

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 581 540**

51 Int. Cl.:

C07D 495/10 (2006.01)
C07D 498/10 (2006.01)
C07D 513/10 (2006.01)
A61K 31/381 (2006.01)
A61K 31/4184 (2006.01)
A61K 31/4245 (2006.01)
A61K 31/547 (2006.01)
A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **10.05.2013 E 13722992 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.04.2016 EP 2855486**

54 Título: **Derivados de espiro-tetrahydro-benzotiofeno útiles para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas**

30 Prioridad:

31.05.2012 EP 12170227
04.06.2012 US 201261655078 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
06.09.2016

73 Titular/es:

ARES TRADING SA (100.0%)
Zone Industrielle de l'Ouriettaz
1170 Aubonne, Vaud, CH

72 Inventor/es:

QUATTROPANI, ANNA y
SWINNEN, DOMINIQUE

74 Agente/Representante:

CARVAJAL Y URQUIJO, Isabel

ES 2 581 540 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

Derivados de espiro-tetrahydro-benzotiofeno útiles para el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas

5 La presente invención se refiere a derivados de espiro-tetrahydro-benzotiofeno y al uso farmacéutico de los mismos. Más particularmente, la presente invención se refiere un compuesto que disminuyen la producción de péptido amiloide β (denominado a continuación en el presente documento $A\beta$) por medio de la inhibición de la enzima 1 de escisión de la proteína precursora de amiloide de sitio β (denominada a continuación en el presente documento BACE-1) y son eficaces para tratar enfermedades neurodegenerativas provocadas por la proteína $A\beta$ proteína, en particular, enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down o similares, y a una composición farmacéutica que
10 comprende tal compuesto como principio activo.

La enfermedad de Alzheimer (EA) es un trastorno neurodegenerativo progresivo marcado por pérdida de memoria, de cognición y de estabilidad del comportamiento. EA afecta al 6-10% de la población de más de 65 años y hasta el 50% de más de 85. Es la principal causa de demencia y la tercera causa principal de muerte tras enfermedad cardiovascular y cáncer. En la actualidad, no existen tratamientos eficaces para la EA y el tratamiento se limita al uso de agentes sintomáticos tales como el inhibidor de colinesterasa, donepezilo (Aricept®, Pfizer). El coste neto
15 total relacionado con EA en los EE.UU. supera los 100 mil millones de dólares al año.

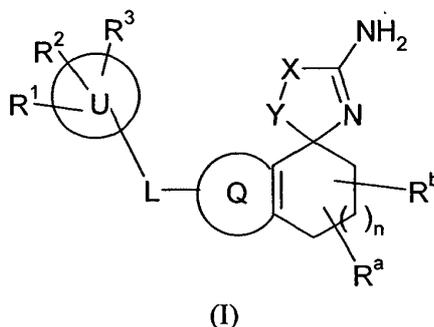
EA se caracteriza a nivel patológico por la presencia de lesiones específicas en las regiones límbicas y corticales del cerebro. Estas incluyen ovillos neurofibrilares intracelulares que consisten en proteína tau hiperfosforilada y la deposición extracelular de agregados fibrilares de péptidos amiloide-beta en forma de placas de amiloide (placas seniles). Los principales componentes de las placas de amiloide plaques son péptidos amiloide-beta (A-beta, Abeta o $A\beta$ de diversas longitudes (39-42 aminoácidos). Se cree que una variante de los mismos, que es el péptido $A\beta$ 1-42 (Abeta1-42, $A\beta$ 42), es la principal especie patógena en el cerebro con EA y puede actuar como simiente para la formación de placas de amiloide. Otra variante es el péptido $A\beta$ 1-40 (Abeta1-40, $A\beta$ 40).
20

La identificación de mutaciones en la proteína precursora de beta-amiloide (beta-APP, β -APP o APP), los genes de presenilina-1 (PS-1) y presenilina-2 (PS-2) que aumentan la producción de $A\beta$ y conducen a formas familiares de aparición temprana de EA han proporcionado un fuerte respaldo a la "hipótesis de la cascada del amiloide" de EA (Hardy, 2006 Curr Alzheimer Res. 3(1):71-73; Tanzi y Bertram, 2005 Cell 120, 545) y a enfoques terapéuticos que seleccionan como diana la producción de $A\beta$. Están surgiendo nuevos datos sobre el papel desempeñado por los péptidos $A\beta$ en otras enfermedades incluyendo, pero sin limitarse a síndrome de Down (SD), deterioro cognitivo leve (DCL), angiopatía amiloide cerebral (AAC), miositis por cuerpos de inclusión (MCI) y degeneración macular asociada a la edad. Así, los agentes reductores de $A\beta$ podrían ser beneficiosos para el tratamiento de diversas patologías en las que están implicados péptidos $A\beta$.
25
30

