-Difluoroetil)-1-oxidopiridin-3-ilet]]-2-(2,4-difluorofenil)-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)isonicotinamida

60 A una solución de ácido 2-(2,4-difluorofenil)-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)isonicotínico (0,15 g, 0,45 mmol) en DMF (2,5 ml), se le añadieron al clorhidrato de (1R)-1-[1-óxido-6-(trifluorometil)piridin-3-ilet]etanamina (0,16 g, 0,59 mmol), EDC (0,17 g, 0,90 mmol), HOAT (61,3 mg, 0,45 mmol) y trietilamina (0,38 ml, 2,7 mmol). La mezcla se agitó a 60 °C. Después de 1 h, la mezcla se agitó a temperatura ambiente y se añadió NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. La mezcla se suspendió en diclorometano y el sólido se filtró. La torta sólida se lavó con diclorometano frío y se secó en alto vacío. El producto se trató con HCl (2,0 M en éter) para dar la sal clorhidrato del compuesto del título (0,18 g). HRMS 522,1063 (M+1). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CD<sub>3</sub>OD): δ 8,48 (s, 1H); 8,17

(s, 1H); 8,09 - 7,99 (m, 2H); 7,89 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 7,65 (d,  $J = 8,4$  Hz, 1H); 7,10 (t,  $J = 9,1$  Hz, 2H); 5,28 - 5,18 (m, 2H); 1,62 (d,  $J = 7,2$  Hz, 3H).

## EJEMPLO 1.87

5

6-Isopropil-5'-metil-N-((1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil)-2,2'-bipiridin-4-carboxamida10 Etapa A: 2-Cloro-6-isopropenilisonicotinato de *tert*-butilo

A una solución de ácido 2-cloro-6-isopropenilisonicotínico (0,25 g, 1,27 mmol) en diclorometano (4,7 ml) y metanol (1,6 ml), se le añadió (diazometil)(trimetil)silano (0,63 ml, 1,27 mmol). Después de la adición, la mezcla se concentró y se llevó a la siguiente etapa. EM 212,0 (M+1).

15

Etapa B: 6-Isopropenil-5'-metil-2,2'-bipiridin-4-carboxilato de metilo

A una solución de 2-cloro-6-isopropenilisonicotinato de metilo (0,5 g, 2,36 mmol) en DMF (12 ml), se le añadieron 5-metil-2-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)piridina (1,3 g, 5,9 mmol), acetato de paladio (II) (26,5 mg, 0,12 mmol), carbonato de cesio (1,54 g, 4,72 mmol), aducto de dicloro[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno]paladio (II) diclorometano (0,13 g, 0,24 mmol) y cloruro de cobre (I) (0,23 g, 2,36 mmol). La mezcla se purgó con argón y se calentó a 100 °C. Después de 45 min, se añadió NaHCO<sub>3</sub> acuoso saturado. La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3x). Los extractos orgánicos combinados se lavaron con agua (3x), salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron. La purificación por cromatografía sobre gel de sílice (hexanos al 100 % → hexanos al 75 % / acetato de etilo) dio el compuesto del título (0,55 g). EM 269,1 (M+1).

25

Etapa C: 6-Isopropil-5'-metil-2,2'-bipiridin-4-carboxilato de metilo

A una solución de 6-isopropenil-5'-metil-2,2'-bipiridin-4-carboxilato de metilo (0,25 g, 0,93 mmol) en etanol (9,3 ml), se le añadió paladio (al 10 % sobre carbono; 49,6 mg, 0,047 mmol). La mezcla se purgó con hidrógeno (3x) y se agitó en una atmósfera de hidrógeno (1 atm). Después de 35 min, la mezcla se filtró con Celite y el filtrado se concentró. EM 271,2 (M+1).

