

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 535 730**

51 Int. Cl.:

C07D 223/20 (2006.01)

C07D 267/20 (2006.01)

A61K 31/55 (2006.01)

A61K 31/553 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2008 E 08856171 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **25.02.2015 EP 2229364**

54 Título: **Agonistas TRPA1 de dibenzoazepinas y dibenzooazepinas**

30 Prioridad:

05.12.2007 EP 07122339

29.05.2008 EP 08157200

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

14.05.2015

73 Titular/es:

JANSSEN PHARMACEUTICA, N.V. (100.0%)

TURNHOUTSEWEG 30

2340 BEERSE, BE

72 Inventor/es:

GIJSEN, HENRICUS JACOBUS MARIA y

MERCKEN, MARC HUBERT

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 535 730 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

Agonistas TRPA1 de dibenzoazepinas y dibenzooxazepinas

5 La presente invención está relacionada con novedosos compuestos tricíclicos de fórmula (I) que tienen propiedades agonistas de receptores TRPA1, composiciones farmacéuticas que comprenden estos compuestos, procesos químicos para preparar estos compuestos y su uso como herramientas farmacológicas, o como incapacitantes irritantes, o en el tratamiento de enfermedades ligadas a la modulación de los receptores TRPA1 en animales, en particular seres humanos.

10 El receptor receptor de potencial transitorio A1 (TRPA1), anteriormente llamado ANKTM1, pertenece a la familia de los receptores de potencial transitorio (TRP) de canales selectivos de cationes que se ha mostrado que transducen señales inflamatorias mecánicas, térmicas y relacionadas con el dolor (véase, por ejemplo, *Biochimica et Biophysica Acta* 1772 (2007) 989-1003; *Cell* 124 (2006) 1123-1125).

15 TRPA1 es un canal permeable de calcio no selectivo, que modula el potencial de membrana modulando el flujo de cationes tales como iones calcio y sodio. La regulación errónea de los canales de iones está frecuentemente asociada a afecciones patológicas, y los compuestos que pueden modular una o más funciones de canales de iones, que incluyen TRPA1, son de gran interés como posibles agentes terapéuticos. Los activadores o agonistas del receptor TRPA1, tales como isotiocianatos (alilisotiocianato, el componente picante de la mostaza), producen dolor agudo e inflamación neurogénica (véanse, por ejemplo, *PNAS* 103 (2007) 13519-13524; *Cell* 124(2006) 1269-1282).

20 Otro miembro de esta familia de canales de iones es el receptor TRPV1. Se ha mostrado que la activación de este receptor conduce a la desensibilización del receptor y de ahí la actividad analgésica (véase Bley, K.R. *Expert Opin. Investig. Drugs*. 2004 13(11), 1445-1456). La modulación del receptor TRPA1 puede asimismo conducir a una homeostasis mejorada del flujo de iones y el potencial de membrana. Se ha demostrado la desensibilización del receptor TRPA1 por los agonistas conocidos alilisotiocianato y cinamaldehído (véanse Andrade, E.L, *Biochem. Pharmacol.* 2006, 72, 104-114, Akopian, A.N. *J. Phys.* 2007, 583(Pt 1), 175-193). El pretratamiento local de ratones con el agonista de TRPA1 alilisotiocianato redujo la hipersensibilidad por contacto hacia isotiocianato de fluoresceína (FITC) como se muestra por una reducción en la respuesta al hinchazón de la oreja (véase *International Archives of Allergy and Immunology* (2007), 143(2), 144-154). También se ha mostrado que la activación del receptor TRPA1 produce la contracción de la vejiga urinaria de rata (Andrade, E.L, *Biochem. Pharmacol.* 2006, 72, 104-114) y el intestino de ratón (*European Journal of Pharmacology* (2007), 576, 143-150).

25 Hay un interés en la identificación y desarrollo de ligandos para que el receptor TRPA1 sea de uso posible en la prevención, tratamiento o alivio de síntomas de una enfermedad o afección asociada a TRPA1 (véanse, por ejemplo, los documentos WO-2007/073505 o WO-2007/098252 para las patentes que reivindican antagonistas de TRPA1). Los compuestos antagonistas de TRPA1 de la presente invención - con una potencia que supera la de los agonistas actualmente descritos usados para fines de cribado tales como alil- o bencilisotiocianato - pueden usarse como agente en un ensayo de cribado para identificar antagonistas de TRPA1, o la determinación de su afinidad y potencia. Además de la elevada potencia con respecto a los agonistas actualmente usados tales como alil- o bencilisotiocianato, los compuestos agonistas de TRPA1 de la presente invención tienen una ventaja adicional con respecto a estos compuestos conocidos debido a su menor sensibilidad a otros agentes nucleófilos presentes en el ensayo, haciendo la señal resultante más estable.

30 La dibenz[b,f][1,4]oxazepina (código militar CR) es un agente para el control de disturbios con poderosas propiedades lacrimógenas e irritantes de la piel. Es de particular interés como agente para el control de disturbios debido a su menor toxicidad que algunos otros agentes para el control de disturbios comúnmente usados tales como CN (cloroacetofenona) (véanse, por ejemplo, Blain, P.G. *Toxicol. Rev.* 2003, 22, 103-110: *Tear gasses and Irritant Incapacitants*; Olajos, E.J.; Salem, H. *J. Appl. Toxicol.* 2001, 21, 355-391). Aparte de CR, también se han descrito dibenz[b,e]azepinas (morfantridinas) y dibenz[b,f][1,4]tiazepinas correspondientes como compuestos irritantes (véanse, por ejemplo, Wardrop, A.W.H.; Sainsbury, G.L.; Harrison, J.M.; Inch, T.D. *J. Chem. Soc., Perkin. Trans. I.* 1976, 1279-1285 y las refs 1 y 2 en este artículo). Una desventaja del uso de CR es la persistencia en el entorno debido a su estabilidad en medios acuosos. Se ha mostrado que CR (datos propios) es un potente activador del receptor TRPA1 (pEC50 hTRPA1 = 9,5). Asimismo, se ha mostrado que la acroleína, un irritante medioambiental conocido que se ha usado como gas lacrimógeno, es un activador del receptor TRPA1 (*Cell*, 2006, 124, 1269-1282).

35 Los compuestos reivindicados presentan propiedades lacrimógenas y propiedades irritantes de la piel similares a CR y, por tanto, podrían usarse como ingredientes en gases lacrimógenos o agentes para el control de disturbios, también denominados irritantes, agentes irritantes, agentes lacrimógenos y agentes incapacitantes o incapacitantes a corto plazo. Además, pueden ser más solubles y menos estables en medios acuosos, haciéndolos menos persistentes en el entorno.

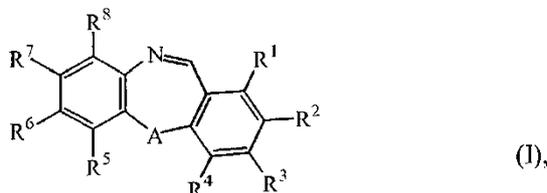
40 Se han descrito dibenz[b,f][1,4]oxazepinas con sustituyentes COOR sobre R⁵-R⁸ en el documento EP0.040.860-A que desvela derivados de dibenzoxazepina que tienen actividad hipolipemiente, actividad reductora de azúcar en sangre y actividad para inhibir la agregación de plaquetas. Se han reivindicado compuestos tricíclicos, que incluyen

dibenzoxazepinas y morfantridinas que contienen grupos aceptores de electrones tales como CN, CF₃ y NO₂, en el documento WO-2004/026030 por tener actividad insecticida.

Se ha mostrado inesperadamente que los compuestos reivindicados son activadores del receptor TRPA1 humano.

5

La presente invención se refiere a compuestos novedosos de fórmula (I)



10 que incluyen cualquier forma estereoquímicamente isomérica de los mismos en la que
 A es CH₂, CO u O;
 R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ y R⁸ están seleccionados cada uno independientemente de hidrógeno, halógeno, hidroxilo,
 alquilo C₁₋₆, polihaloalquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, alquilo C₁₋₆, polihaloalquilo C₁₋₆, COOR⁹ o CONR¹⁰R¹¹;
 R⁹, R¹⁰ y R¹¹ están seleccionados cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₄-alquilo C₁₋₄,
 15 polihaloalquilo C₁₋₆, polihaloalquilo C₁₋₄-alquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalquilo C₃₋₆-alquilo C₁₋₄, aminoalquilo C₂₋₅,
 mono- o (dialquilo C₁₋₄)aminoalquilo C₂₋₅; y
 en la que NR¹⁰R¹¹ puede formar un anillo heterocíclico seleccionado de pirrolidina, piperidina, morfolina, piperazina,
 o piperazina sustituida con alquilo C₁₋₄;
 a condición de que al menos uno de R¹ a R⁸ se defina como COOR⁹ o CONR¹⁰R¹¹; y a condición de que cuando el
 20 radical A represente O, entonces los sustituyentes R⁵ a R⁸ no deban ser COOR⁹;
 o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable de los mismos, o un solvato de los mismos, o un N-óxido
 de los mismos.

25 La condición pretende excluir los compuestos descritos en el documento EP-0.040.860-A que desvela derivados de
 dibenzoxazepina que tienen actividad hipolipemiente, actividad reductora de azúcar en sangre y actividad para inhibir
 la agregación de plaquetas.

Como se usa en las anteriores definiciones:

- 30 - halo es genérico para flúor, cloro, bromo y yodo;
 - alquilo C₁₋₄ define radicales de hidrocarburo saturados de cadena lineal y ramificada que tienen de 1 a 4 átomos
 de carbono tales como metilo, etilo, propilo, butilo, 1-metil-etilo y 2-metilpropilo;
 - alquilo C₂₋₅ define radicales de hidrocarburo saturados de cadena lineal y ramificada que tienen de 2 a 5 átomos
 de carbono tales como etilo, propilo, butilo, 1-metiletilo, 2-metilpropilo, 2-metilbutilo y pentilo;
 35 - alquilo C₁₋₆ pretende incluir alquilo C₁₋₄ y los homólogos superiores de los mismos que tienen 5 ó 6 átomos de
 carbono, tales como 2-metilbutilo, pentilo y hexilo;
 - polihaloalquilo C₁₋₄ se define como alquilo C₁₋₄ polihalosustituido, en particular alquilo C₁₋₄ (como se ha definido
 anteriormente en este documento) sustituido con 2 a 6 átomos de halógeno tal como difluorometilo, trifluorometilo
 y trifluoroetilo;
 40 - cicloalquilo C₃₋₆ es genérico para ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo y ciclohexilo.

El término "formas estereoquímicamente isoméricas", como se usa anteriormente en este documento, define todas
 las posibles formas isoméricas que los compuestos de fórmula (I) pueden poseer. A menos que se mencione o
 indique lo contrario, la designación química de compuestos indica la mezcla de todas las posibles formas
 45 estereoquímicamente isoméricas, conteniendo dichas mezclas todos los diaestereómeros y enantiómeros de la
 estructura molecular básica. Más en particular, los centros estereogénicos pueden tener la configuración R o S;
 sustituyentes sobre radicales (parcialmente) saturados cíclicos bivalentes pueden tener tanto la configuración cis
 como trans. Obviamente, está previsto que las formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos de
 fórmula (I) estén englobadas dentro del alcance de la presente invención.

50 La configuración estereoquímica absoluta de los compuestos de fórmula (I) y de los productos intermedios usados
 en su preparación puede determinarse fácilmente por aquellos expertos en la materia, mientras que se usan
 métodos muy conocidos tales como, por ejemplo, difracción de rayos X.

55 Además, algunos compuestos de fórmula (I) y algunos de los productos intermedios usados en su preparación
 pueden presentar polimorfismo. Debe entenderse que la presente invención engloba cualquier forma polimórfica que
 posea propiedades útiles en el tratamiento de las condiciones observadas anteriormente en este documento.

60 Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables, como se han mencionado anteriormente en este
 documento, pretenden comprender las formas de sal de adición de ácido no tóxicas terapéuticamente activas que

5 pueden formar los compuestos de fórmula (I). Estas sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables pueden obtenerse convenientemente tratando la forma de base con tal ácido apropiado. Ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como hidrácidos, por ejemplo, ácido clorhídrico o bromhídrico, ácidos sulfúrico, nítrico, fosfórico y similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácido acético, propanoico, hidroxiaacético, láctico, pirúvico, oxálico (es decir, etanodioico), malónico, succínico (es decir, ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, *p*-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, *p*-aminosalicílico y pamoico.

10 En cambio, dichas formas de sal pueden convertirse mediante tratamiento con una base apropiada en la forma de base libre.

15 Los compuestos de fórmula (I) pueden existir en tanto formas no solvatadas como solvatadas. El término 'solvato' se usa en el presente documento para describir una asociación molecular que comprende un compuesto de la invención y una o más moléculas farmacéuticamente aceptables de disolvente, por ejemplo, agua o etanol. El término 'hidrato' se usa cuando dicho disolvente es agua.

Preferentemente: uno de los sustituyentes R¹ a R⁸ es COOR⁹, en la que R⁹ es alquilo C₁₋₄ o CONH₂.

20 Más preferentemente: uno de los sustituyentes R¹ a R⁸ es COOR⁹, en la que R⁹ es alquilo C₁₋₄ o CONH₂, y los otros sustituyentes R¹ a R⁸ son hidrógeno y A es CH₂, CO u O.

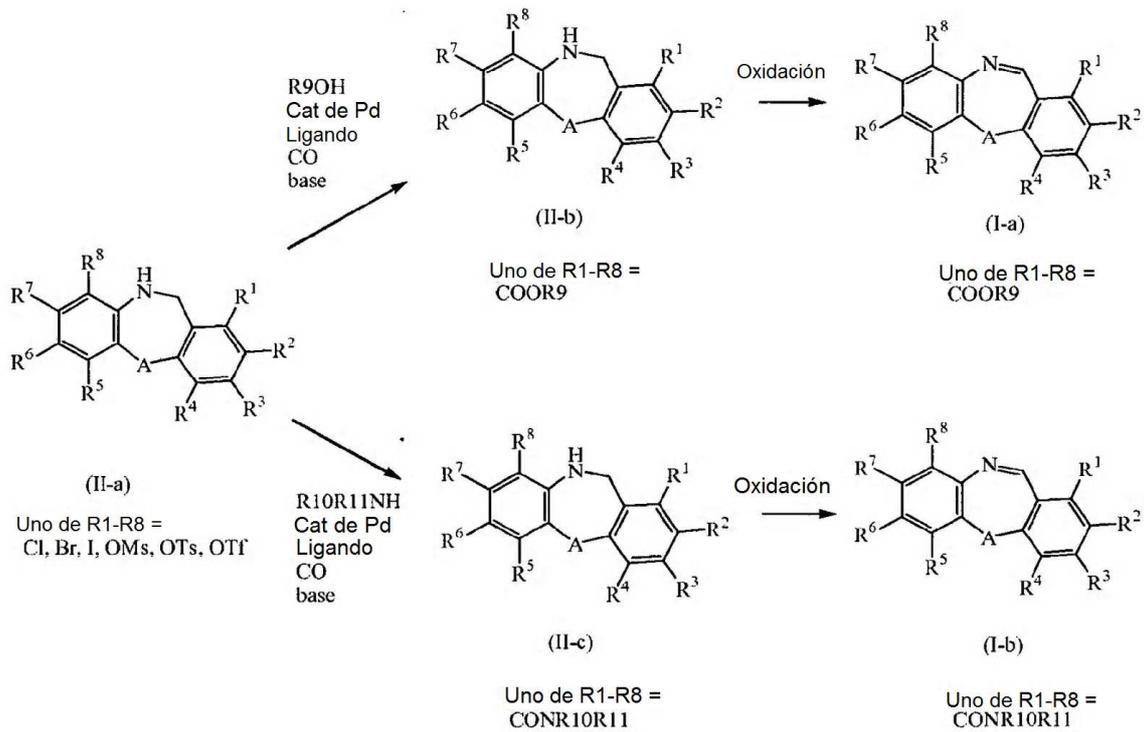
25 Lo más preferentemente: el sustituyente R⁴ es COOR⁹ en la que R⁹ es alquilo C₁₋₄ o CONH₂, y los otros sustituyentes R¹, R², R³, R⁵, R⁶, R⁷ y R⁸ son hidrógeno y A es CH₂ u O, o R⁶ es COOR⁹ en la que R⁹ es alquilo C₁₋₄, y los sustituyentes R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son hidrógeno y A es CH₂, o R⁵ es COOR⁹ en la que R⁹ es alquilo C₁₋₄, y los sustituyentes R¹, R², R³, R⁴, R⁶, R⁷ y R⁸ son hidrógeno y A es CH₂.