Los péptidos $A\beta$ se generan tras el procesamiento proteolítico de APP. La generación de péptidos $A\beta$ está regulada por al menos dos actividades proteolíticas denominadas BACE-1 y γ -secretasa. APP se escinde inicialmente por BACE-1 en el extremo N-terminal (enlace Met-Asp) del dominio $A\beta$ lo que conduce a la secreción de APP β soluble (APP β s) y la retención de un fragmento carboxilo-terminal unido a membrana de 12 kDa (CTF β). Este último se escinde posteriormente por γ -secretasa para generar péptidos $A\beta$ de longitud variable y un dominio intracelular de APP (AICD).
35

BACE-1 es una proteasa aspártica transmembrana de tipo I que comprende un gran dominio extracelular que contiene el sitio activo catalítico, un único dominio transmembrana y una cola citoplasmática corta [Hussain *et al.* 1999 Mol. Cell Neurosci. 14(6):419-427]. Debido a su papel central en la generación de $A\beta$, BACE-1 es una diana terapéutica atractiva para la EA. En el documento WO2010/013794 se describen inhibidores de la beta-secretasa ya conocidos.
40

En una realización, la presente invención proporciona compuestos de fórmula (I)



en la que

X indica un grupo seleccionado de -S-CH₂-, -SO-CH₂-, mientras que Y indica un grupo -CH₂-, o alternativamente

5 X-Y forman juntos un grupo -NR⁵-O-, -NR⁵-CO-,

Q indica un anillo de tiofeno,

L indica un enlace sencillo o un grupo -NR⁵-CO-,

U indica un grupo fenilo, piridina o pirimidina,

10 R¹, R², R³ se seleccionan independientemente entre sí de H, CN, halógeno, Ar, Het, A, OA, SO₂A, CO₂A, O(CH₂)Ar, o 2 de R¹, R² y R³ se unen entre sí para formar un anillo de 5 a 8 miembros condensado al anillo U y que contiene opcionalmente de 1 a 3 heteroátomos seleccionados independientemente de O, N o S,

R^a, R^b son independientemente entre sí H, A, Ar, (CH₂)Ar, (CH₂)Het,

R⁵ se selecciona de H, A, (CH₂)-Ar,

15 A es un alquilo lineal o ramificado que tiene de 1 a 6 átomos de carbono en el que de 1 a 6 átomos de hidrógeno pueden estar sustituidos independientemente por un grupo seleccionado de halógeno, -O-alquilo C₁-C₆, CN,

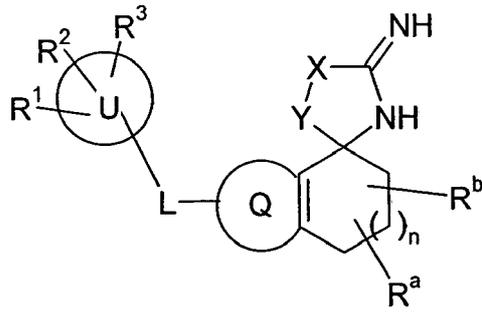
Ar es un anillo aromático de 6 miembros, preferiblemente un fenilo, que puede estar sustituido con de 1 a 3 grupos seleccionados de A, OA, fenilo, piridina, CN, OH, CO₂A,

20 Het es un anillo heterocíclico de 4 a 8 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos seleccionados independientemente de O, S, N o CO, y sustituido opcionalmente con de 1 a 3 grupos seleccionados de A, OA, fenilo, piridina, CN, OH, CO₂A,

n es 0, 1, 2, preferiblemente 1,

así como enantiómeros, diaestereoisómeros, tautómeros de los mismos en todas las razones, y sales de los mismos.