30

Etapa D: Ácido 6-isopropil-5'-metil-2,2'-bipiridin-4-carboxílico

35

A una solución de 6-isopropil-5'-metil-2,2'-bipiridin-4-carboxilato de metilo (275 mg, 1,02 mmol) en metanol (10 ml), se le añadió hidróxido sódico (1,0 M en agua; 2,03 ml, 2,03 mmol). La mezcla se calentó a 50 °C. Después de 45 min, se añadió HCl (1,0 M en agua; 2,03 ml, 2,03 mmol) y la mezcla se concentró para dar la sal de cloruro sódico del compuesto del título (0,32 g). EM 257,1 (M+1).

40

Etapa E: 6-Isopropil-5'-metil-N-((1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil)-2,2'-bipiridin-4-carboxamida

A una solución de ácido 6-isopropil-5'-metil-2,2'-bipiridin-4-carboxílico (25,0 mg, 0,07 mmol) en DMF (0,3 ml), se le añadieron sal clorhidrato de (1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etanamina (22,1 mg, 0,08 mmol), HATU (38,2 mg, 0,10 mmol) y diisopropiletilamina (58,5 µl, 0,34 mmol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente. Después de 20 min, la mezcla se purificó por cromatografía de fase inversa (C-18, agua al 95 % / acetonitrilo → agua al 25 % / acetonitrilo con ácido trifluoroacético al 0,1 %) para dar el compuesto del título (24 mg). HRMS 430,1850 (M+1). RMN <sup>1</sup>H (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 8,96 (s, 2H), 8,48 (s, 1H), 8,43 (d,  $J = 8,1$  Hz, 1H), 8,37 (s, 1H), 7,67 (d,  $J = 8,2$  Hz, 1H), 7,63 (s, 1H), 6,96 (d,  $J = 6,7$  Hz, 1H), 5,44 - 5,35 (m, 1H), 3,24 - 3,14 (m, 1H), 2,42 (s, 3H), 1,74 (d,  $J = 7,2$  Hz, 3H), 1,37 (d,  $J = 6,9$  Hz, 6H).

50

EnsayoModelo de dolor visceral en ratas *in vivo*

55

Ratas macho Sprague-Dawley de un peso de 150 – 180 g (intervalo máximo por experimento = 40 g) al principio de los experimentos. Los animales serán entregados al laboratorio al menos 5 días antes de los experimentos, tiempo

durante el cual se aclimatan a las condiciones del laboratorio. Las ratas se alojarán en grupos de 4, 5 o 6 en jaulas de macrolón (41 x 25 x 14 cm o 44 x 28 x 19 cm) de madera con acceso libre a alimentos y al agua hasta el análisis (o, de otro modo, según esté indicado). La jaula del animal se mantendrá con luz artificial (12 horas) entre las 7:00 de la mañana y las 19:00 de la tarde a una temperatura ambiente controlada de  $21 \pm 3$  °C, y con una humedad relativa mantenida a 40-70 %. La información relacionada con cualquier signo clínico y la mortalidad se archivará con los materiales del estudio.

Después de privación de alimentos durante la noche, se anestesia ligeramente (isoflurano) a las ratas macho Sprague-Dawley y se les inyecta ácido acético al 1 % en el colon (1,5 ml) usando una cánula de 5 cm de longitud. Después de un periodo de recuperación de 75 minutos, de nuevo se anestesia a las ratas ligeramente (isoflurano) y un globo de látex de 1,5 cm de longitud fijado estrechamente a un catéter se inserta a través del ano en el colon descendente y el recto. Después se retira inmediatamente la anestesia. 15 minutos después, la sustancia de ensayo se administra por vía oral. 60 minutos después de la administración, el globo se llena con 1,2 ml de agua y se cuenta el número de contracciones abdominales durante 10 minutos.