Síntesis general (rutas de síntesis)

30 Se ha revisado la síntesis de compuestos tricíclicos (sustituidos) de estructura general I (A=O) (Nagarajan, K. Studies in Organic Chemistry, 1979, 3, 317-340).

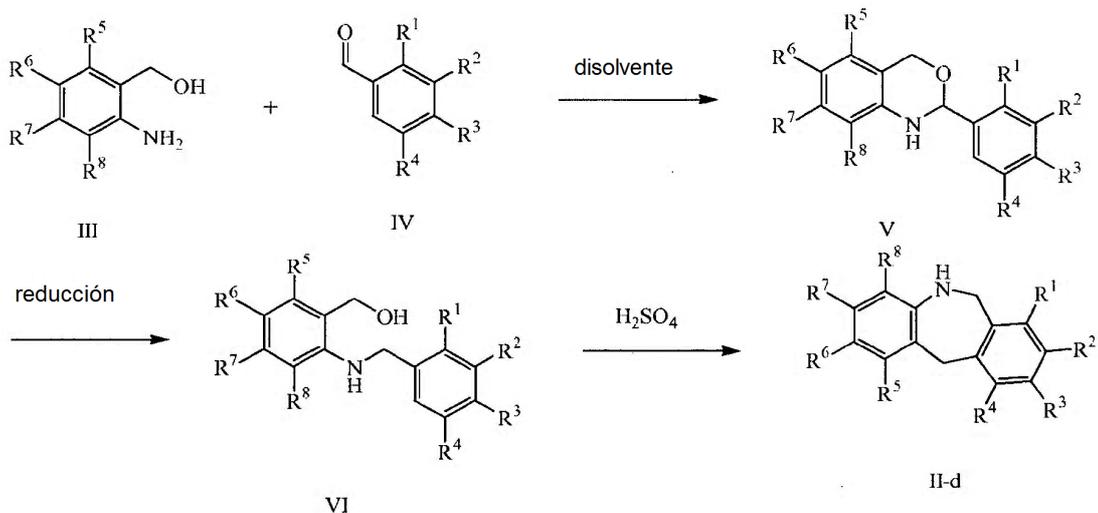
Análogamente, pueden prepararse las dibenzo[b,e]azepinas correspondientes (véase, por ejemplo, Wardrop, A. J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1, 1976, 1279).

35 Se encontró que la introducción del éster de ácido carboxílico o sustituyente de amida era más conveniente en los productos intermedios de dihidro (II) de los compuestos deseados, seguido de oxidación final a los compuestos deseados (I). La oxidación del enlace CH₂NH en productos intermedios de fórmula (II) al enlace CH=N puede llevarse a cabo por exposición prolongada (semanas a meses) de una disolución adecuada de un producto intermedio (II) (en, por ejemplo, DMSO) a aire, o calentando un producto intermedio (II) en presencia de azufre, o
40 tratamiento de un producto intermedio de fórmula (II) con catalizador de paladio, u otro agente de oxidación tal como óxido de manganeso (MnO₂) en un disolvente adecuado tal como xileno o tolueno, a temperaturas variables de temperatura ambiente a reflujo.



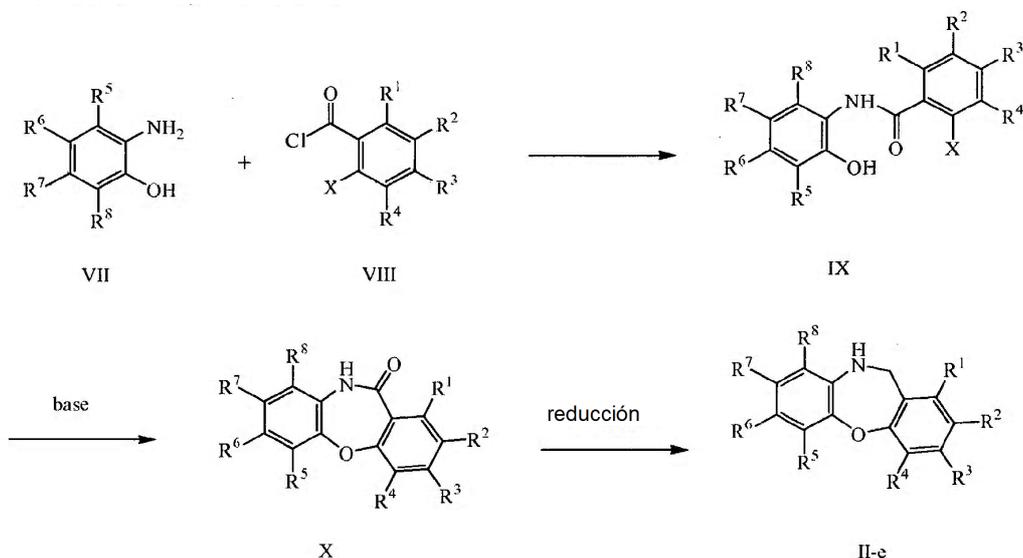
5 Los compuestos (I-b), definidos como compuestos de fórmula (I) en la que R¹⁰ = R¹¹ = hidrógeno, también pueden obtenerse por tratamiento de un compuesto (II-a), definido como un compuesto de fórmula (I) en la que uno de R¹-R⁸ = CN, con ácido sulfúrico, seguido de nuevo por un método de oxidación como se ha descrito anteriormente para la síntesis del compuesto (I-b). También pueden obtenerse productos intermedios (II-c) por conversión de la funcionalidad éster en (II-b) o sus ácidos correspondientes (R⁹ = H) en una funcionalidad amida.

10 Los compuestos de dihidro-dibenzo[b,e]azepinas de fórmula (II-d), definidos como los compuestos de fórmula (II-a) en la que A es CH₂, pueden prepararse por tratamiento del producto intermedio (VI) con ácido sulfúrico. El producto intermedio (VI) puede prepararse mediante condensación del producto intermedio (III) con el aldehído (IV), seguido de reducción del producto intermedio resultante (V).



15 Los compuestos de dihidro-dibenzo[b,f][1,4]oxazepina de fórmula (II-e), definidos como compuestos de fórmula (II-a) en la que A es O, pueden prepararse a partir de la formación de amidas entre anilina (VII) y cloruro de ácido (VIII), o un derivado de ácido carboxílico activado correspondiente, en el que X = halógeno, para dar el producto intermedio

(IX). El producto intermedio (IX) puede ciclarse para ciclarse al producto intermedio (X), que posteriormente puede reducirse al compuesto (II-e):



5

Los materiales de partida y algunos de los productos intermedios son compuestos conocidos y están comercialmente disponibles o pueden prepararse según procedimientos de reacción convencionales generalmente conocidos en la técnica.

10 Los compuestos de fórmula (I), como se preparan en los procesos anteriormente descritos en este documento, pueden sintetizarse en forma de mezclas racémicas de enantiómeros que pueden separarse entre sí siguiendo procedimientos de resolución conocidos en la materia. Aquellos compuestos de fórmula (I) que se obtienen en forma racémica puede convertirse en las formas de sal diaestereoméricas correspondientes mediante reacción con un ácido quiral adecuado. Dichas formas de sal diaestereoméricas se separan posteriormente, por ejemplo, por
15 cristalización selectiva o fraccionada y los enantiómeros se liberan de las mismas por álcali. Un modo alternativo de separación de las formas enantioméricas de los compuestos de fórmula (I) implica cromatografía de líquidos usando una fase estacionaria quiral. Dichas formas estereoquímicamente isoméricas puras también pueden derivarse de las formas estereoquímicamente isoméricas puras correspondientes de los materiales de partida apropiados, a
20 condición de que la reacción se produzca estereoespecíficamente. Preferentemente, si se desea un estereoisómero específico, dicho compuesto se sintetizará por métodos de preparación estereoespecíficos. Estos métodos emplearán ventajosamente materiales de partida enantioméricamente puros.

25 Los compuestos de fórmula (I), las sales farmacéuticamente aceptables y formas estereoisoméricas de los mismos poseen propiedades agonistas del receptor el receptor de potencial transitorio A1 (TRPA1) como se demuestra en los ejemplos farmacológicos. El ejemplo farmacológico D.1 describe la metodología para medir el agonismo de TRPA1 y los resultados se enumeran en la Tabla 3.

30 Por tanto, los presentes compuestos de fórmula (I) son útiles como medicina, especialmente en el tratamiento de una afección o enfermedad mediada por el receptor TRPA1, en particular la actividad agonista del receptor TRPA1. Posteriormente, los presentes compuestos pueden usarse para la fabricación de una medicina para el tratamiento de una afección o una enfermedad mediada por actividad de TRPA1, en particular actividad agonista de TRPA1.

35 Las afecciones o enfermedades mediadas por TRPA1 son, por ejemplo, dolor, dolor crónico, sensibilidad al roce, sensibilidad al picor, irritación de la piel, dolor posquirúrgico, dolor por cáncer, dolor neuropático, dolor inflamatorio, migraña, incontinencia urinaria, inhibición o estimulación del crecimiento capilar, lacrimación, lesiones oculares, blefaroespasmos e irritación pulmonar.

40 Además, debido a sus propiedades lacrimógenas y propiedades irritantes de la piel, los agonistas de TRPA1 en general, y los compuestos de la presente invención en particular, también pueden usarse como agente para el control de disturbios, control de plagas animales y para autodefensa.

45 El término "tratar" y "tratamiento", como se usan en el presente documento, se refiere a tratamiento curativo, paliativo y profiláctico, que incluye invertir, aliviar, inhibir el progreso de, o prevenir la enfermedad, trastorno o afección a la que se aplica tal término, o uno o más síntomas de tal enfermedad, trastorno o afección.

Adicionalmente, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I).

Con el fin de preparar las composiciones farmacéuticas de la presente invención, una cantidad eficaz del compuesto particular, en forma de sal de adición de base o de ácido, como principio activo, se combina en mezcla íntima con al menos un vehículo farmacéuticamente aceptable, vehículo que puede tomar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para administración. Estas composiciones farmacéuticas están deseablemente en forma de dosificación unitaria adecuada, preferentemente para administración por vía oral, administración rectal, administración percutánea o inyección parenteral.

Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en forma de dosificación oral, puede emplearse cualquiera de los vehículos farmacéuticos líquidos usuales, tales como, por ejemplo, agua, glicoles, aceites y alcoholes en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y disoluciones; o vehículos farmacéuticos sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes y agentes disgregantes en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, los comprimidos y cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean obviamente vehículos farmacéuticos sólidos. Para composiciones parenterales para inyección, el vehículo farmacéutico comprenderá principalmente agua estéril, aunque pueden incluirse otros componentes con el fin de mejorar la solubilidad del principio activo. Pueden prepararse disoluciones inyectables, por ejemplo, usando un vehículo farmacéutico que comprende una solución salina, una disolución de glucosa o una mezcla de ambas. También pueden prepararse suspensiones inyectables usando vehículos líquidos apropiados, agentes de suspensión y similares. En composiciones adecuadas para administración percutánea, el vehículo farmacéutico puede comprender opcionalmente un agente potenciador de la penetración y/o un agente humectante adecuado, opcionalmente combinado con proporciones menores de aditivos adecuados que no producen un efecto perjudicial significativo para la piel. Dichos aditivos pueden seleccionarse con el fin de facilitar la administración del principio activo a la piel y/o ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones tópicas pueden administrarse de diversas formas, por ejemplo, como un parche transdérmico, una aplicación transcutánea o una pomada. Sales de adición de los compuestos de fórmula (I), debido a su elevada solubilidad en agua con respecto a la forma de base correspondiente, son obviamente más adecuadas en la preparación de composiciones acuosas.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas de la invención en forma unitaria de dosificación para facilitar la administración y uniformidad de la dosificación. "Forma unitaria de dosificación", como se usa en el presente documento, se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas unitarias de dosificación son comprimidos (incluyendo comprimidos ranurados o recubiertos), cápsulas, píldoras, sobres de polvo, obleas, disoluciones o suspensiones inyectables, cucharaditas al ras, cucharadas grandes y múltiplos segregados de los mismos.

Para administración por vía oral, las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden tomar la forma de formas de dosis sólida, por ejemplo, comprimidos (tanto formas tragables como masticables), cápsulas o cápsulas de gel, preparadas mediante medios convencionales con excipientes y vehículos farmacéuticamente aceptables tales como aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona e hidroxipropilmetilcelulosa), cargas (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina y fosfato de calcio), lubricantes (por ejemplo, estearato de magnesio, talco y sílice), agentes disgregantes (por ejemplo, almidón de patata, glicolato sódico de almidón) y agentes humectantes (por ejemplo, laurilsulfato de sodio). Tales comprimidos también pueden recubrirse por métodos muy conocidos en la técnica.

Preparaciones líquidas para administración por vía oral pueden tomar la forma de, por ejemplo, disoluciones, jarabes o suspensiones, o pueden formularse como un producto seco para mezcla con agua y/u otro vehículo líquido adecuado antes de uso. Tales preparaciones líquidas pueden prepararse mediante medios convencionales, opcionalmente con otros aditivos farmacéuticamente aceptables tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa o grasas comestibles hidrogenadas), agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o goma arábiga), vehículos no acuosos (por ejemplo, aceite de almendra, ésteres aceitosos o alcohol etílico), edulcorantes, aromas, agentes de enmascaramiento y conservantes (por ejemplo, p-hidroxibenzoatos de metilo o propilo o ácido sórbico).