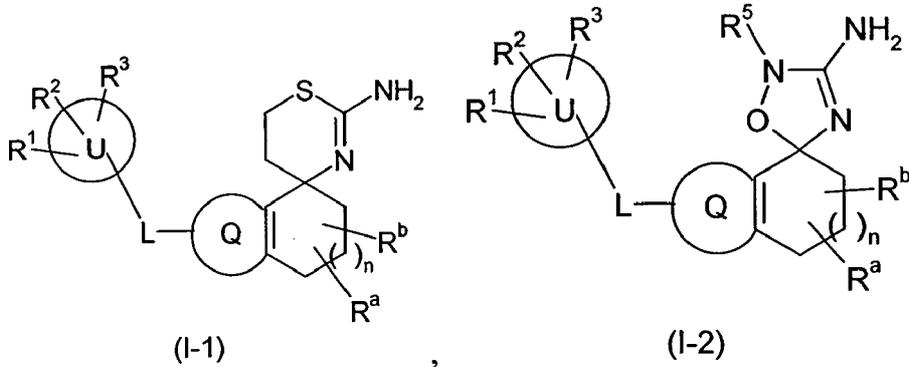
25 En otra realización, la presente invención también abarca compuestos de fórmula (I'), que son tautómeros de los compuestos de fórmula (I)



(I')

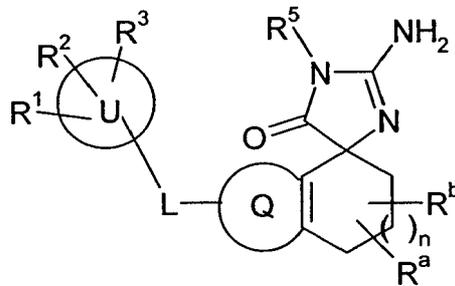
en la que R¹, R², R³, R^a, R^b, U, Q, L, X, n e Y son tal como se definieron anteriormente.

En otra realización la presente invención proporciona compuestos de fórmula (Ia), (Ib) y (Ic):



(I-1)

(I-2)

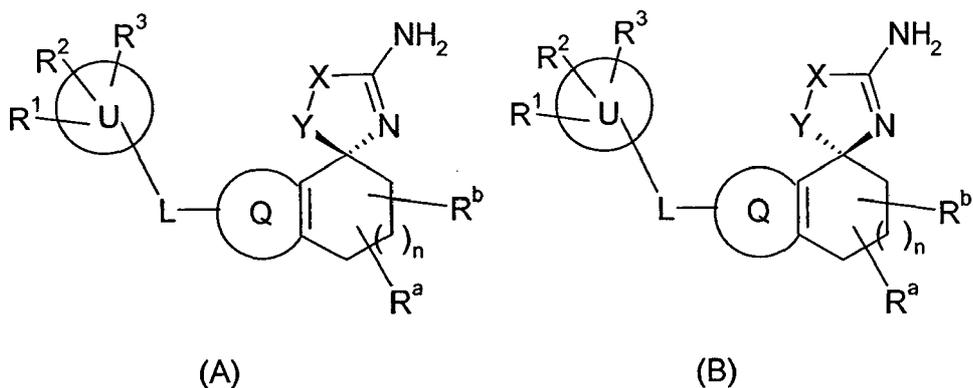


(I-3)

5

en las que R¹, R², R³, R^a, R^b, U, Q, L, X, n e Y son tal como se definieron anteriormente.

Los compuestos de fórmula (I) y fórmulas relacionadas también abarcan los enantiómeros A y B y mezclas de enantiómeros A y B en todas las razones.



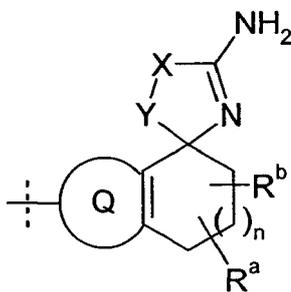
en las que R^1 , R^2 , R^3 , R^a , R^b , U, Q, L, X, n e Y son tal como se definieron anteriormente.