Se estudian 10 ratas por grupo. El ensayo se realiza con enmascaramiento. La sustancia de ensayo se evaluará a 3 dosis y se comparará con el grupo tratado con vehículo. Se sacrificará a las ratas al final de los experimentos mediante exposición a una mezcla de O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub> (20 %/80 %), seguido de CO<sub>2</sub>. Los datos se analizarán comparando los grupos tratados con el vehículo control usando las pruebas U de Mann Whitney.

*Modelo de ligadura del nervio espinal L5 in vivo*

a. Cirugía y cuidados postoperatorios

Para el procedimiento de la ligadura del nervio espinal (LNE) se anestesia a ratas Sprague Dawley macho (100-200 g; Harlan) usando isoflurano (1-5 %; inhalación). Usando una técnica aséptica se realiza una incisión en la línea media dorsal desde aproximadamente el nervio espinal L3 a S2. Una combinación de disección aguda y roma se usa para exponer la apófisis interarticular posterior L6/S1. La apófisis transversa L6 se visualiza y se retira y se exponen los nervios espinales L4 y L5 distalmente a su aparición desde el orificio intervertebral. Después, el nervio L5 se liga fuertemente con una sutura de seda 6-0. El músculo se cierra con una sutura 4-0 absorbible y la piel se cierra con grapas para heridas. Se realiza un seguimiento postoperatorio para garantizar que los animales están expuestos a la menor cantidad de dolor posible. Los animales se alojan por pares sobre camas y se controlan diariamente (2 veces) durante tres días después de la operación por parte del personal del Laboratory Animal Resource y después diariamente por parte del investigador para determinar cualquier signo de posible sufrimiento.

b. Pruebas de comportamiento

Antes de la cirugía se analizan las ratas para determinar los umbrales de retirada de la pata trasera mecánicos antes de la cirugía aplicando una serie de filamentos de von Frey calibrados (0,25 - 15 g) a la pata trasera izquierda y determinando la mediana del umbral de retirada usando el método de Dixon "arriba-abajo" (Chaplan et al., J Neurosci Meth 53:55, 1994). Se coloca a las ratas en cámaras de plástico individuales sobre una plataforma elevada de acero galvanizado de malla y se dejan aclimatar durante 60 minutos. Se determinan los umbrales de la retirada mecánica de la pata trasera antes de la cirugía y se excluye del estudio a las ratas que tienen un umbral <15 g. Tras la determinación de los umbrales de retirada antes de la cirugía, las ratas se someten al procedimiento de LNE descrito anteriormente. Entre 28-35 días después del procedimiento quirúrgico, se analiza a las ratas para determinar los umbrales después de la cirugía usando el procedimiento descrito anteriormente y los animales que muestran un umbral de retirada de la pata trasera <4,0 g se consideran alodínicos (es decir, hipersensibilidad mecánica). Los efectos de los compuestos de ensayo sobre la hipersensibilidad mecánica inducida por LNE se determinan administrando el compuesto junto con un grupo de vehículo control y un grupo que recibe el comparador positivo pregabalina (20 mg/kg, vía oral). La eficacia en el modelo de LNE se evalúa determinando el % de inversión de la hipersensibilidad mecánica usando la fórmula:

$$\% \text{ inversión} = \frac{(\text{umbral después del fármaco} - \text{umbral después de la cirugía})}{(\text{umbral antes de la cirugía} - \text{umbral después de la cirugía})} \times 100$$

A final del estudio se sacrifica a todas las ratas usando CO<sub>2</sub> y se recolecta el plasma y el tejido cerebral para análisis bioanalíticos de las exposiciones al fármaco.