Edulcorantes farmacéuticamente aceptables útiles en las composiciones farmacéuticas de la invención comprenden preferentemente al menos un edulcorante intenso tal como aspartamo, acesulfamo de potasio, ciclamato de sodio, alitame, un edulcorante de dihidrocalcona, monelina, estevióside, sucralosa (4,1',6'-triclora-4,1',6'-tridesoxigalactosacarosa) o, preferentemente, sacarina, sacarina sódica o cálcica, y opcionalmente al menos un edulcorante a granel tal como sorbitol, manitol, fructosa, sacarosa, maltosa, isomalt, glucosa, jarabe de glucosa hidrogenado, xilitol, caramelo o miel. Los edulcorantes intensos se usan convenientemente a bajas concentraciones. Por ejemplo, en el caso de sacarina sódica, dicha concentración puede oscilar de aproximadamente el 0,04 % al 0,1 % (peso/volumen) de la formulación final. El edulcorante a granel puede usarse eficazmente en mayores concentraciones que oscilan de aproximadamente el 10 % a aproximadamente el 35 %, preferentemente de aproximadamente el 10 % al 15 % (peso/volumen).

Los aromas farmacéuticamente aceptables que pueden enmascarar los componentes de sabor amargo en las formulaciones de baja dosificación son preferentemente aromas frutales tales como aroma de cereza, frambuesa, grosella negra o fresa. Una combinación de dos aromas puede dar resultados muy buenos. En las formulaciones de alta dosificación, pueden requerirse aromas farmacéuticamente aceptables más fuertes tales como Caramel Chocolate, Mint Cool y Fantasy. Cada aroma puede estar presente en la composición final en una concentración que oscila de aproximadamente el 0,05 % al 1 % (peso/volumen). Se usan ventajosamente combinaciones de dichos aromas fuertes. Preferentemente se usa un aroma que no experimenta ningún cambio o pérdida de sabor y/o color bajo las circunstancias de la formulación.

Los compuestos de fórmula (I) pueden formularse para administración parenteral mediante inyección, convenientemente inyección intravenosa, intramuscular o subcutánea, por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión intravenosa continua. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas o recipientes de múltiples dosis, que incluyen un conservante añadido. Pueden tomar formas tales como suspensiones, disoluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes isotonzantes, de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el principio activo puede estar presente en forma de polvo para mezclar con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua libre de pirógenos estéril, antes de uso.

Los compuestos de fórmula (I) también pueden formularse en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, que contienen bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao y/u otros glicéridos.

Aquellos expertos en el tratamiento de enfermedades ligadas a la mediación del receptor TRPA1 determinarán fácilmente la cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) a partir de los resultados de pruebas presentadas en el presente documento más adelante. En general se contempla que una dosis terapéuticamente eficaz será de aproximadamente 0,001 mg/kg a aproximadamente 50 mg/kg de peso corporal, más preferentemente de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 10 mg/kg de peso corporal del paciente que va a tratarse. Puede ser apropiado administrar la dosis terapéuticamente eficaz en forma de dos o más subdosis a intervalos apropiados durante todo el día. Dichas subdosis pueden formularse como formas de dosificación unitaria, por ejemplo, que contienen cada una de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 1000 mg, más particularmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 500 mg, del principio activo por forma de dosificación unitaria.

Como se usa en el presente documento, una "cantidad terapéuticamente eficaz" de un compuesto es la cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un individuo o animal, produce un nivel suficientemente alto de ese compuesto en el individuo o animal para producir un aumento o disminución discernible en la estimulación de receptores TRPA1.

La dosificación y frecuencia exacta de administración depende del compuesto particular de fórmula (I) usado, la afección particular que está tratándose, la gravedad de la afección que está tratándose, la edad, peso y condición física general del paciente particular, además de la otra medicación que el paciente pueda estar tomando, como es muy conocido para aquellos expertos en la materia. Además, dicha "cantidad terapéuticamente eficaz" puede reducirse o aumentarse dependiendo de la respuesta del paciente tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que receta los compuestos de la presente invención. Por tanto, los intervalos de cantidad diarios eficaces mencionados anteriormente en este documento solo son pautas.

Parte experimental

"DIPE" se define como éter diisopropílico, "DMF" se define como *N,N*-dimetilformamida, "DMSO" se define como sulfóxido de dimetilo, "DCM" se define como diclorometano, "EtOAc" se define como acetato de etilo, "MeOH" se define como metanol, "EtOH" se define como etanol y "THF" se define como tetrahidrofurano.

Métodos de purificación por cromatografía de líquidos de alto rendimiento:

- Método de purificación A

El producto se purificó por cromatografía de líquidos de alto rendimiento de fase inversa (Shandon Hyperprep[®] C18 BDS (sílice desactivada con base) 8 µm, 250 g, D.I. 5 cm).

Se aplicó un gradiente con tres fases móviles (fase A: una disolución al 0,25 % de NH₄HCO₃ en agua; fase B: CH₃OH; fase C: CH₃CN). Se recogieron las fracciones deseadas y se procesaron.

- Método de purificación B

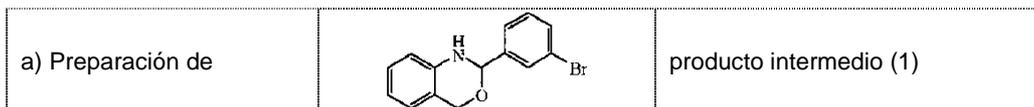
El producto se purificó por cromatografía de líquidos de alto rendimiento de fase inversa (Shandon Hyperprep[®] C18 BDS (sílice desactivada con base) 8 µm, 250 g, D.I. 5 cm). Se aplicó un gradiente con tres fases móviles (fase A: 90 % de una disolución al 0,5 % de NH₄OAc en agua + 10 % de CH₃CN; fase B: CH₃OH; fase C: CH₃CN). Se recogieron las fracciones deseadas y se procesaron.

- Método de purificación C

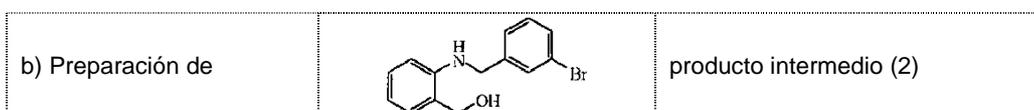
El producto se purificó por cromatografía de líquidos de alto rendimiento de fase inversa (Shandon Hyperprep® C18 BDS (sílice desactivada con base) 8 µm, 250 g, D.I. 5 cm). Se aplicó un gradiente con dos fases móviles (fase A: un disolución al 0,25 % de NH₄HCO₃ en agua; fase B: CH₃CN). Se recogieron las fracciones deseadas y se procesaron.

A. Síntesis de los productos intermedios

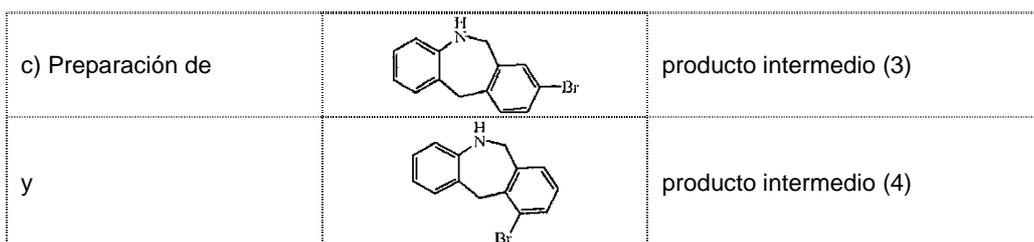
Ejemplo A.1



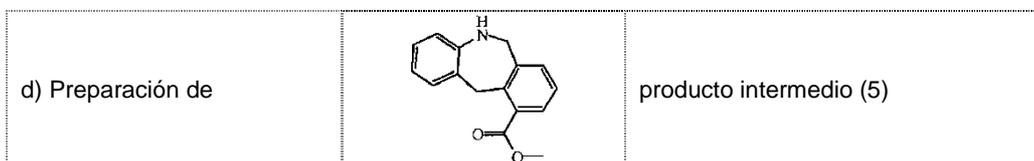
Se agitó una mezcla de 2-amino-benzenometanol (0,073 moles) y 3-bromo-benzaldehído (0,073 moles) en 2-propanol (100 ml) durante 3 horas a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó. Parte (3 g) del residuo (20,5 g) se cristalizó en hexano. El precipitado se separó por filtración y se secó, dando 1,37 g del producto intermedio (1).



Reacción bajo atmósfera de nitrógeno. Se añadió borohidruro de sodio (0,1172 moles) lentamente a una mezcla del producto intermedio (1) (0,0586 moles) en etanol (200 ml). La mezcla de reacción se agitó y se sometió a reflujo durante 1 hora. La mezcla se enfrió sobre un baño de agua con hielo, se extinguió con NH₄Cl al 20 % y se extrajo con CH₂Cl₂. La fase orgánica se secó, se filtró y el disolvente se evaporó, dando 14,8 g del producto intermedio (2).

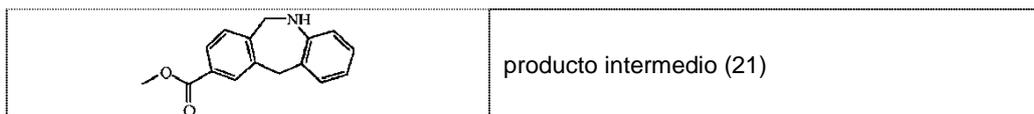


Se añadió una disolución del producto intermedio (2) (0,180 moles) en CH₂Cl₂ (50 ml) durante un periodo de una hora a una disolución enfriada (± -10 a -20 °C) de H₂SO₄ concentrado (500 ml). A continuación, se retiró el baño de hielo, y la mezcla se agitó durante una hora a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se añadió a agua con hielo, se enfrió sobre hielo y se alcalinizó con una disolución acuosa al 50 % de NaOH. La mezcla resultante (± 3 l) se extrajo con CH₂Cl₂. La fase orgánica se separó, se secó sobre MgSO₄, se filtró y el filtrado se concentró a vacío. Una parte (8 g) de este residuo se purificó mediante cromatografía de fluidos supercríticos (SFC, columna: Diacel AD-H 30 x 250 mm, fase móvil: 55 % de MeOH/45 % de CO₂ + 0,2 % de isopropilamina, 40 °C, 100 bar) dando 2 g del producto intermedio (4) (isómero de 7-bromo) y 4,65 g del producto intermedio (3) (isómero de 9-bromo).

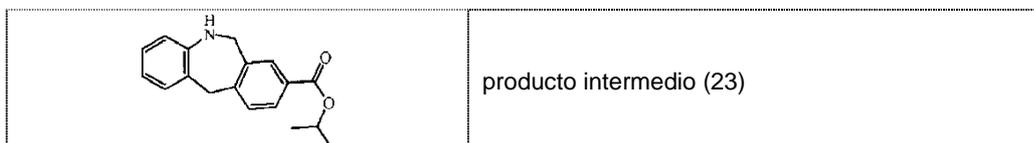


Se dispuso una mezcla del producto intermedio (4) (0,008 moles), acetato de potasio (4 g), Pd(OAc)₂ (0,04 g) y 1,1'-(1,3-propanodil)bis[1,1-difenil-fosfina] (0,16 g) en metanol (100 ml) y THF (100 ml) en un reactor a presión y se presurizó con gas CO hasta 50 kg/cm². La mezcla de reacción se calentó a 125 °C durante 16 horas, a continuación se enfrió, se filtro sobre Dicalite y se evaporó el disolvente. El residuo se repartió entre CH₂Cl₂ y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, se filtró, a continuación se concentró el filtrado. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: CH₂Cl₂). Se recogieron las fracciones deseadas y el disolvente se evaporó, dando 1,86 g del producto intermedio (5).

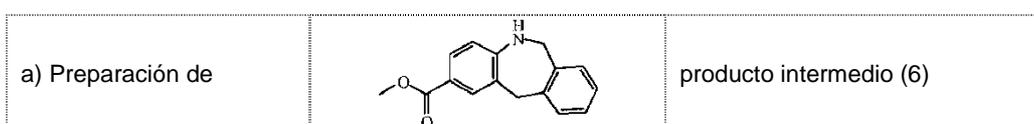
Usando un procedimiento análogo como se ha descrito en las etapas a), b), c) y d), se preparó el producto intermedio (21) a partir de 4-bromo-benzaldehído.



Usando un procedimiento análogo como se ha descrito en la etapa d), se preparó el producto intermedio (23) a partir del producto intermedio (3) y 2-propanol.

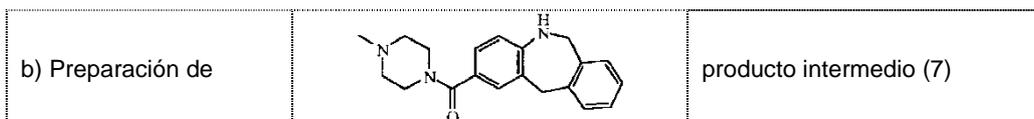


5

Ejemplo A.2

Se dispuso una mezcla de 2-bromo-6,11-dihidro-5H-dibenz[b,e]azepina (0,05 moles), acetato de potasio (0,1 moles), Pd(OAc)₂ (0,112 g) y 1,1'-(1,3-propanodiol)bis[1,1-difenil-fosfina] (0,412 g) en metanol (150 ml) en un reactor a presión y se presurizó con gas CO hasta 50 kg/cm². La mezcla de reacción se calentó a 150 °C durante 24 horas, a continuación se enfrió y se evaporó el disolvente. El residuo se repartió entre NH₄OH/H₂O y CH₂Cl₂. La fase orgánica se separó, se secó, se filtró y se evaporó el disolvente. El residuo se trituroó bajo DIPE, se separó por filtración y se secó (vacío, 40 °C), dando 10,5 g del producto intermedio (6).

15



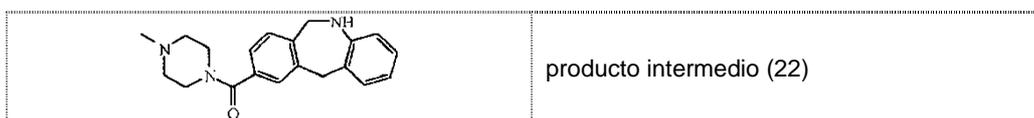
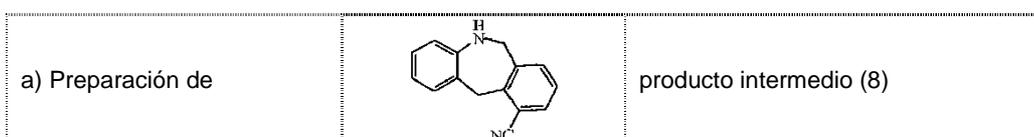
20

25

Se agitó una disolución de 1-metil-piperazina (0,01496 moles) en CH₂Cl₂ (se secó, 20 ml) a 0 °C bajo atmósfera de nitrógeno. Se añadió gota a gota clorodimetilaluminio 1 M en hexano (0,01496 moles) y la mezcla resultante se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 15 minutos. Se añadió una disolución de producto intermedio (6) (0,00748 moles) en CH₂Cl₂ (secado, 20 ml) y la mezcla de reacción resultante se agitó y se sometió a reflujo durante 2 días. A continuación, la mezcla de reacción se enfrió a 0 °C y se añadió cuidadosamente una disolución al 20 % de NH₄Cl. La fase orgánica se lavó y se formó una emulsión, que se filtró a través de Dicalite. La fase orgánica se secó y se evaporó a presión reducida. El residuo se redisolvió en CH₂Cl₂ y se lavó con HCl 3 N. La fase acuosa se lavó 2 x con CH₂Cl₂ y se alcalinizó con 20 % de NaOH. Esta mezcla se extrajo con CH₂Cl₂. La fase orgánica separada se secó, se filtró y el disolvente se evaporó a vacío. El residuo se purificó por HPLC sobre gel de sílice (eluyente: CH₂Cl₂/CH₃OH 95/5 hasta 90/10). Se recogieron las fracciones separadas y el disolvente se evaporó, dando 0,18220 g del producto intermedio (7), punto de fusión. 138,3 °C.