5 En otro aspecto, la presente invención proporciona el uso de los compuestos de fórmula (I) como medicamento. En particular, los compuestos de fórmula (I) se usan en el tratamiento y la profilaxis de enfermedades neurodegenerativas. Ejemplos de enfermedades neurodegenerativas son enfermedad de Alzheimer, síndrome de Down. Síntomas neurodegenerativos adicionales son trastornos de la memoria, dolor neuropático.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un kit o un conjunto que consiste en paquetes separados de

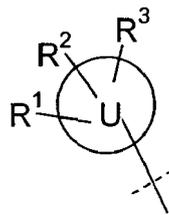
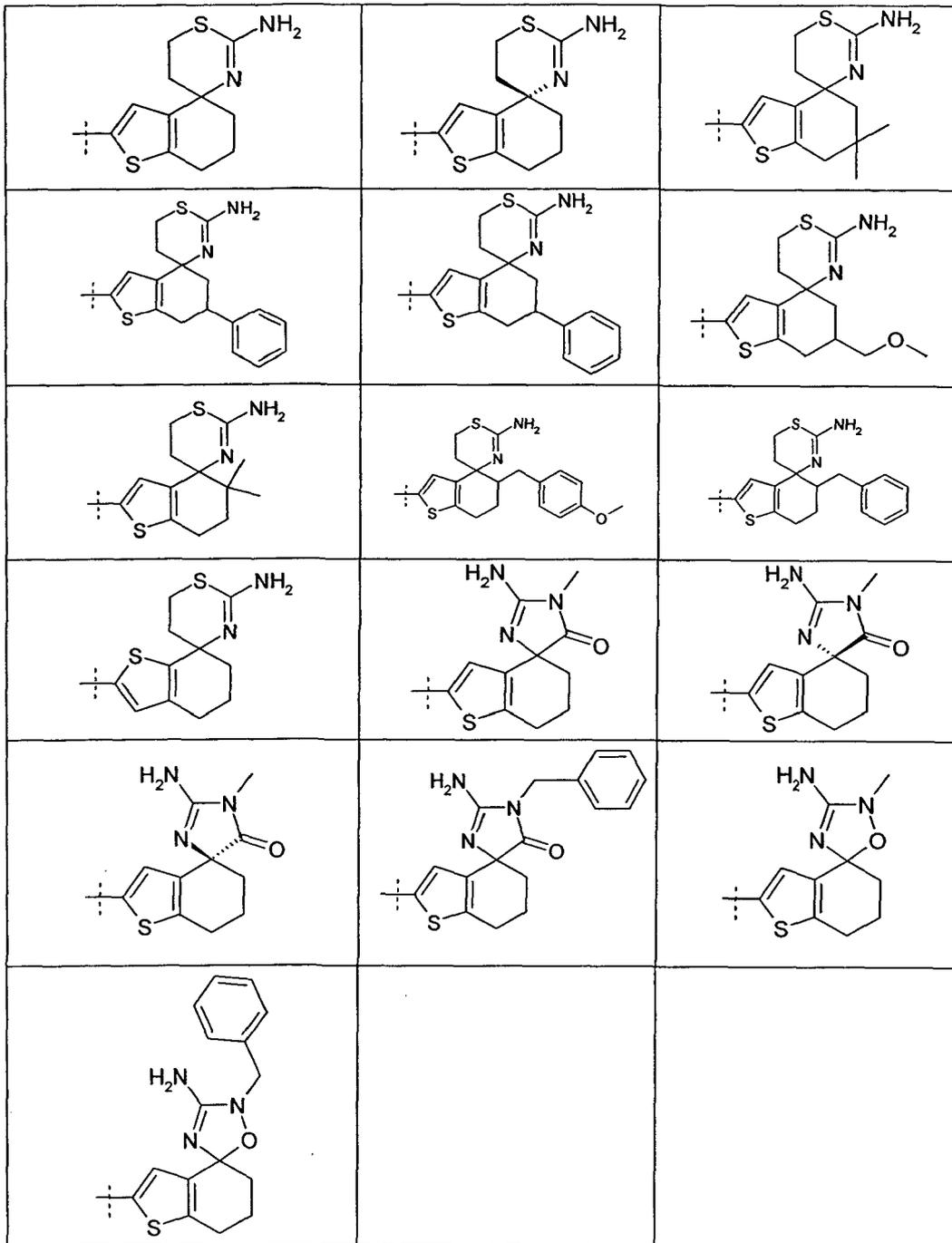
10 (a) una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) según una o más de las reivindicaciones 1 a 5 y/o derivados farmacéuticamente útiles, tautómeros, sales, solvatos y estereoisómeros de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas las razones, y

(b) una cantidad eficaz de un principio activo medicamentoso adicional.