*Modelo de adyuvante completo de Freund (ACF) in vivo*

Las ratas Sprague Dawley macho (300 – 400 g; Charles River) reciben una inyección intradérmica de ACF (200 ul, 0,5 mg/ml) en el lado plantar de la pata trasera izquierda y después se devuelven a sus jaulas donde se mantienen en camas blandas. 72 horas después de la inyección de ACF se analizan las ratas para determinar los umbrales de

5 retirada mecánica de la pata trasera después del ACF envolviendo a la rata en una toalla y colocando la pata trasera (la izquierda o la derecha) en un aparato de pinzado de patas de Randall-Sellito modificado (Stoelting, Wood Dale, IL). Una barra de plástico fijada a una palanca se coloca sobre la parte dorsal de la pata trasera y se aplica una fuerza creciente a la pata trasera hasta que la rata vocaliza o tira de su pata para alejarla de la barra. El umbral de retirada de la pata trasera de la pata se registra en dicho punto. El estímulo mecánico se aplica a cada pata trasera 2 veces y los umbrales promedios de la retirada mecánica de la pata trasera tras el ACF se determinan para las patas traseras izquierda y derecha. Tras la determinación de los umbrales de retirada tras el ACF, las ratas reciben el compuesto de ensayo, el vehículo o el comparador positivo naproxeno (30 mg/kg, vía oral) y se determinan los efectos de los compuestos sobre los umbrales de retirada para la pata trasera (ACF) inflamada. La eficacia en el modelo de ACF se evalúa determinando el % de inversión de la hipersensibilidad mecánica usando la fórmula:

$$\% \text{ inversión} = \frac{(\text{umbral después del fármaco}_{\text{pata trasera izquierda}} - \text{umbral tras ACF}_{\text{pata trasera izquierda}})}{(\text{umbral tras ACF}_{\text{pata trasera derecha}} - \text{umbral tras ACF}_{\text{pata trasera izquierda}})} \times 100$$

15 A final del estudio se sacrifica a todas las ratas usando CO<sub>2</sub> y se recolecta el plasma y el tejido cerebral para análisis bioanalíticos de las exposiciones al fármaco.

#### *Cistometría en ratas sanas normales*

20 Las ratas Sprague-Dawley hembras de peso 250-350 g se estabularon en un cuarto con temperatura y luz controlados (!2 horas de ciclo de luz/oscuridad) y se les permitió acceso a alimentos y agua a voluntad. Se anestesió a los animales con uretano (1,0 g/kg, i.p.). En caso necesario se administró uretano complementario. Se realizó una incisión en la línea media abdominal inferior para exponer la vejiga urinaria y se insertó un catéter de polietileno (PE-50) en la cúpula de la vejiga para registrar la presión intravesical y la infusión intravesical de solución salina fisiológica a una velocidad de 0,05 ml/min. La presión intravesical se midió usando un transductor de presión y se registró la señal usando un sistema de adquisición de datos de múltiples canales (Power lab, AD Instruments, Biopac systems, Colorado Springs, CO) a una velocidad de obtención de muestras de 10 Hz. Después de confirmar el intervalo entre micciones estable y una presión de micción estable mediante infusión intravesical, los fármacos se administraron por vía intravenosa (0,25 ml/kg). El intervalo entre micciones (capacidad funcional de la vejiga urinaria) y la presión de micción (presión intravesical máxima) se obtuvieron a partir de micciones antes de las dosis (basal) y entre de 5 a 30 minutos después de las dosis usando el programa Chart (v5.5.4, AD Instruments) y se calculó la proporción con respecto al valor basal.