30

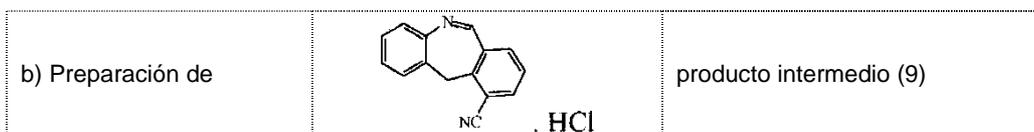
Usando un procedimiento análogo como se describe en la etapa b), se preparó el producto intermedio (22) a partir del producto intermedio (21).

Ejemplo A.3

35

Se desgasificó una mezcla del producto intermedio (4) (0,0029 moles) y cianuro de cobre (0,0073 moles) en DMF (15 ml) y a continuación se agitó bajo atmósfera de nitrógeno a 140 °C durante 3 días. La mezcla de reacción se enfrió. Se añadió NaOH (200 ml, 0,2 N). Esta mezcla se extrajo 2 x con 100 ml de acetato de etilo. La fase orgánica se separó, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó el disolvente del filtrado. El

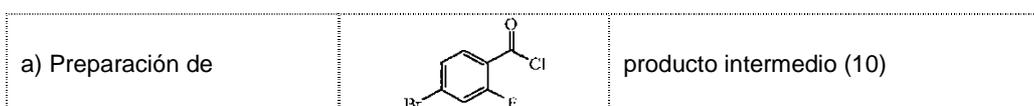
residuo se purificó sobre un filtro de gel de sílice (eluyente: CH_2Cl_2). Se recogieron las fracciones de producto y el disolvente se evaporó, dando 0,53 g del producto intermedio (8).



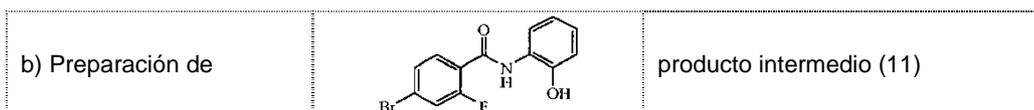
5 Se agitó una mezcla del producto intermedio (8) (0,0018 moles) y óxido de manganeso (0,009 moles) en tolueno (15 ml) a 90 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se filtró sobre una almohadilla de Dicalite y se lavó con CH_2Cl_2 . La fase orgánica se evaporó. El residuo se disolvió en éter dietílico y se añadieron 2 ml de HCl 1 N en éter dietílico. El precipitado se separó por filtración, se lavó con éter dietílico y se secó a vacío, dando 0,350 g del producto intermedio (9).

10

Ejemplo A.4

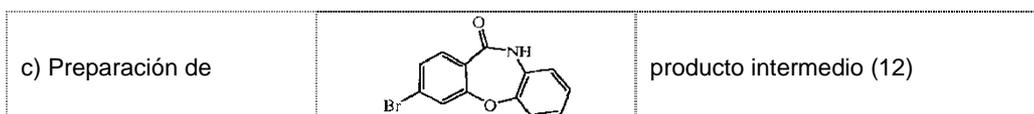


15 Se sometió una mezcla de ácido 4-bromo-2-fluoro-benzoico (24 mmoles) y cloruro de tionilo (20 ml) a reflujo durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró a vacío y se co-evaporó dos veces con tolueno (40 ml), dando el producto intermedio (10). El residuo se usó como tal en la siguiente etapa.



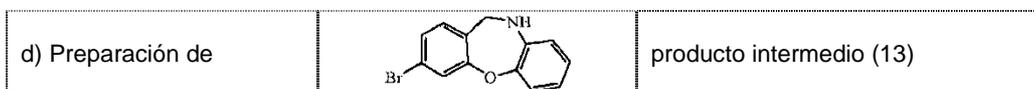
20 Se añadió gota a gota una mezcla del producto intermedio (10) (24 mmoles) en THF (25 ml) a una mezcla de 2-amino-fenol (24 mmoles) y trietilamina (48 mmoles) en THF (75 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche, a continuación se vertió en agua (400 ml) y se acidificó a pH 4-5 con HCl 1 N acuoso. El precipitado se separó por filtración y se lavó con HCl 1 N y agua, se secó a vacío, dando 6600 mg del producto intermedio (11).

25



30

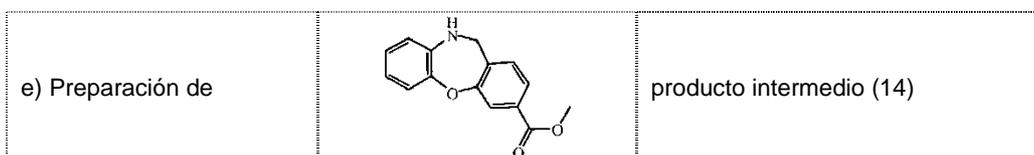
Se sometió a reflujo una mezcla del producto intermedio (11) (20,96 mmoles) e hidróxido sódico (20,96 mmoles) en DMF (100 ml) durante 5 horas. La mezcla de reacción se vertió sobre 800 ml de agua con hielo y el precipitado resultante se separó por filtración y se lavó con NaOH 1 N acuoso y agua, a continuación se secó a vacío, dando 5600 mg del producto intermedio (12).



35

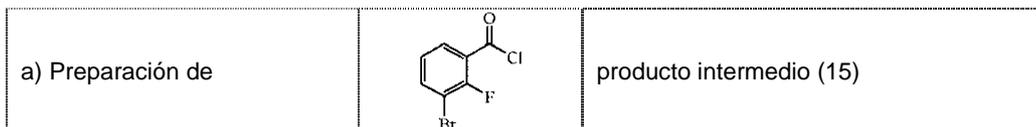
A una suspensión del producto intermedio (12) (10,7 mmoles) en THF (100 ml) se añadió complejo de borano-sulfuro de dimetilo (1:1) (2 M en THF; 29,4 mmoles) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante dos días. La mezcla de reacción se enfrió sobre hielo y se añadieron 100 ml de HCl 1 N ac. La mezcla se concentró parcialmente a vacío, a continuación se alcalinizó con NaHCO_3 sólido (pH aproximadamente 7). La fase acuosa se extrajo dos veces con 200 ml de CH_2Cl_2 . La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente heptano/ CH_2Cl_2 70/30 a 20/80). Se recogieron las fracciones de producto y el disolvente se evaporó, dando 1700 mg del producto intermedio (13).

40

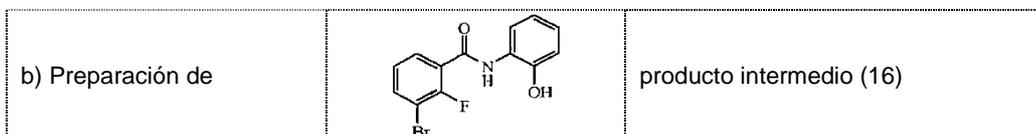


5 Se cargó un autoclave de acero inoxidable de 75 ml bajo atmósfera de nitrógeno con el producto intermedio (13) (5,94 mmoles), Pd(OAc)₂ (10 mg), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (40 mg), acetato de potasio (1,5 g), metanol (20 ml) y THF (20 ml). El autoclave se cerró y se presurizó a 50 bar con monóxido de carbono y la reacción se llevó a cabo durante 16 horas a una temperatura de 125 °C. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a vacío. El residuo se repartió entre CH₂Cl₂ y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente CH₂Cl₂), dando 1380 mg del producto intermedio (14).

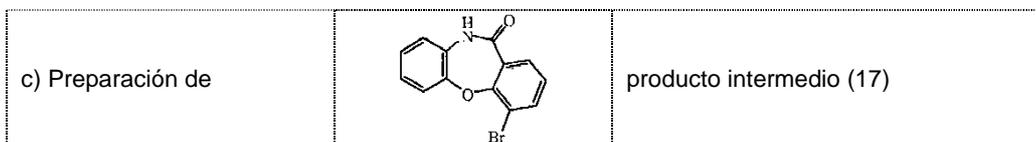
Ejemplo A.5



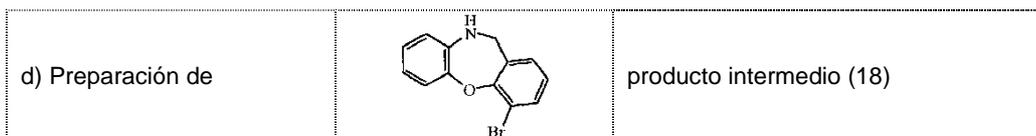
10 Se agitó una mezcla de ácido 3-bromo-2-fluoro-benzoico (22 mmoles) y cloruro de tionilo (20 ml) y se sometió a reflujo durante 2 horas. La mezcla de reacción se concentró a vacío, y se co-evaporó dos veces con tolueno (40 ml), dando el producto intermedio (15), que se usó como tal en la siguiente etapa.



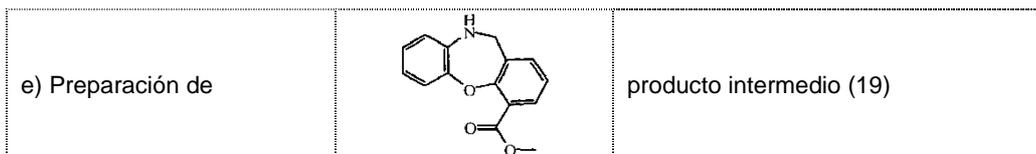
15 Se añadió gota a gota una mezcla del producto intermedio (15) (22 mmoles) en THF (25 ml) a una mezcla de 2-amino-fenol (22 mmoles) y trietilamina (44 mmoles) en THF (75 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en agua (400 ml) y se acidificó a pH = 4 a 5 con HCl 1 N acuoso. El precipitado se separó por filtración y se lavó con HCl 1 N y agua, se secó a vacío, dando 6350 mg del producto intermedio (16).



25 Se agitó una mezcla del producto intermedio (16) (20,5 mmoles) e hidróxido sódico (en polvo, 20,5 mmoles) en DMF (100 ml) y se sometió a reflujo durante 5 horas. La mezcla de reacción se vertió sobre 800 ml de agua con hielo y el precipitado resultante se separó por filtración y se lavó con hidróxido sódico 1 N acuoso y agua, a continuación se secó a vacío, dando 5200 mg del producto intermedio (17).



30 Se agitó una mezcla del producto intermedio (17) (17,9 mmoles) y LiAlH₄ (89,6 mmoles) en dioxano (200 ml) y se sometió a reflujo durante 5 horas. La mezcla de reacción se enfrió sobre hielo. Cuidadosamente, se añadieron 3,5 ml de agua, 3,5 ml de hidróxido sódico acuoso al 15 %, a continuación 10,5 ml de agua. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche, se filtró y se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante RP-HPLC, método A, dando 750 mg del producto intermedio (18).



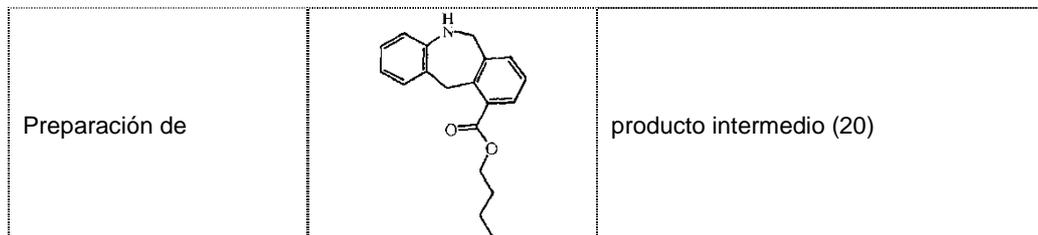
35 Se cargó un autoclave de acero inoxidable de 75 ml bajo atmósfera de nitrógeno con el producto intermedio (18) (2,626 mmoles), Pd(OAc)₂ (10 mg), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (40 mg), acetato de potasio (0,7 g), metanol (20 ml) y THF (20 ml). El autoclave se cerró y se presurizó a 50 bar de monóxido de carbono y la reacción se llevó a cabo durante 16 horas a una temperatura de 125 °C. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a vacío. El residuo se repartió entre CH₂Cl₂ y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El residuo se

40

purificó por cromatografía en columna de gel de sílice (eluyente heptano/CH₂Cl₂ 70/30 a 0/100), dando 550 mg del producto intermedio (19) como un aceite amarillo claro.

Ejemplo A.6

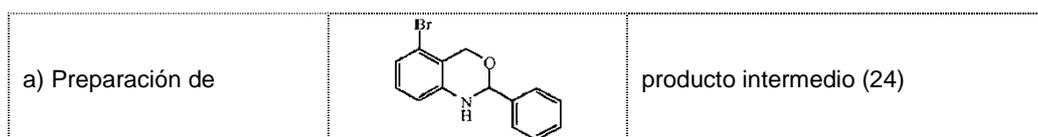
5



Se cargó un autoclave de acero inoxidable de 75 ml bajo atmósfera de nitrógeno con el producto intermedio (3) (6 mmoles), Pd(OAc)₂ (10 mg), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (40 mg), acetato de potasio (1,5 g), n-butanol (20 ml) y THF (20 ml). El autoclave se cerró y se presurizó a 50 bar de monóxido de carbono y la reacción se llevó a cabo durante 16 horas a una temperatura de 125 °C. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a vacío. El residuo se repartió entre CH₂Cl₂ y agua. La fase orgánica separada se secó sobre MgSO₄, se filtró y el filtrado se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: heptano/EtOAc 100/0 a 80/20). Se recogieron las fracciones de producto y el disolvente se evaporó, dando 760 mg del producto intermedio (20).

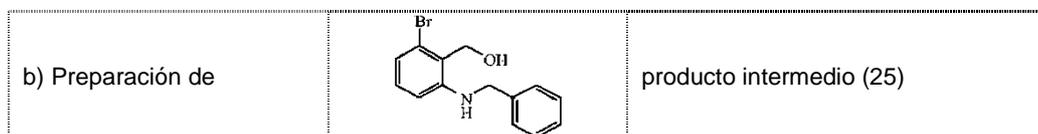
Ejemplo A.7

15



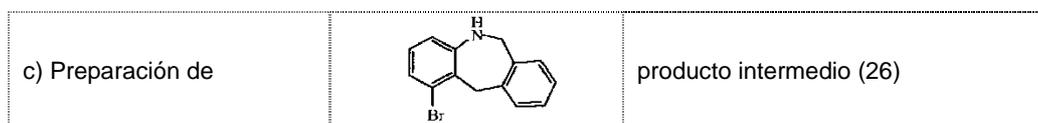
Se agitó una mezcla de 2-amino-6-bromo-bencenometanol (35 mmoles) y benzaldehído (37 mmoles) en 2-propanol (120 ml) durante la noche a temperatura ambiente. El disolvente se evaporó, dando el producto intermedio (24).