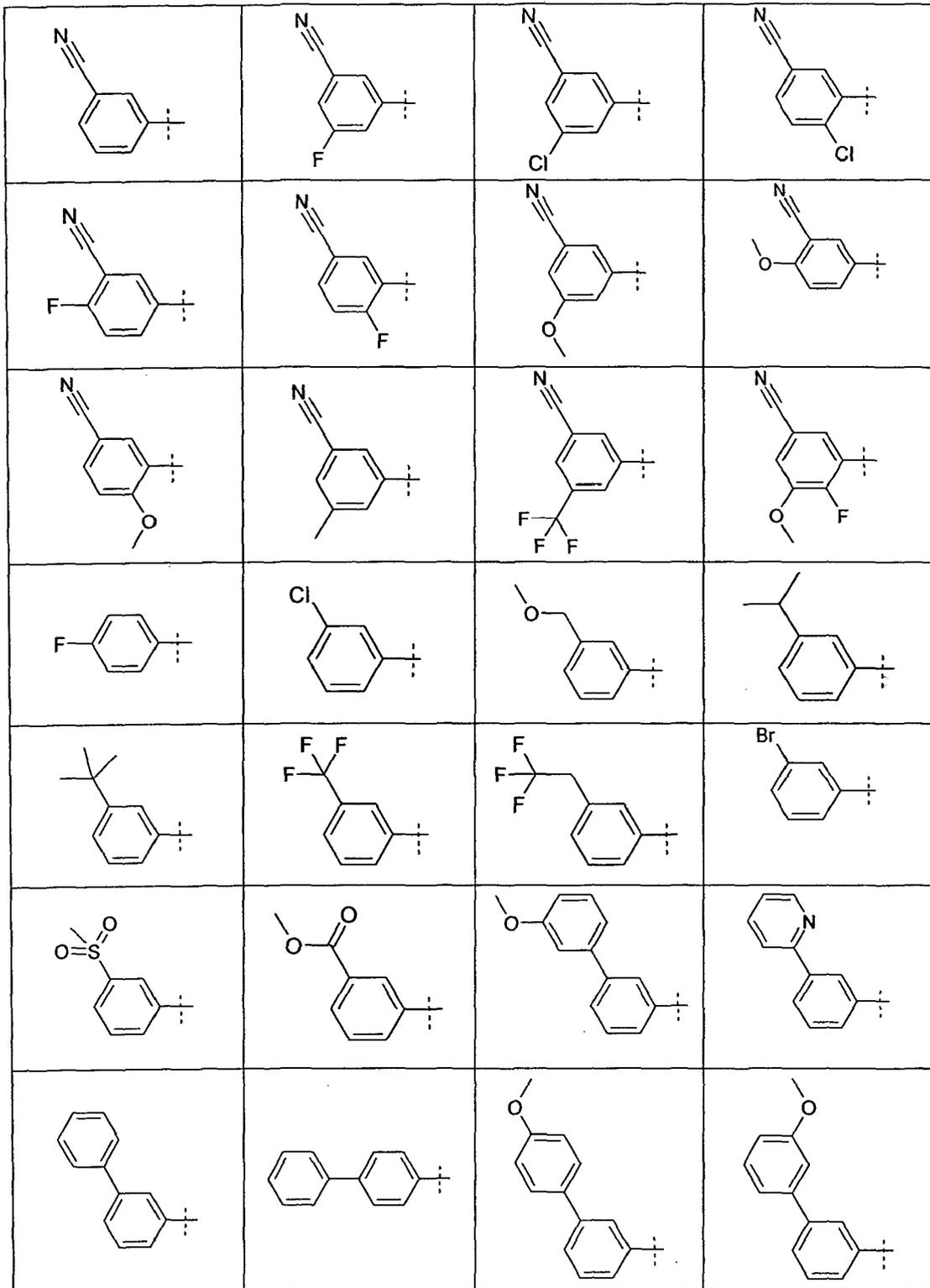
En una realización específica, el grupo

indica uno de los siguientes grupos:



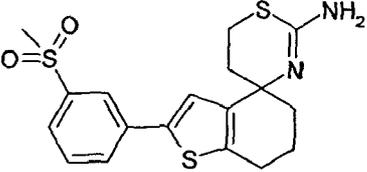
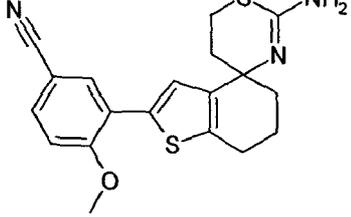
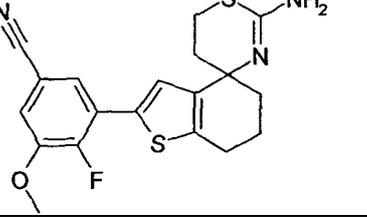
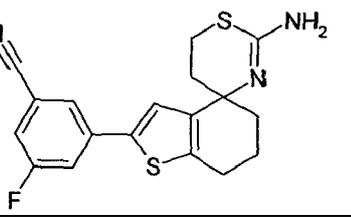
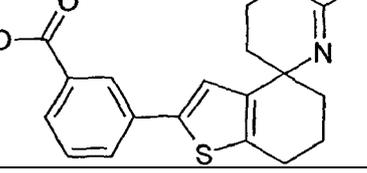
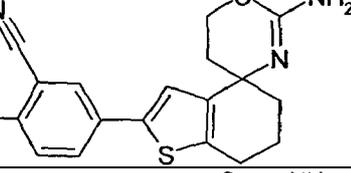
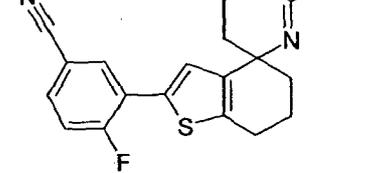
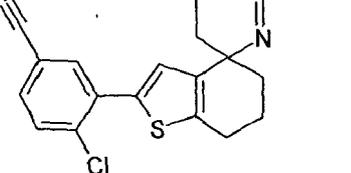
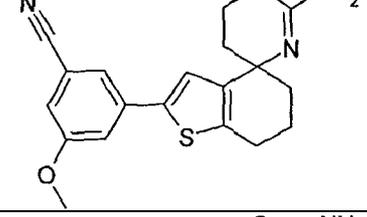
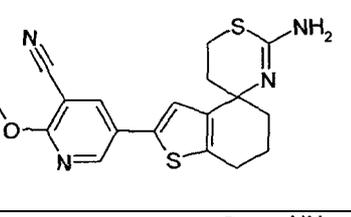
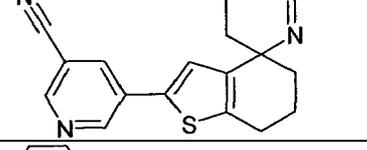
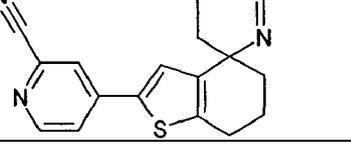
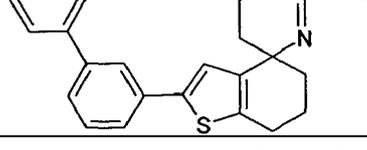
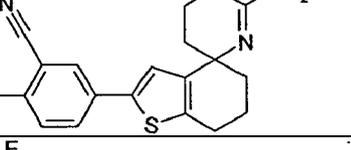
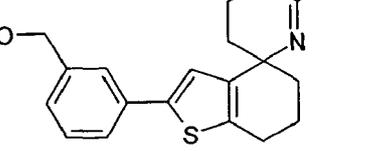
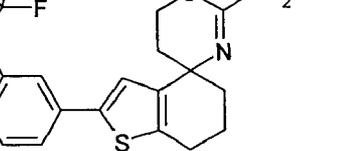
En otra realización específica, el grupo

indica uno de los siguientes grupos:



Los compuestos preferidos de la presente invención son los siguientes:

Ej.	Compuesto	Ej.	Compuesto
1		2	
3		4	
5		6	
7		8	

Ej.	Compuesto	Ej.	Compuesto
9		10	
11		12	
13		14	
15		16	
17		18	
19		20	
21		22	
23		24	

Ej.	Compuesto	Ej.	Compuesto
25		26	
27		28	
29		30	
31		32	
33		34	
35		36	
37		38	
39		40	

Ej.	Compuesto	Ej.	Compuesto
41		42	
43		44	
45		46	
47		48	
49		50	
51		52	
53		54	
55		56	