#### *Cistometría en el modelo de hiperreflexia inducida con ácido acético en ratas*

35 Las ratas Sprague-Dawley hembras de peso 250-350 g se estabularon en un cuarto con temperatura y luz controlados (!2 horas de ciclo de luz/oscuridad) y se les permitió acceso a alimentos y agua a voluntad. Se anestesió a los animales con uretano (1,0 g/kg, i.p.). En caso necesario se administró uretano complementario. Se realizó una incisión en la línea media abdominal inferior para exponer la vejiga urinaria y se insertó un catéter de polietileno (PE-50) en la cúpula de la vejiga para registrar la presión intravesical y la infusión intravesical a una velocidad de 0,05 ml/min. La presión intravesical se midió usando un transductor de presión y se registró la señal usando un sistema de adquisición de datos de múltiples canales (Power lab, AD Instruments, Biopac systems, Colorado Springs, CO) a una velocidad de obtención de muestras de 10 Hz. Después de confirmar el intervalo entre micciones estable y una presión de micción estable mediante infusión intravesical de solución salina se infundió 0,25 % de solución salina-ácido acético a la misma velocidad de infusión. Tras 30-60 minutos se infundieron los fármacos por vía intravenosa usando bombas de infusión a una velocidad de 10 µl/min. El intervalo entre micciones (capacidad funcional de la vejiga urinaria) y la presión de micción (presión intravesical máxima) se obtuvieron a partir de micciones antes de la dosis (basal) y entre de 39 a 45 minutos después de comenzar la infusión del fármaco usando el programa Chart (v5.5.4, AD Instruments) y se calculó la proporción con respecto al valor basal.

40 *Generación de una línea celular estable P2X<sub>3</sub> y P2X<sub>2/3</sub> humana-* El ADNc del receptor P2X<sub>3</sub> humano (número de acceso NM\_002559) se subclonó como un fragmento de 5'XhoI y 3'HindIII en el vector de expresión pcDNA5/FRT (Invitrogen). El ADNc del receptor P2X<sub>2</sub> humano (número de acceso NM\_174873) se subclonó como un fragmento de 5'EcoRI y 3'NotI en el vector de expresión pIRESneo2 (BD Biosciences Clontech). La construcción de expresión de P2X<sub>3</sub> humano se transfeció usando Lipofectamine 2000 (Invitrogen) en células Flp-in – 293 (Invitrogen) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las células positivas para la recombinación mediada por flp de P2X<sub>3</sub> de rhesus se seleccionaron usando 150 µg/ml de higromicina. La línea celular P2X<sub>3</sub> humana estable se cotransfectó con la construcción de expresión de P2X<sub>2</sub> humano usando Lipofectamina 2000 como se ha indicado anteriormente y las células cotransfectadas se seleccionaron usando 100 mg/ml de higromicina y 1 mg/ml de G418. La línea celular P2X<sub>3</sub> estable se propagó en DMEM, 10 % de FBS, 100 µg/ml de higromicina y 100 unidades/ml de penicilina y 100 µg/ml de estreptomycin y se mantuvo a 37 °C y a una humedad del 95 %. La línea celular P2X<sub>2/3</sub> estable se propagó como se ha indicado anteriormente con la adición de 500 µg/ml de G418.

60 *Medición de calcio intracelular para evaluar la afinidad del antagonista-* Se usó un lector de placas de imágenes fluorescentes (FLIPR; Molecular Devices) para controlar los niveles de calcio intracelular usando el colorante quelante

de calcio Fluo-4 (Molecular Probes). Las longitudes de onda de excitación y de emisión usadas para vigilar la fluorescencia fueron 488 nm y 530 nm, respectivamente. Las células que expresan P2X<sub>3</sub> humano o P2X<sub>2/3</sub> humano se sembraron a una densidad de 20.000 células/pocillo (20 µl/pocillo) en placas de 384 pocillos de paredes negras aproximadamente 20 horas después de comenzar el ensayo. El día del ensayo se añaden 20 µl de tampón de carga (solución de sal equilibrada de Han, CaCl<sub>2</sub> 2,5 mM, HEPES 20 mM, 0,1 % de BSA, probenecida 2,5 mM, TR-40, Fluo-4, y NMDG 138 mM sustituido por NaCl) y las células se cargan con el pigmento durante 60 minutos en oscuridad a temperatura ambiente. Diez minutos antes de añadir el agonista, se añadió el antagonista en un volumen de 10 µl y se dejaron incubar a temperatura ambiente. Durante este periodo se recogen los datos de fluorescencia a intervalos de 3 segundos, seguidos de intervalos de 10 segundos. El agonista, α,β-meATP, se añade a una concentración 6x ([α,β-meATP]<sub>final</sub> = CE<sub>50</sub>). Tras la adición del agonista se midió la fluorescencia a intervalos de 5 segundos y se analizó basándose en el incremento de las unidades de fluorescencia relativa (UFR) máxima en comparación con la fluorescencia basal. La fluorescencia máxima se usó para determinar el efecto inhibitor a cada concentración del antagonista mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición} = 100 * (1 - ((UFR_{(\text{fármaco})} - UFR_{(\text{control})}) / (UFR_{(\text{solo DMSO})} - UFR_{(\text{control})})))$$