20



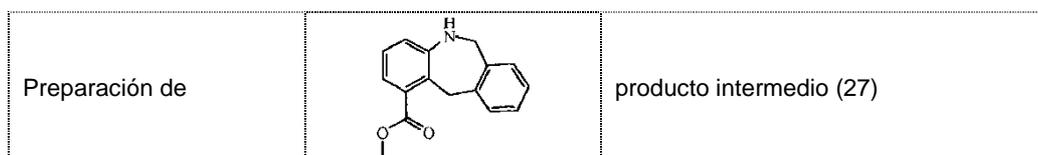
Reacción bajo atmósfera de nitrógeno. Se añadió lentamente borohidruro de sodio (70 mmoles) a una mezcla del producto intermedio (24) (35 mmoles) en etanol (200 ml). La mezcla de reacción se agitó y se sometió a reflujo durante 2 horas. La mezcla se enfrió sobre un baño de agua con hielo, se extinguió con NH₄Cl al 20 % (200 ml) seguido de agua (200 ml). El precipitado se separó por filtración y se secó, dando 9,2 g del producto intermedio (25).

25



Se enfrió una disolución de H₂SO₄ (80 ml) a -10 °C sobre un baño de hielo-sal. Se añadió gota a gota una disolución del producto intermedio (25) (31 mmoles) en DCM (60 ml). Se retiró el baño de hielo, y la agitación continuó durante 90 minutos a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió de nuevo, y se añadió cuidadosamente gota a gota una disolución de hidróxido potásico (10 M) hasta que el pH se volvió básico. Se separó un precipitado por filtración y se lavó con DCM, y el filtrado acuoso se extrajo con DCM (dos veces 300 ml). Las fases orgánicas se combinaron, se secaron (MgSO₄) y se concentraron a presión reducida, dando 8,4 g del producto intermedio (26).

30

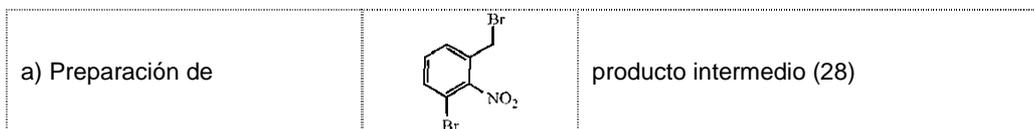


35

Se hizo reaccionar una mezcla del producto intermedio (26) (7,3 mmoles), Pd(OAc)₂ (0,15 mmoles), acetato de potasio (22 mmoles) y 1,1'-(1,3-propanodiol)bis[1,1-difenil-fosfina] (0,29 mmoles) en metanol (20 ml) y THF (20 ml) en un reactor a presión a 125 °C durante 16 horas a 50 bar de CO. Se enfrió la mezcla de reacción y se filtró sobre

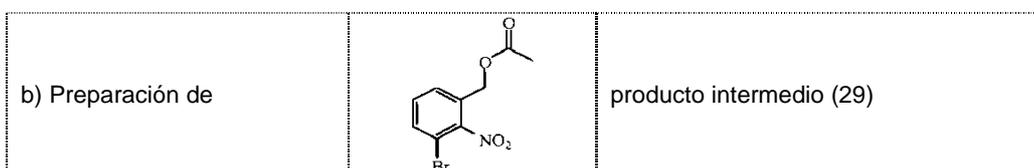
Dicalite, a continuación se concentró a vacío. El residuo se repartió entre CH_2Cl_2 y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 , se filtró, a continuación el filtrado se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: CH_2Cl_2). Se recogieron las fracciones separadas y el disolvente se evaporó, dando 1,54 g del producto intermedio (27).

5

Ejemplo A.8

Se sometieron 1-bromo-3-metil-2-nitro-benceno (46,29 mmoles), peróxido de dibenzoilo (250 mg), tetraclorometano (100 ml) y 1-bromo-2,5-pirrolidindiona (46,29 mmoles) a reflujo durante la noche. Se añadió peróxido de dibenzoilo (250 mg) adicional y el reflujo continuó durante la noche. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se repartió entre EtOAc y agua. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO_4 y se concentró, dando 15 g del producto intermedio (28). El residuo se usó como tal en la siguiente etapa.

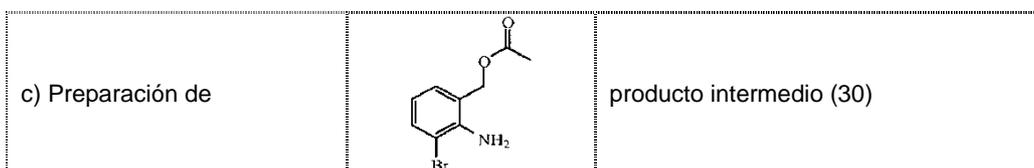
10



15

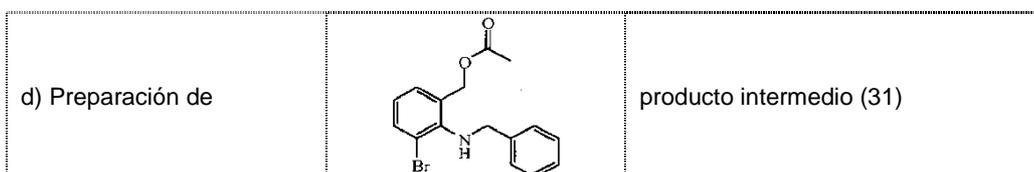
Se agitaron el producto intermedio (28) (46 mmoles) y acetato de potasio (322 mmoles) en DMF (200 ml) a 70 °C durante 2 horas. Se enfrió la mezcla de reacción y se vertió sobre agua con hielo, se extrajo dos veces con 300 ml de EtOAc. La fase orgánica se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO_4 y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó mediante cromatografía en columna de SiO_2 (eluyente heptano/EtOAc 90/10 a 60/40). Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se evaporó, dando 5,9 g del producto intermedio (29).

20



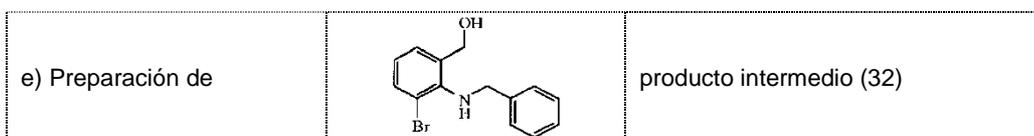
25

Se suspendió Pt/C al 5 % (1 g) + V_2O_5 (50 mg) en THF bajo flujo de nitrógeno. Se añadió una disolución al 4 % de tiofeno (0,5 ml). Se añadió producto intermedio (29) (21,2 mmoles). La mezcla de reacción se agitó bajo atmósfera de hidrógeno hasta que se absorbieron 3 equivalentes de hidrógeno. El catalizador se eliminó por filtración sobre Dicalite. La mezcla se concentró, dando 5,2 g del producto intermedio (30), que se usó como tal en la siguiente etapa.



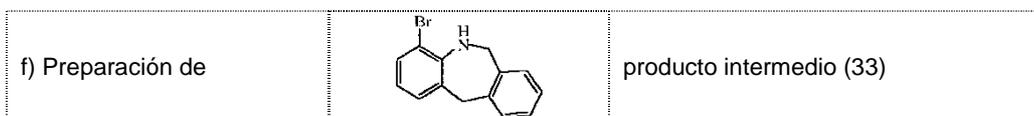
Se agitaron producto intermedio (30) (6,8 mmoles), bromuro de bencilo (7,4 mmoles), yoduro de sodio (7,4 mmoles) en DMF (50 ml) a 80 °C durante 6 horas. Se enfrió la mezcla de reacción y se añadió agua (500 ml). La mezcla se extrajo dos veces con 250 ml de EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con agua y salmuera, se secó sobre MgSO_4 y se concentró a vacío. El residuo se purificó usando el método de purificación C. Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se evaporó, dando el producto intermedio (31).

30

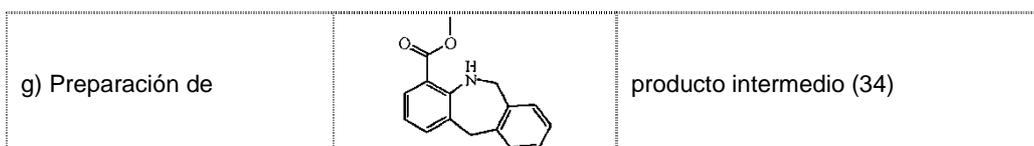


Se calentaron producto intermedio (31) (5,7 mmoles), metanol (20 ml) y metilato de sodio en metanol (30 %, 10 ml) en un microondas a 160 °C durante 20 minutos. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida, y el residuo

se repartió entre DCM y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 , se concentró a presión reducida, dando 1,7 g del producto intermedio (32) que se usó como tal en la siguiente etapa.

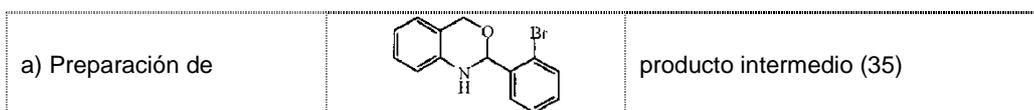


- 5 Se enfrió ácido sulfúrico (25 ml) a $-10\text{ }^\circ\text{C}$ sobre un baño de hielo-sal. A continuación se añadió gota a gota el producto intermedio (32) (5,8 mmoles) en DCM (20 ml). Se retiró el baño de hielo, y la agitación continuó durante 1,5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió de nuevo, y se añadió cuidadosamente gota a gota disolución de KOH (10 M) hasta que el pH se volvió básico. La sal formada se separó por filtración y se lavó con DCM. El filtrado acuoso se extrajo con DCM (2 x 300 ml). La fase orgánica combinada se secó sobre MgSO_4 y se concentró a presión reducida, dando 1,36 g del producto intermedio (33).

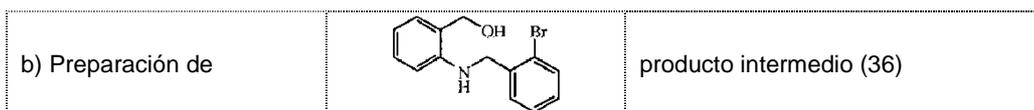


- 15 Se cargó un autoclave de acero inoxidable de 75 ml bajo atmósfera de nitrógeno con el producto intermedio (33) (3,1 mmoles), $\text{Pd}(\text{OAc})_2$ (0,063 mmoles), 1,3-bis(difenilfosfino)propano y acetato de potasio (6,3 mmoles) en metanol (20 ml) y THF (20 ml). El autoclave se cerró y se presurizó a 50 bar de CO y la reacción se llevó a cabo durante 16 horas a una temperatura de $125\text{ }^\circ\text{C}$. La mezcla de reacción se filtró sobre Dicalite, se concentró a vacío, y el residuo se repartió entre NaHCO_3 acuoso saturado y DCM. La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 y se concentró, dando 545 mg del producto intermedio (34).

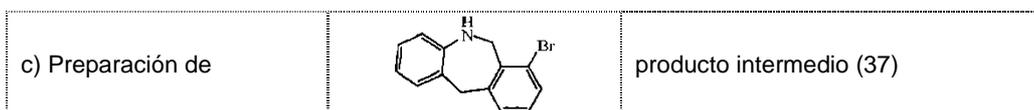
20 Ejemplo A.9



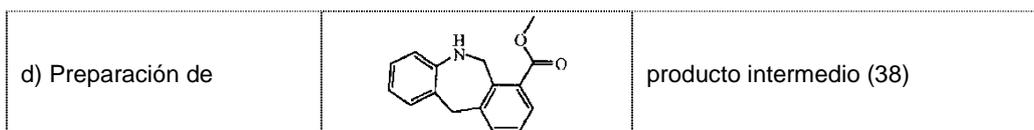
- 25 Se agitaron 2-amino-bencenometanol (40,6 mmoles) y 2-bromo-benzaldehído (40,6 mmoles) en isopropanol (60 ml) a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se concentró a vacío y el residuo se usó como tal en la siguiente etapa, dando el producto intermedio (35).



- 30 Bajo una atmósfera de nitrógeno, se añadió tetrahidrobtorato de sodio (80 mmoles) en porciones al producto intermedio (35) (40 mmoles) en etanol (120 ml). La mezcla se agitó a reflujo durante 1 hora, se enfrió sobre un baño de hielo y se extinguió con NH_4Cl acuoso al 20 %. La fase acuosa se extrajo con DCM (2 x 250 ml). La fase orgánica se secó sobre MgSO_4 , y se concentró a vacío, dando 11,7 g del producto intermedio (36).

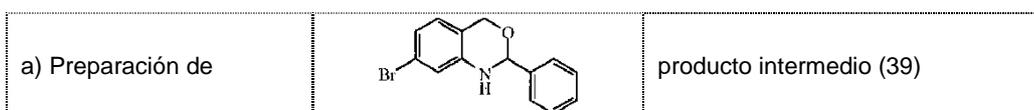


- 35 Se enfrió ácido sulfúrico (100 ml) a $-10\text{ }^\circ\text{C}$ sobre un baño de hielo-sal. A continuación se añadió producto intermedio (36) (40 mmoles) en porciones. Se retiró el baño de hielo, y la agitación continuó durante 1,5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió de nuevo, y se añadió cuidadosamente gota a gota una disolución acuosa de hidróxido potásico (10 M) hasta que el pH se volvió básico. La sal formada se separó por filtración y se lavó con éter dietílico. El filtrado acuoso se extrajo dos veces con 300 ml de éter dietílico. La fase orgánica combinada se secó sobre MgSO_4 y se concentró a presión reducida dando un primer residuo. La sal formada antes de la extracción se agitó con DCM, y se filtró de nuevo. La fase orgánica se secó, se concentró a presión reducida y se combinó con el primer residuo. Los residuos combinados se purificaron por cromatografía en columna sobre gel de sílice (CombiFlash, eluyente heptano/EtOAc 96/4 a 70/30). Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se evaporó, dando 5,4 g del producto intermedio (37).

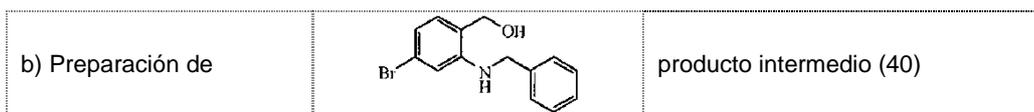


Se cargó un autoclave de acero inoxidable de 75 ml bajo atmósfera de nitrógeno con el producto intermedio (37) (7,1 mmoles), Pd(OAc)₂ (10 mg), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (40 mg) y acetato de potasio (1,5 g) en metanol (20 ml) y THF (20 ml). El autoclave se cerró y se presurizó a 50 bar de CO y la reacción se llevó a cabo durante 16 horas a una temperatura de 125 °C. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a vacío. El residuo se repartió entre DCM y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El residuo se purificó en cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente DCM). Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se evaporó, dando 1,520 g del producto intermedio (38).