Ej.	Compuesto	Ej.	Compuesto
57		58	
59		60	
61		62	

Descripción general de métodos

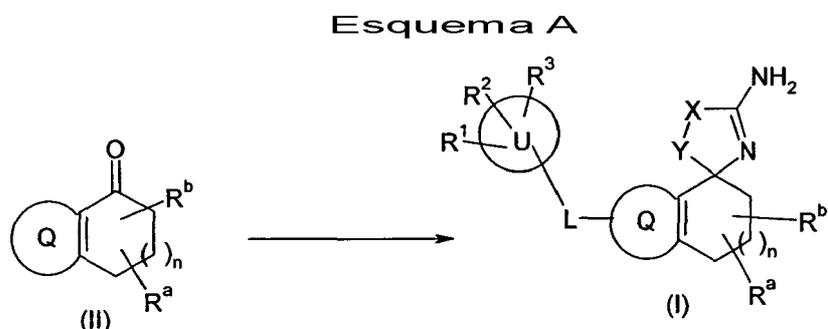
Las siguientes abreviaturas se refieren respectivamente a las definiciones a continuación:

- ac. (acuoso), h (hora), g (gramo), l (litro), mg (miligramo), MHz (megahercio), μ M (micromolar), min (minuto), mm (milímetro), mmol (milimol), mM (milimolar), p.f. (punto de fusión), eq. (equivalente), ml (mililitro), μ l (microlitro), ACN (acetonitrilo), BINAP (2,2'-bis(difenilfosfina)-1,1'-binaftaleno), BOC (terc-butoxi-carbonilo), CBZ (carbobenzoilo), CDCl_3 (cloroformo deuterado), CD_3OD (metanol deuterado), CH_3CN (acetonitrilo), c-hex (ciclohexano), DCC (díciclohexilcarbodiimida), DCM (diclorometano), dppe (1,1'-bis(difenilfosfina)ferroceno), DIC (diisopropilcarbodiimida), DIEA (diisopropil-3-etilcarbodiimida), DMF (dimetilformamida), DMSO (dimetilsulfóxido), DMSO- d_6 (dimetilsulfóxido deuterado), EDC (1-(3-dimetil-amino-propil)-3-etilcarbodiimida), ESI (ionización por electropulverización), EtOAc (acetato de etilo), Et₂O (diétil éter), EtOH (etanol), Fmoc (fluorenilmetiloxicarbonilo), HATU (hexafluorofosfato de dimetilamino-([1,2,3]triazolo[4,5-b]piridin-3-iloxi)-metileno)-dimetil-amonio), HPLC (cromatografía de líquidos de alta resolución), i-PrOH (2-propanol), K_2CO_3 (carbonato de potasio), CL (cromatografía de líquidos), MD Autoprep (HPLC preparativa dirigida por masas), MeOH (metanol), MgSO_4 (sulfato de magnesio), NMI (N-metil-imidazol), EM (espectrometría de masas), MTBE (metil terc-butil éter), Mtr. (4-Metoxi-2,3,6-trimetilbencensulfonilo), MW (microondas), NBS (N-bromosuccinimida), NaHCO_3 (bicarbonato de sodio), NaBH_4 (borohidruro de sodio), NMM (N-metilmorfolina), RMN (resonancia magnética nuclear), POA (fenoxiacetato), Py (piridina), PyBOP® (hexafluorofosfato de benzotriazol-1-il-oxi-tris-pirrolidino-fosfonio), T.A. (temperatura ambiente), Tr (tiempo de retención), SFC (cromatografía con fluidos supercríticos), SPE (extracción en fase sólida), T3P (anhídrido propilfosfónico), TBAF (fluoruro de tetra-n-butilamonio), TBTU (tetrafluoroborato de 2-(1-H-benzotriazol-1-il)-1,1,3,3-tetrametiluronio), TEA (triethylamina), TFA (ácido trifluoroacético), THF (tetrahidrofurano), CCF (cromatografía en capa fina), UV (ultravioleta).