*Ensayo electrofisiológico in vitro*- Las células que expresan los receptores P2X<sub>3</sub> humanos se cultivaron hasta una confluencia de 65-85 % de 20 a 32 horas antes del ensayo. Las células se disociaron con tripsina, se centrifugaron y se resuspendieron en una solución en baño a una densidad celular de 1 x 10<sup>6</sup> células/ml y se cargaron en PatchXpress. La solución de baño contenía NaCl 150 mM, KCl 4 mM, CaCl<sub>2</sub> 2 mM, MgCl<sub>2</sub> 1,2 mM, HEPES 10 mM y glucosa 11,1 mM, a un pH de 7,2. La solución intracelular contenía K-aspartato 140 mM, NaCl 20 mM, HEPES 5 mM, EGTA 10 mM, a pH 7,2 o CsCl 30 mM, HEPES 5 mM, EGTA 10 mM, CsF 120 mM, NaF 5 mM, MgCl<sub>2</sub> 2 mM, Ph = 7,3 con CsOH. Las soluciones madre del agonista se prepararon en H<sub>2</sub>O y se diluyeron en la solución del baño antes de usar. Todos los antagonistas se prepararon como soluciones madre 10 mM en DMSO y se diluyeron en la solución del baño antes de usar. Todos los experimentos se realizaron con las células bajo la configuración de fijación de membrana de célula entera a temperatura ambiente. Hasta 16 células individuales se pudieron someter a fijación de membrana simultáneamente en el instrumento PatchXpress. Se estableció una respuesta basal mediante CTP repetido (100 µM; durante 2 segundos), seguido de incubación del antagonista durante 2 minutos en ausencia de CTP. Después de la incubación previa del antagonista se coadministraron CTP 100 µM y el antagonista para determinar el efecto inhibitor del antagonista. Estas etapas se repitieron después en la misma célula con un intervalo de concentraciones del antagonista. Se analizó un máximo de cinco concentraciones del antagonista con cualquier célula individual. La amplitud de la corriente de P2X<sub>3</sub> control (I<sub>P2X3-(control)</sub>) se tomó como un promedio de la amplitud máxima de la corriente a partir de las dos últimas adiciones del agonista antes de la incubación con un antagonista. La amplitud máxima de la corriente de P2X<sub>3</sub> en presencia de un antagonista (I<sub>P2X3-(fármaco)</sub>) se usó para calcular el efecto inhibitor a cada concentración del antagonista de acuerdo con la ecuación siguiente:

$$\% \text{ de Inhibición de P2X}_3 = 100 * (I_{P2X3-(control)} - I_{P2X3-(fármaco)}) / I_{P2X3-(control)}$$

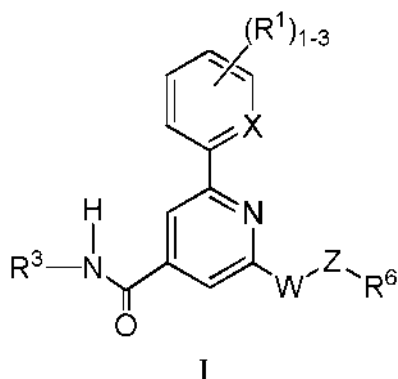
Cada concentración de un antagonista se analizó en al menos dos células independientes. La concentración de fármaco requerida para inhibir la corriente de P2X<sub>3</sub> en un 50 % (Cl<sub>50</sub>) se determinó ajustando la ecuación de Hill a los datos promedio del % de inhibición a cada concentración.