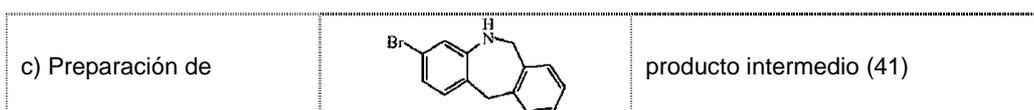
10 Ejemplo A.10



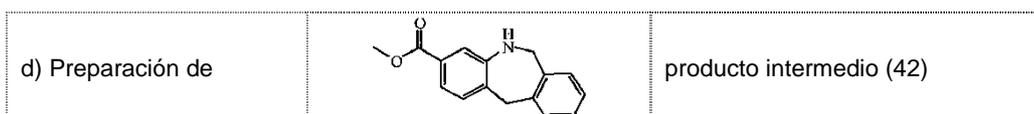
Se agitaron 2-amino-4-bromo-bencenometanol (37,12 mmoles) y benzaldehído (40,83 mmoles) en isopropanol (120 ml) a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se calentó a 80 °C durante 1 hora (disolución transparente), a continuación se enfrió lentamente hasta temperatura ambiente. La mezcla se concentró a vacío, y se añadió tolueno (120 ml). La mezcla de reacción se sometió a reflujo bajo condiciones de Dean-Stark durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró a presión reducida, y el residuo se usó como tal en la siguiente etapa, dando el producto intermedio (39).



Bajo una atmósfera de nitrógeno, se añadió tetrahidrobórato de sodio (74 mmoles) en porciones al producto intermedio (39) (37 mmoles) en etanol (120 ml). La mezcla se agitó a reflujo durante 1 hora, se enfrió sobre un baño de hielo y se extinguió con NH₄Cl acuoso al 20 %. La fase acuosa se extrajo con DCM (2 x 250 ml). La fase orgánica se secó sobre MgSO₄, y se concentró a vacío, dando 10,8 g que se usaron como tales en la siguiente etapa.

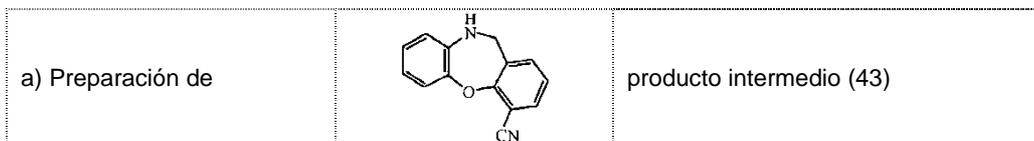


Se enfrió ácido sulfúrico (100 ml) a -10 °C sobre un baño de hielo-sal. A continuación se añadió producto intermedio (40) (37 mmoles) en DCM (30 ml) en porciones. Se retiró el baño de hielo, y la agitación continuó durante 1,5 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se enfrió de nuevo, y se añadió cuidadosamente gota a gota una disolución acuosa de hidróxido potásico (10 M) hasta que el pH se volvió básico. A la mezcla de sales se añadió DCM (500 ml) y la mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Las sales se separaron por filtración y se lavaron con DCM. La fase orgánica combinada se secó sobre MgSO₄ y se concentró a presión reducida. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (CombiFlash, eluyente DCM/heptano/EtOAc 10/86/4 a 7/63/30). Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se evaporó, dando 6,4 g del producto intermedio (41) como un sólido blanco.

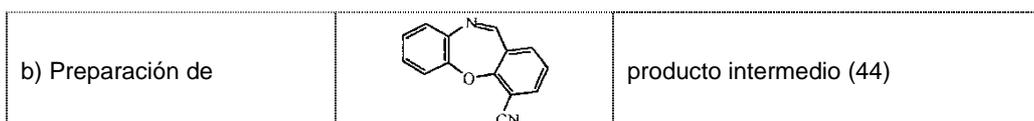


Se cargó un autoclave de acero inoxidable de 75 ml bajo atmósfera de nitrógeno con el producto intermedio (41) (7,3 mmoles), Pd(OAc)₂ (10 mg), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (40 mg), acetato de potasio (1,5 g) en metanol (20 ml) y THF (20 ml). El autoclave se cerró y se presurizó a 50 bar de CO y la reacción se llevó a cabo durante 16 horas a una temperatura de 125 °C. La mezcla de reacción se filtró y se concentró a vacío. El residuo se repartió entre DCM y agua. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente heptano/DCM 50/50 a 0/100). Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se evaporó, dando 1,1 g del producto intermedio (42).

Ejemplo A.11

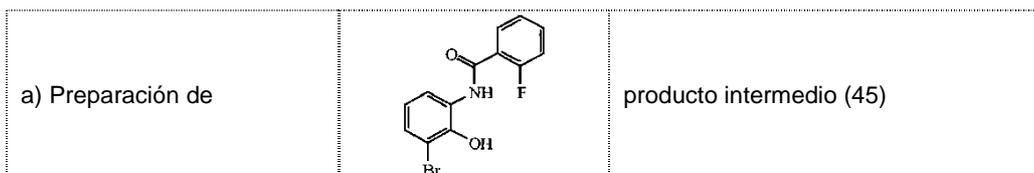


5 Se desgasificaron el producto intermedio (18) (2,7 mmoles) y cianuro de cobre (6,8 mmoles) en DMF (15 ml) y a continuación se agitó bajo atmósfera de nitrógeno a 140 °C durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió hidróxido sódico (200 ml, 0,2 N). La mezcla se extrajo dos veces con 100 ml de EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con agua y salmuera y se secó sobre MgSO₄ y se concentró a vacío, dando 255 mg del producto intermedio (43).

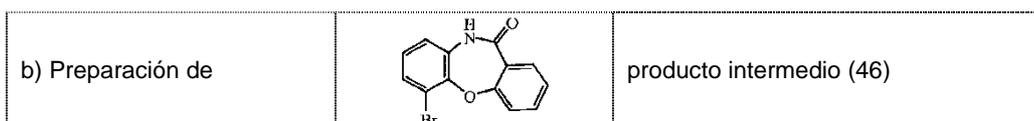


10 Se agitaron el producto intermedio (43) (1,125 mmoles) y óxido de manganeso (3,375 mmoles) en tolueno (15 ml) a 80 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se filtró sobre una almohadilla de Dicalite, eluyente tolueno, a continuación DCM. Se concentró la fase de DCM y se purificó usando el método de purificación C, dando 90 mg del producto intermedio (44).

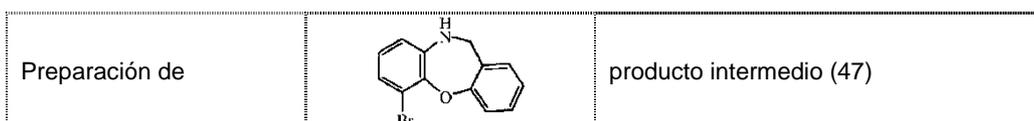
Ejemplo A.12



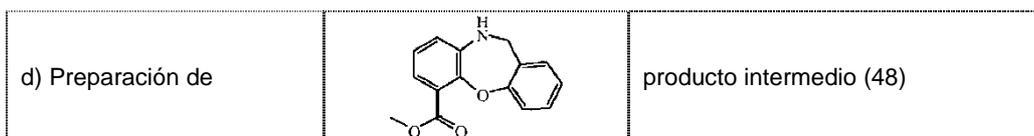
20 Se añadió gota a gota cloruro de 2-fluoro-benzoilo (15,6 mmoles) en THF (25 ml) a una mezcla de 2-amino-6-bromo-fenol (15,6 mmoles) y trietilamina (31,1 mmoles) en THF (75 ml) a 0 °C. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta temperatura ambiente y se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se vertió en agua (400 ml) y se acidificó a pH 4-5 con HCl 1 N acuoso. La fase acuosa se extrajo dos veces con 200 ml de DCM. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró a vacío. El residuo se purificó usando el método de purificación A, dando 2,8 g del producto intermedio (45).



30 Se sometieron el producto intermedio (45) (8,9 mmoles) e hidróxido sódico (polvo, 8,9 mmoles) en DMF (60 ml) a reflujo durante 5 horas. La mezcla de reacción se vertió sobre agua con hielo (800 ml) y el precipitado resultante se separó por filtración y se lavó con NaOH 1 N acuoso y agua, a continuación se secó a vacío, dando el producto intermedio (46).

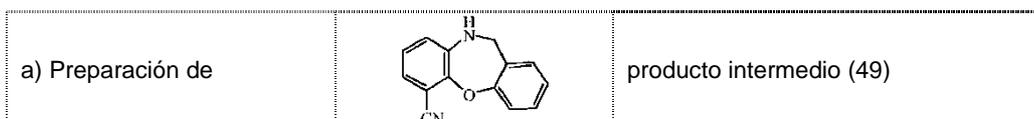


35 A una suspensión del producto intermedio (46) (8,445 mmoles) en THF (80 ml) se añadió borano 1 M en THF (25,3 mmoles) a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante el fin de semana. La mezcla de reacción se enfrió sobre hielo y se añadieron 100 ml de HCl 1 N acuoso. La mezcla se concentró parcialmente a vacío, a continuación se basificó con NaHCO₃ sólido (pH aproximadamente 7). La fase acuosa se extrajo dos veces con 150 ml de DCM. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró. El residuo se purificó usando el método de purificación A, dando 1,350 g del producto intermedio (47).

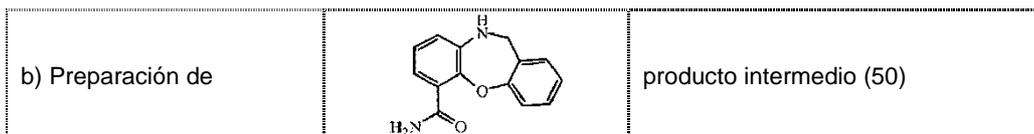


Se cargó un autoclave de acero inoxidable de 75 ml bajo atmósfera de nitrógeno con el producto intermedio (47) (2,3 mmoles), Pd(OAc)₂ (0,046 mmoles), 1,3-bis(difenilfosfino)propano (0,093 mmoles), acetato de potasio (6,95 mmoles) en metanol (20 ml) y THF (20 ml). El autoclave se cerró y se presurizó a 50 bar de CO y la reacción se llevó a cabo durante 16 horas a una temperatura de 125 °C. La mezcla de reacción se filtró sobre Dicalite, se concentró a vacío, y el residuo se repartió entre NaHCO₃ acuoso saturado y DCM. La fase orgánica se secó sobre MgSO₄ y se concentró, dando 550 mg del producto intermedio (48).

Ejemplo A.13



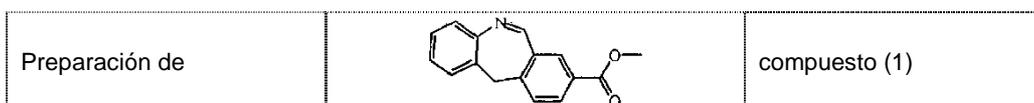
Se desgasificaron el producto intermedio (47) (2,716 mmoles), cianuro de cobre (6,79 mmoles) y a continuación se agitaron bajo nitrógeno a 140 °C durante la noche. La mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente y se añadió una disolución acuosa de NaOH (200 ml, 0,2 N). La mezcla se extrajo dos veces con 100 ml de EtOAc. La fase orgánica combinada se lavó con agua y salmuera y se secó sobre MgSO₄, se concentró a vacío, dando 500 mg del producto intermedio (49), que se usó como tal en la siguiente etapa.



Se agitó el producto intermedio (49) (2,25 mmoles) en ácido sulfúrico (3 ml) a temperatura ambiente durante la noche y a continuación se agitó otros 2 días a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vertió sobre 100 ml de agua con hielo y se basificó con disolución acuosa de NH₃ y a continuación se extrajo dos veces con 100 ml de DCM. La fase orgánica combinada se lavó con salmuera, se secó sobre MgSO₄ y se concentró, dando 510 mg del producto intermedio (50).

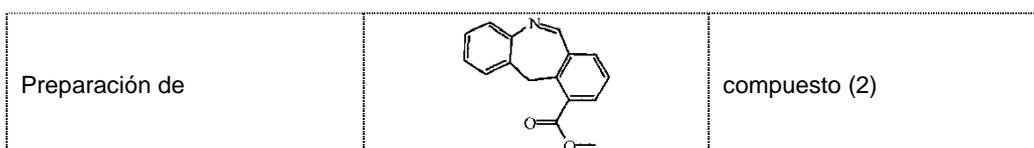
B. Preparación de los compuestos finales

Ejemplo B.1



Se agitó una mezcla del producto intermedio (3) (0,010 moles), 1,1'-(1,3-propanodiol)bis[1,1-difenilfosfina] (0,08 g), Pd(OAc)₂ (0,02 g) y trietilamina (3 g) en metanol (50 ml) y THF (50 ml) en un autoclave a 125 °C durante 16 horas bajo 50 atmósferas de presión de CO, a continuación durante 4 horas a 150 °C. Se enfrió la mezcla de reacción y se filtró sobre Dicalite. Se evaporó el disolvente del filtrado. El residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa (método B). Se recogió la fracción deseada y el disolvente se evaporó, dando 380 mg del compuesto (1).

Ejemplo B.2

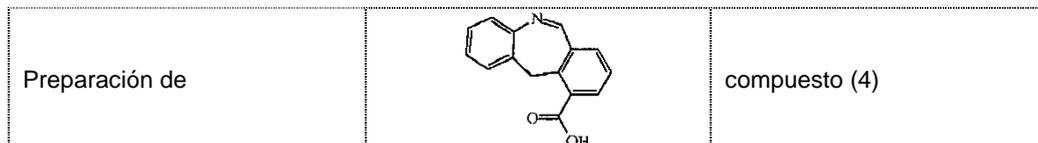


Se agitó una mezcla del producto intermedio (5) (0,00735 moles) y óxido de manganeso (0,0367 moles) en tolueno (20 ml) a 90 °C durante 4 horas. La mezcla de reacción se filtró sobre una almohadilla de gel de sílice (eluyente: tolueno, a continuación CH₂Cl₂). Se concentró la fase de CH₂Cl₂ (amarilla). El residuo se purificó por cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: heptano/EtOAc 100/0 a 70/30). Se recogieron las fracciones de producto y

se evaporó el disolvente. El residuo se trituró bajo DIPE, se separó por filtración y se secó, dando 1,35 g del compuesto (2).

Ejemplo B.3

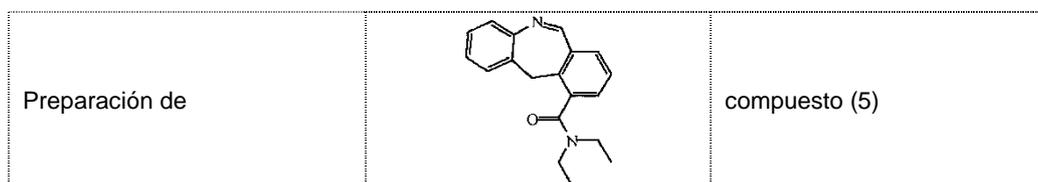
5



Se agitó una mezcla del producto intermedio (5) (0,001 moles) en THF (30 ml) y LiOH (disolución acuosa 1 N, 10 ml) a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla de reacción se calentó durante la noche a 50 °C, a continuación se dejó reposar durante el fin de semana a temperatura ambiente. La mezcla se concentró a vacío. El residuo se purificó mediante HPLC de fase inversa (método A), dando 0,100 g de compuesto (4).

10

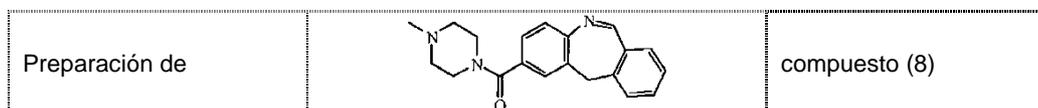
Ejemplo B.4



15 Reacción de Heck con inserción de CO. Se hizo reaccionar una mezcla del producto intermedio (4) (0,003 moles), *N*-etil-etanamina (1 g), Pd(OAc)₂ (0,010 g) y 1,1'-(1,3-propanodiol)bis[1,1-difenil-fosfina] (0,040 g) en THF (50 ml) en un reactor a presión a 150 °C durante 16 horas bajo 50 atmósferas de presión de CO. La mezcla de reacción se filtró a través de Dicalite y el filtrado se concentró. El residuo se purificó por HPLC de fase inversa (método A). Se recogió la fracción deseada y el disolvente se evaporó, dando 0,006 g del compuesto (5).

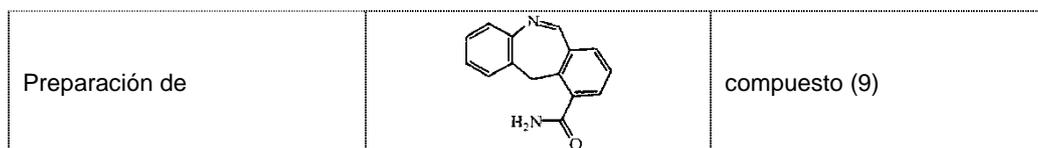
20

Ejemplo B.5



25 Se almacenó una mezcla del producto intermedio (7) (1,58 mg) en DMSO (0,49 ml) a temperatura ambiente durante aproximadamente 6 meses, dando 0,71 mg del compuesto (8) como una disolución en DMSO.

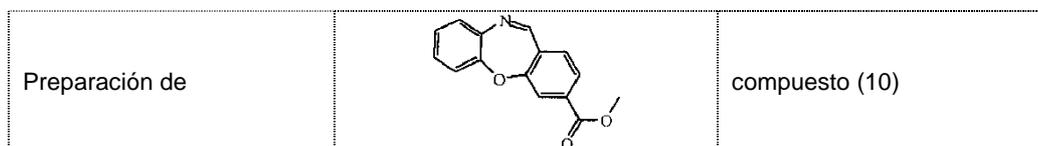
Ejemplo B.6



30 Se agitaron el producto intermedio (9) y ácido sulfúrico a una temperatura entre 0 y 5 °C durante 2 horas. La mezcla se mantuvo con agitación a temperatura ambiente durante 4 días. La mezcla de reacción se vertió sobre 50 ml de agua con hielo, y se basificó con una disolución acuosa concentrada de NH₃. El precipitado formado se separó por filtración, se disolvió en metanol y se concentró. El residuo se purificó mediante RP-HPLC (método A) dando el compuesto (9).

35

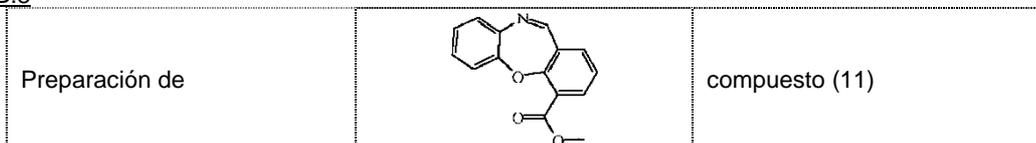
Ejemplo B.7



40 Se agitó una mezcla del producto intermedio (14) (3,016 mmoles) y óxido de manganeso (9,049 mmoles) en tolueno (20 ml) a 80 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se filtró sobre un almohadilla de Dicalite (eluyente tolueno,

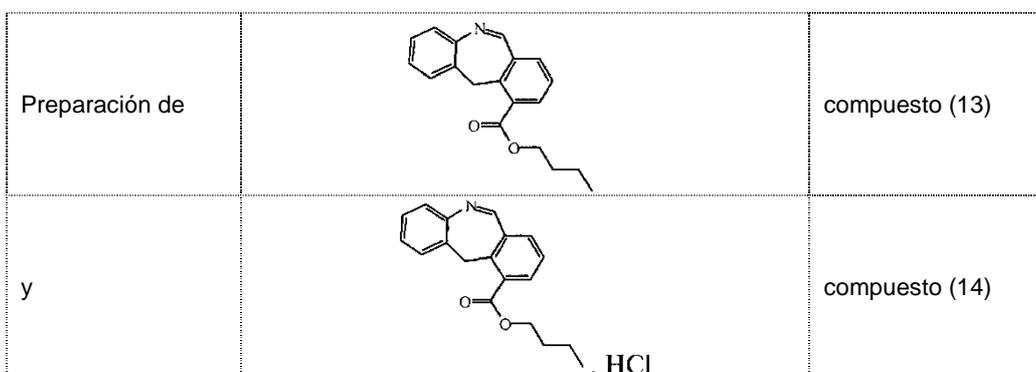
luego CH₂Cl₂), y se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyente: heptano/EtOAc 100/0 a 50/50), dando una fracción pura, que después se concentró a vacío, solidificó en DIPE, se separó por filtración y se secó, dando 50 mg del compuesto (10).

5 Ejemplo B.8



10 Se agitó una mezcla del producto intermedio 19 (1,998 mmoles) y óxido de manganeso (5,994 mmoles) en tolueno (20 ml) a 80 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se filtró sobre una almohadilla de Dicalite (eluyente tolueno, luego CH₂Cl₂). Se concentró la fase de CH₂Cl₂ (amarilla) y se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyente CH₂Cl₂/CH₃OH(NH₃) 100/0 a 99/1). Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se evaporó, dando 440 mg del compuesto (11).

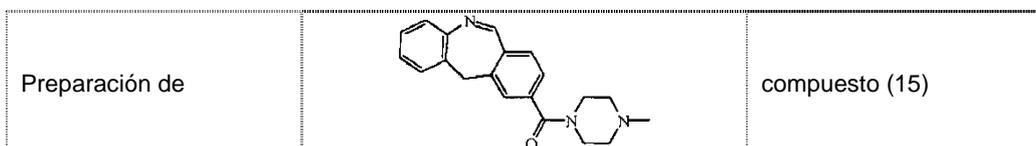
Ejemplo B.9



15 Se agitó una mezcla del producto intermedio (20) (2,404 mmoles) y óxido de manganeso (7,211 mmoles) en tolueno (20 ml) a 80 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se filtró sobre una almohadilla de Dicalite, eluyente tolueno, luego CH₂Cl₂. Se concentró la fase de CH₂Cl₂ y se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyente CH₂Cl₂/CH₃OH(NH₃) 100/0 a 99/1). Se recogieron las fracciones puras y el disolvente se evaporó, dando 630 mg del compuesto (13).

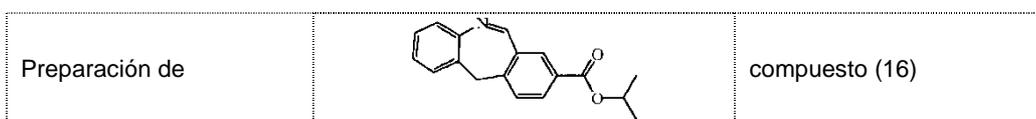
20 Se disolvió una parte (587 mg) del compuesto (13) en éter dietílico (12 ml) y se añadió 1 ml de HCl 2 N en éter dietílico. El material pegajoso resultante se disolvió añadiendo 1,5 ml de CH₃CN. A continuación se añadieron 1,5 ml de éter diisopropílico, después de lo cual el producto cristalizó. El sólido se separó por filtración y se lavó con éter diisopropílico y se secó a vacío, dando 616 mg del compuesto (14).

Ejemplo B.10



30 Se almacenó una mezcla del producto intermedio (22) (0,00492 mmoles) en DMSO (0,7 ml) a temperatura ambiente durante aproximadamente 6 meses, dando 0,45 mg del compuesto (15) como una disolución en DMSO.

Ejemplo B.11

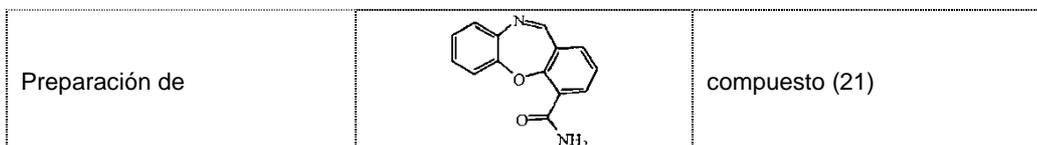


35 Se agitó una mezcla del producto intermedio (23) (1,15 mmoles) y óxido de manganeso (3,451 mmoles) en tolueno (15 ml) a 80 °C durante 3 horas. La mezcla de reacción se filtró sobre una almohadilla de Dicalite, eluyente tolueno, luego CH₂Cl₂. Se concentró la fase de CH₂Cl₂ y se purificó por cromatografía en gel de sílice (eluyente: CH₂Cl₂). Se

recogieron las fracciones puras y se evaporó el disolvente. El residuo se purificó adicionalmente mediante HPLC de fase inversa (método A), dando 40 mg del compuesto (16).

Ejemplo B.12

5

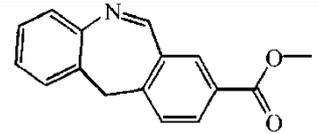
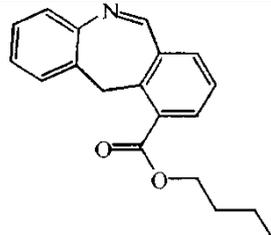
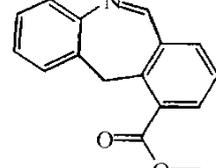
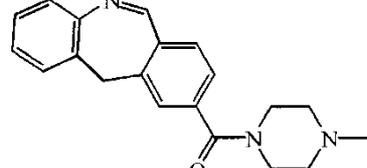
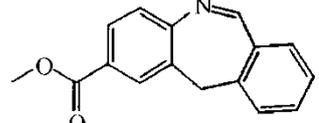
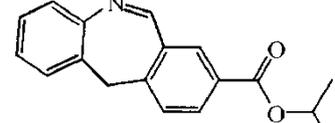
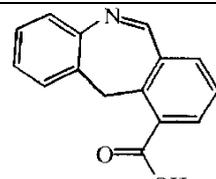
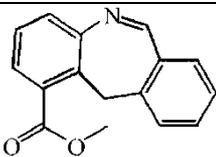
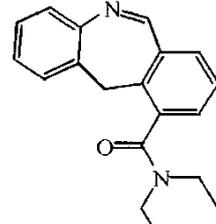
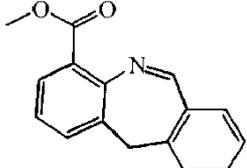


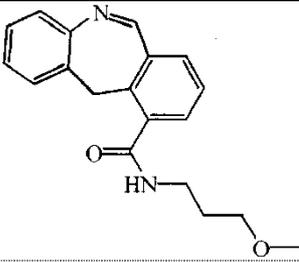
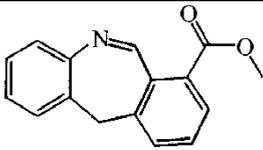
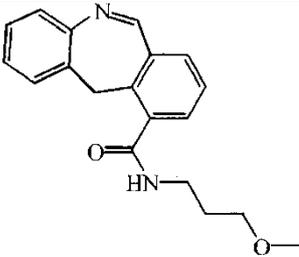
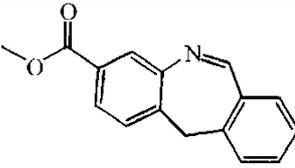
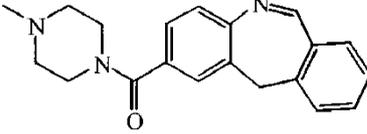
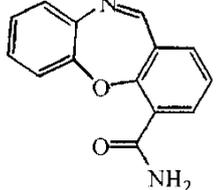
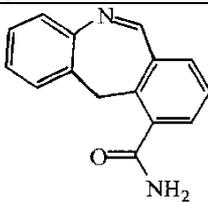
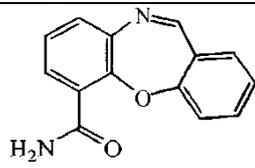
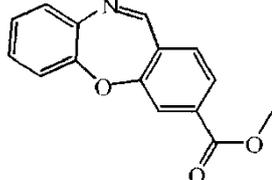
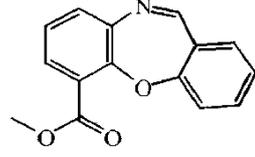
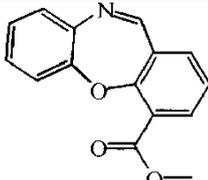
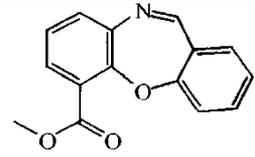
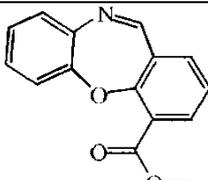
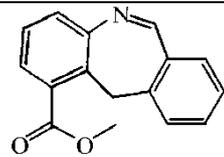
Se agitó una mezcla del producto intermedio (44) (0,272 mmoles) en H₂SO₄ (2 ml) durante dos días. La mezcla de reacción se vertió sobre agua (100 ml) y se basificó con una disolución acuosa de NH₃. Esta mezcla se extrajo con DCM (dos veces 200 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄) y se concentraron, dando el compuesto (21).

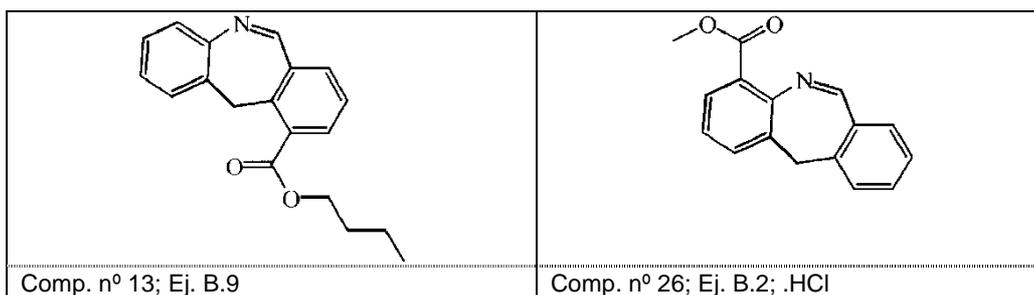
10

La Tabla 1 enumera los compuestos que se prepararon según uno de los ejemplos anteriores.