$$\% \text{ de Control} = 100 * (1 + ([\text{Fármaco}] / Cl_{50})^p)^{-1}$$

*Ensayo electrofisiológico in vitro para P2X<sub>2/3</sub>* – El P2X<sub>2/3</sub> se analizó como se ha indicado anteriormente con dos modificaciones del protocolo: 1) α,β-meATP 30 µM se usó como agonista; y 2) la amplitud de la corriente se midió al final de la segunda aplicación de agonista. Usando los ensayos descritos en el presente documento se encontró que los compuestos de esta invención eran activos para el receptor P2X<sub>3</sub>. Los compuestos de fórmula I tienen una actividad de Cl<sub>50</sub> de 100 µM para el receptor P2X<sub>3</sub>. Muchos de los compuestos de fórmula I divulgados en el presente documento se descubrió que tenían una Cl<sub>50</sub> inferior a 200 nM. Por ejemplo, los compuestos siguientes tienen una Cl<sub>50</sub> < 250 nM en el ensayo "Medición del calcio intracelular para evaluar la afinidad del antagonista". En particular, el compuesto 1.62 tiene una Cl<sub>50</sub> = 23 nM.

## REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula estructural I:



5 o sales farmacéuticamente aceptables y enantiómeros y diastereómeros individuales de los mismos en la que:

X es N o CH;

W y Z independientemente, están ausentes o representan  $C(R^2)_2$ , -O-,  $NR^2$ , CO o  $SO_{0-2}$ ;

10  $R^1$  representa H, alquilo  $C_{1-6}$ , halógeno,  $(CH_2)_nCF_3$ , cicloalquilo  $C_{3-10}$ ,  $C(R^2)_2OH$ , -O-, CN,  $(CH_2)_nOR^2$ ,  $(CH_2)_n$  heterocíclico  $C_{5-10}$ , arilo  $(CH_2)_nC_{6-10}$  o alcoxi  $C_{1-6}$ ; estando dicho alquilo, cicloalquilo, heterociclilo y arilo opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos de alquilo  $C_{1-6}$ , halógeno, hidroxilo,  $(CH_2)_nCF_3$  o CN;

$R^2$  representa H, alquilo  $C_{1-6}$ ,  $CF_3$ , OH,  $CHF_2$  o  $CH_2F$ ;

$R^3$  representa  $CR^2R^4R^5$ ;

15 uno de  $R^4$  y  $R^5$  es alquilo  $C_{1-6}$  o hidrógeno y el otro es  $(CH_2)_n$ arilo  $C_{6-10}$  o  $(CH_2)_n$ heterociclilo  $C_{6-10}$ , estando dichos alquilo, arilo y heterociclilo opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos de  $R^a$ , en donde dichos arilo y heterociclilo son  $(CH_2)_n$  fenilo,  $(CH_2)_n$ piridilo,  $(CH_2)_n$ pirimidinilo,  $(CH_2)_n$ triazolilo, pirazinilo o  $(CH_2)_n$ oxadiazolilo;

$R^6$  representa hidrógeno,  $OR^2$ , -O-,  $CF_3$ ,  $C(R^2)_2OR^2$ , alquilo  $C_{1-6}$ , alqueno  $C_{2-6}$ , alquino  $C_{2-6}$ , cicloalquilo  $C_{3-10}$ ,  $(CH_2)_n$ arilo  $C_{6-10}$ ,  $(CH_2)_n$ heterociclilo  $C_{5-10}$ , estando dichos alquilo, arilo y heterociclilo opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos de  $R^a$ ;

20  $R^a$  representa alquilo  $C_{1-6}$ , halógeno, hidroxilo,  $OR^2$ ,  $(CH_2)_nCF_3$ , -O-, cicloalquilo  $C_{3-6}$ ,  $NR^2C(O)R^2$ ,  $C(O)N(R^2)_2$ ,  $C(R^2)_2OR^2$ ,  $C(O)R^2NO_2$ , CN,  $N(R^2)_2$ ,  $C(O)OR^2$ ,  $SO_2R^2$ ,  $OR^2$ ,  $(CH_2)_n$ heterociclilo  $C_{5-10}$  o  $(CH_2)_n$ arilo  $C_{6-10}$ , estando dichos heterociclilo y arilo opcionalmente sustituidos con 1 a 3 grupos de alquilo  $C_{1-6}$ , halógeno, hidroxilo,  $(CH_2)_nCF_3$  o CN; y

25 n representa de 0 a 4.

2. El compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que  $R^2$  es hidrógeno.

30 3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que W y Z están ausentes,  $R^6$  es alquilo  $C_{1-6}$ , opcionalmente sustituido con 1 a 3 grupos de  $R^a$ , X es CH,  $R^1$  es H, alquilo  $C_{1-6}$ , halógeno o  $(CH_2)_nCF_3$  y  $R^2$  de  $CR^2R^4R^5$  es hidrógeno.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es:

35 2-((2-Fluoro-4-metilfenil)-6-morfolin-4-il)-N-[(1S)-1-(4H-1,2,4-triazol-3-il)etil]isonicotinamida;  
 2-((2,4-Difluorofenil)-6-(1-hidroxil-1-metiletil)-N-[(1R)-1-[1-óxido-6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil]isonicotinamida;  
 2-((2,4-Difluorofenil)-6-(2-metilpirimidin-5-il)-N-[(1R)-1-[1-óxido-6-(trifluorometil)piridin-3-il]etil]isonicotinamida;  
 N-[(1R)-1-[6-(1,1-Difluoroetil)-1-oxidopiridin-3-il]etil]-2-(2,4-difluorofenil)-6-(2,2,2-trifluoro-1-hidroxietil)-  
 isonicotinamida;  
 40 6-Isopropil-5'-metil-N-[(1R)-1-[2-(trifluorometil)pirimidin-5-il]etil]-2,2'-bipiridin-4-carboxamida;

o sales farmacéuticamente aceptable de los mismos.

5. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo inerte y una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con cualquier reivindicación anterior.

45 6. La composición de acuerdo con la reivindicación 5 que comprende adicionalmente uno o más compuestos terapéuticamente activos seleccionados del grupo que consiste en agonistas o antagonistas de opiáceos, antagonistas de los canales de calcio, agonistas o antagonistas parciales o completos del receptor 5HT, 5-HT<sub>1A</sub>, antagonistas de los canales de sodio, agonistas o antagonistas del receptor de N-metil-D-aspartato (NMDA), inhibidores selectivos de la COX-2, antagonistas del receptor de neuroquinina 1 (NK1), fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINE), inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina (ISRS) y/o inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina y norepinefrina (ISRSN), fármacos antidepresivos tricíclicos, moduladores de norepinefrina, litio, valproato, inhibidores

de la recaptación de norepinefrina, inhibidores de la monoamino oxidasa (IMAO), inhibidores reversibles de la monoamino oxidasa (IRMAO), antagonistas del D-alfa-adrenoceptor, antidepresivos atípicos, antagonistas del péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP), agonistas del receptor beta-3-adrenérgico ( $\beta$ 3AR), benzodiazepinas, antagonistas del factor liberador de corticotropina (CRF), neurontina (gabapentina) y pregabalina.

- 5
7. Un compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-4 para su uso en el tratamiento o la prevención del dolor crónico o agudo o en el control de la epilepsia o la potenciación de la calidad del sueño en un paciente mamífero que lo necesite.