Tabla 1

	
Comp. nº 1; Ej. B.1	Comp. nº 14; Ej. B.9
	
Comp. nº 2; Ej. B.2	Comp. nº 15; Ej. B.10
	
Comp. nº 3; Ej. B.2	Comp. nº 16; Ej. B.11
	
Comp. nº 4; Ej. B.3	Comp. nº 17; Ej. B.2
	
Comp. nº 5; Ej. B.4	Comp. nº 18; Ej. B.2

	
Comp. n° 6; Ej. B.4	Comp. n° 19; Ej. B.2
	
Comp. n° 7; Ej. B.4	Comp. n° 20; Ej. B.2
	
Comp. n° 8; Ej. B.5	Comp. n° 21; Ej. B.12
	
Comp. n° 9; Ej. B.6	Comp. n° 22; Ej. B.2
	
Comp. n° 10; Ej. B.7	Comp. n° 23; Ej. B.2 *
	
Comp. n° 11; Ej. B.8	Comp. n° 24; Ej. B.2; .HCl *
	
Comp. n° 12; Ej. B.8	Comp. n° 25; Ej. B.2; .HCl



* no según la invención

C. Parte analítica

C.1. Procedimiento general 1 de CL-EM

5 La medición de CL se realizó usando un sistema Acquity UPLC (Waters) que comprende una bomba binaria, un organizador de muestras, un calentador de la columna (fijado a 55 °C), un detector de matriz de diodos (DAD) y una columna como se especifica en los métodos respectivos más adelante. El flujo de la columna se dividió en un espectrómetro de EM. El detector de EM se configuró con una fuente de ionización por electropulverización. Se adquirieron espectros de masas barriendo de 100 a 1000 en 0,18 segundos usando un tiempo de muestreo de 0,02 segundos. El voltaje de la aguja capilar fue 3,5 kV y la temperatura de la fuente se mantuvo a 140 °C. Se usó nitrógeno como gas nebulizador. La adquisición de datos se realizó con un sistema de datos Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

15 Se llevó a cabo UPLC de fase inversa (cromatografía de líquidos de ultra-rendimiento) sobre una columna C18 de híbrida de etilsiloxano/sílice con puente (BEH) (1,7 µm, 2,1 x 50 mm; Waters Acquity) con una velocidad de flujo de 0,8 ml/min. Se usaron dos fases móviles (fase móvil A: 0,1 % de ácido fórmico en H₂O/metanol 95/5; fase móvil B: metanol) para ejecutar una condición de gradiente del 95 % de A y 5 % de B al 5 % de A y 95 % de B en 1,3 minutos y se mantuvieron durante 0,2 minutos. Se usó un volumen de inyección de 0,5 µl. El voltaje del cono fue 10 V para el modo de ionización positiva y 20 V para el modo de ionización negativa.

C.2. Procedimiento general 2 de CL-EM

25 La medición de HPLC se realizó usando un sistema Alliance HT 2790 (Waters) que comprende una bomba cuaternaria con desgasificador, un inyector automático, un horno de columna (fijado a 40 °C, a menos que se indique lo contrario), un detector de matriz de diodos (DAD) y una columna como se especifica en los métodos respectivos más adelante. El flujo de la columna se dividió en un espectrómetro de EM. El detector de EM se configuró con una fuente de ionización por electropulverización. Se adquirieron espectros de masas barriendo de 100 a 1000 en 1 segundo usando un tiempo de muestreo de 0,1 segundos. El voltaje de la aguja capilar fue 3 kV y la temperatura de la fuente se mantuvo a 140 °C. Se usó nitrógeno como gas nebulizador. La adquisición de datos se realizó con un sistema de datos Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

35 El calentador de la columna se fijó a 45 °C. Se llevó a cabo HPLC de fase inversa sobre una columna C18 de EM Xterra (3,5 µm, 4,6 x 100 mm) con una velocidad de flujo de 1,6 ml/min. Se emplearon tres fases móviles (fase móvil A: 0,1 % de ácido fórmico en H₂O/metanol 95/5; fase móvil B: acetonitrilo; fase móvil C: metanol) para ejecutar una condición de gradiente del 100 % de A al 1 % de A, 49 % de B y 50 % de C en 7 minutos y se mantuvieron estas condiciones durante 1 minuto. Se usó un volumen de inyección de 10 µl. El voltaje del cono fue 10 V para el modo de ionización positiva.

C.3 Puntos de fusión

40 Para varios compuestos, se determinaron los puntos de fusión (p.f.) con un DSC823e (Mettler-Toledo). Se midieron puntos de fusión con un gradiente de temperatura de 30 °C/minuto. Los valores informados son valores del pico. La máxima temperatura fue 400 °C. Se obtienen valores con incertidumbres experimentales que están comúnmente asociadas a este método analítico.

Tabla 2: Datos analíticos - Tiempo de retención (R_t en minutos), (MH)⁺ pico (de la base libre), procedimiento de CL-EM y puntos de fusión (p.f. se define como punto de fusión).

Comp. nº	R _t	(MH) ⁺	Procedimiento de CL-EM	p.f. (°C)
1	-	-	-	137,9
2	1,17	252	1	-
3	1,18	252	1	111,9

Comp. nº	R _t	(MH) ⁺	Procedimiento de CL-EM	p.f. (°C)
4	0,93	238	1	-
5	1,09	293	1	-
6	0,93	309	1	-
7	0,92	309	1	-
8	0,63	320	1	-
9	0,66	237	1	-
10	1,24	254	1	105,4
11	1,16	254	1	205,5
12	1,16	254	1	-
13	1,43	294	1	-
14	1,43	294	1	173,0
15	0,57	320	1	-
16	1,34	280	1	-
17	1,21	252	1	89,9
18	1,2	252	1	-
19	1,17	252	1	123,9
20	5,39	252	2	106,0
21	0,83	239	1	193,0
22	0,84	239	1	193,2
23	1,2	254	1	-
24	1,2	254	1	-
25	1,21	252	1	-
26	1,2	252	1	-

D. Ejemplos farmacológicos

Célula y cultivo

5

Se clonó el gen TRPA1 humano en el vector inducible pT-REx-Dest30 y después se transfectó establemente en células T-Rex™-293 (compradas de Invitrogen, Merelbeke, Bélgica). Se usó este sistema de expresión de hTRPA1 inducible por tetraciclinas con el fin de prevenir la sobrecarga de Ca²⁺ en las células cultivadas debido a la expresión sostenida de TRPA1. Se mantuvieron células hTRPA1/TREx-HEK293 (denominadas células hTRPA1 en el siguiente texto) bajo condiciones de cultivo celular estéril estándar. El medio de cultivo para las células hTRPA1-HEK fue DMEM (Gibco BRL, Invitrogen, Merelbeke, Bélgica) complementado con 0,5 g/l de geneticina (Gibco), 5 mg/l de blasticidina (Invitrogen), 14,6 g/l de L-glutamina (200 mM; Gibco), 5 g/l de penicilina/estreptomina (5·10⁻⁶ UI/l, Gibco), 5,5 g/l de ácido pirúvico (Gibco) y 10 % de suero bovino fetal (Hyclone, Logan UT, EE.UU.).

10

15 Fluorimetría de Ca²⁺

20

La unión de un agonista al canal de iones TRPA1 activa y abre el canal de iones que produce un fuerte aumento en la concentración de Ca²⁺ intracelular. Para detectar y medir la concentración de Ca²⁺ intracelular, las células se cargaron con un colorante sensible a Ca²⁺. Pueden monitorizarse cinéticamente cambios en la fluorescencia en la célula, que se corresponden con cambios en la concentración de Ca²⁺ en la célula, con el instrumento FDSS (Hamamatsu) y son indicativos del agonismo hacia el canal de iones TRPA1.

25

Para las mediciones de Ca²⁺ fluorométricas, células hTRPA1-HEK se resuspendieron en medio de siembra HBSS: HBSS (con CaCl₂ y MgCl₂; Gibco) complementado con 14,6 g/l de L-glutamina (200 mM; Gibco), 5 g/l de penicilina/estreptomina (5·10⁻⁶ UI/l, Gibco), 5,5 g/l de ácido pirúvico (Gibco), HEPES 5 mM (Gibco), 5 ml de insulina-transferrina-selenio-x (Gibco) y 10 % de suero bovino fetal (inactivado por calor durante 30 minutos a 56 °C; Hyclone, Logan UT, EE.UU.). Las células se sembraron en placas de polipropileno de fondo redondo de 384 pocillos recubiertas con poli-D-lisina (Costar Corning, Data Packaging, Cambridge MA, EE.UU.) a 12000 células/pocillo. Se añadieron 50 ng/ml de tetraciclina para inducir la expresión de hTRPA1 24 h antes del experimento.

30

35

Las células se cargaron con 5 mg/l de Fluo4-AM (Molecular Probes, Invitrogen, Merelbeke, Bélgica) disuelto en medio de siembra HBSS complementado con 0,7 g/l de Probenecid (Sigma) y se incubaron durante 1 h a 37 °C y posteriormente a 20 °C durante 1 a 2 h. La fluorescencia se midió en lector de placas basándose en la obtención de imágenes FDSS 6000 (Hamamatsu Photonics K.K., Hamamatsu City, Japón). La longitud de onda de excitación fue 488 nm y la longitud de onda de emisión 540 nm. Después de un periodo de control de 12 segundos, los compuestos se añadieron y la señal del Ca²⁺ se midió en el plazo de 14 minutos después de la aplicación.

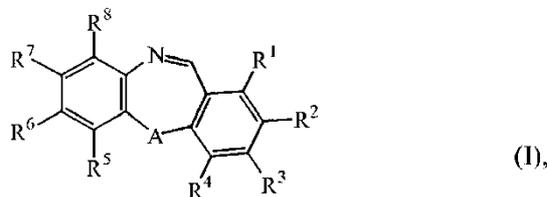
Tabla 3: Valores de pEC50 para el agonismo de TRPA1

Comp. nº	pEC50	Comp. nº	pEC50
1	7,03	14	8,25
2	10,00	15	5,79
3	9,24	16	6,03
4	6,44	17	9,24
5	7,35	18	7,56
6	8,06	19	7,54
7	8,23	20	7,55
8	8,50	21	10,12
9	8,60	22	9,94
10	7,28	23 *	9,93
11	10,09	24 *	10,13
12	10,22	25	9,35
13	8,07	26	7,42

* no según la invención

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula (I)



5

que incluye cualquier forma estereoquímicamente isomérica del mismo, en la que

A es CH₂, CO u O;

10 R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ y R⁸ están seleccionados cada uno independientemente de hidrógeno, halógeno, hidroxilo, alquilo C₁₋₆, polihaloalquilo C₁₋₆, cicloalquilo C₃₋₆, alquilo C₁₋₆, polihaloalquilo C₁₋₆, COOR⁹ o CONR¹⁰R¹¹;

en la que R⁹, R¹⁰ y R¹¹ están seleccionados cada uno independientemente de hidrógeno, alquilo C₁₋₆, alquilo C₁₋₄, alquilo C₁₋₄, polihaloalquilo C₁₋₆, polihaloalquilo C₁₋₄, cicloalquilo C₃₋₆, cicloalquilo C₃₋₆-alquilo C₁₋₄, aminoalquilo C₂₋₅, mono- o (dialquilo C₁₋₄) aminoalquilo C₂₋₅; y

15 en la que NR¹⁰R¹¹ puede formar un anillo heterocíclico seleccionado de pirrolidina, piperidina, morfolina, piperazina, o piperazina sustituida con alquilo C₁₋₄;

a condición de que al menos uno de R¹ a R⁸ se defina como COOR⁹ o CONR¹⁰R¹¹; y

a condición de que cuando el radical A represente O, entonces los sustituyentes R⁵ a R⁸ no deban ser COOR⁹;

o una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable del mismo, o un solvato del mismo, o un N-óxido del mismo.

20

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que uno de los sustituyentes R¹ a R⁸ es COOR⁹, en la que R⁹ es alquilo C₁₋₄ o CONH₂.

25 3. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que uno de los sustituyentes R¹ a R⁸ es COOR⁹, en la que R⁹ es alquilo C₁₋₄ o CONH₂, y los otros sustituyentes R¹ a R⁸ son hidrógeno y A es CH₂, CO u O.

30 4. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que R⁴ es COOR⁹ en la que R⁹ es alquilo C₁₋₄ o CONH₂, y los sustituyentes R¹, R², R³, R⁵, R⁶, R⁷ y R⁸ son hidrógeno y A es CH₂ u O, o R⁶ es COOR⁹ en la que R⁹ es alquilo C₁₋₄, y los sustituyentes R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁷ y R⁸ son hidrógeno y A es CH₂, o R⁵ es COOR⁹ en la que R⁹ es alquilo C₁₋₄, y los sustituyentes R¹, R², R³, R⁴, R⁶, R⁷ y R⁸ son hidrógeno y A es CH₂.

5. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente activa de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4.

35 6. Un proceso para preparar una composición farmacéutica según la reivindicación 5, en el que una cantidad terapéuticamente activa de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 se mezcla íntimamente con un vehículo farmacéuticamente aceptable.

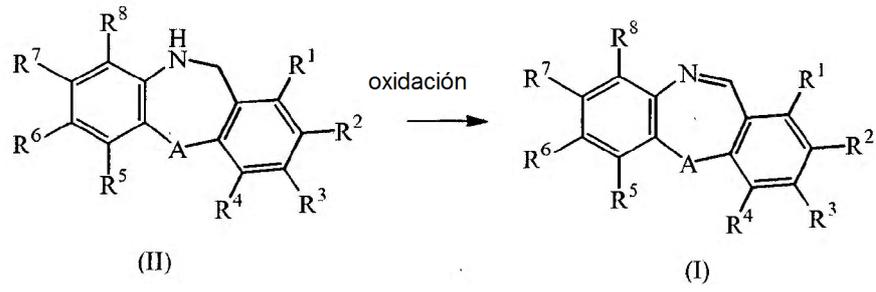
40 7. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4 para su uso como una medicina.

8. Uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 como agente en un ensayo de cribado para identificar antagonistas de TRPA1.

45 9. Uso de un compuesto de fórmula (I) como se define en la reivindicación 1 como agente para el control de disturbios como un gas lacrimógeno o un agente incapacitante, control para plagas animales y para auto-defensa.

10. Un proceso para preparar un compuesto de fórmula (I) en el que

50 a) un compuesto intermedio de fórmula (II), en la que los sustituyentes R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷, R⁸ y A son como se han definido en la reivindicación 1, se oxida



5 o b) compuestos de fórmula (I) se convierten entre sí siguiendo reacciones de transformación conocidas en la técnica; o si se desea; un compuesto de fórmula (I) se convierte en una sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable, o en cambio, una sal de adición de ácido de un compuesto de fórmula (I) se convierte en una forma de base libre con álcali; y, si se desea, preparando formas estereoquímicamente isoméricas del mismo.