En general, los compuestos de imidazo-oxadiazol e imidazo-tiadiazol según la fórmula (I) y fórmulas relacionadas de esta invención pueden prepararse a partir de materiales de partida fácilmente disponibles. Si tales materiales de partida no están disponibles comercialmente, pueden prepararse mediante técnicas de síntesis convencionales. En general, las rutas de síntesis para cualquier compuesto individual de fórmula (I) y fórmulas relacionadas dependerán de los sustituyentes específicos de cada molécula, apreciando tales factores los expertos habituales en la técnica. Los siguientes métodos y procedimientos generales descritos a continuación en el presente documento en los ejemplos pueden emplearse para preparar compuestos de fórmula (I) y fórmulas relacionadas. Las condiciones de reacción representadas en los siguientes esquemas, tales como temperaturas, disolventes, o co-reactivos, se facilitan como ejemplos únicamente y no son limitativos. Se apreciará que cuando se facilitan condiciones experimentales típicas o preferidas (es decir, temperaturas, tiempo, moles de reactivos, disolventes de reacción etc.), también pueden usarse otras condiciones experimentales a menos que se defina de otro modo. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reactantes o disolventes particulares usados, pero tales condiciones puede determinarlas el experto en la técnica, usando procedimientos de optimización de rutina. Para todos los métodos de protección y desprotección, véanse Philip J. Kocienski, en "Protecting Groups", Georg Thieme

Verlag Stuttgart, Nueva York, 1994 y, Theodora W. Greene y Peter G. M. Wuts en "Protective Groups in Organic Synthesis", Wiley Interscience, 3ª edición 1999.

5 En el esquema A se representa el método general para sintetizar un compuesto de fórmula (I) y las fórmulas relacionadas, partiendo de derivados de cetona de fórmula (II), siguiendo métodos que se describen a continuación en el presente documento o procedimientos bien conocidos por los expertos en la técnica.



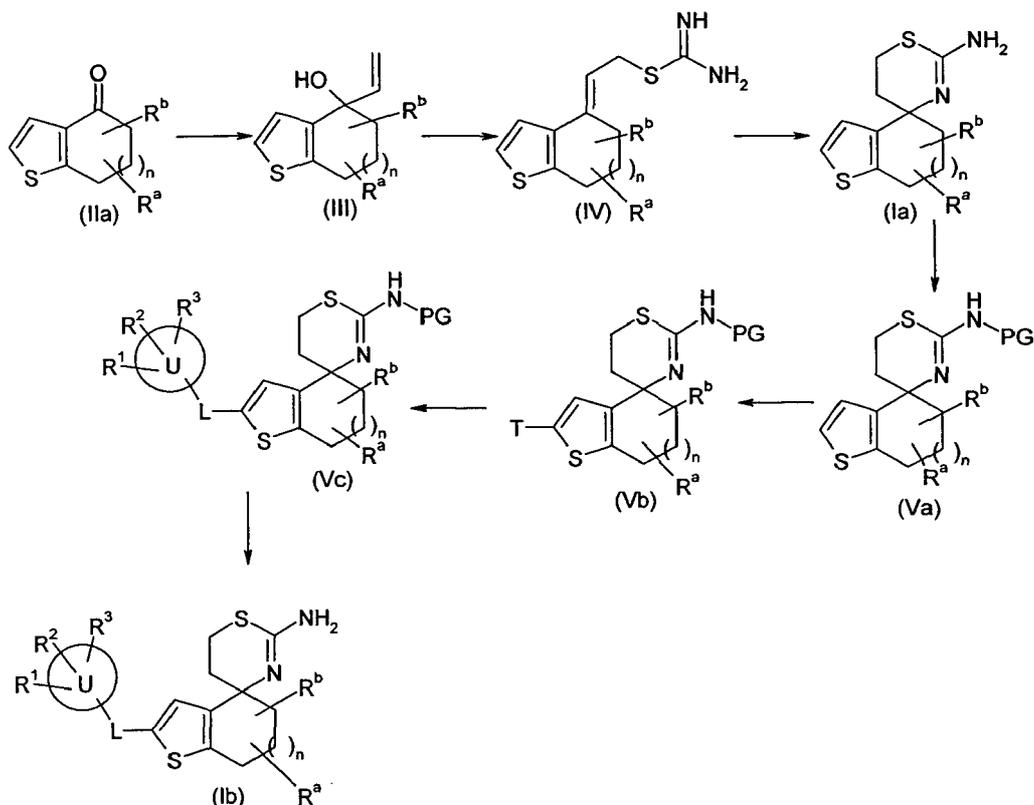
10 Pueden seleccionarse estrategias de síntesis diferentes para la síntesis de compuestos de fórmula (I). Los materiales de partida pueden ser una tiofeno cetona sustituida adecuadamente (IIa), en la que el carbociclo de anillo condensado unido al anillo tiofeno puede ser de tamaños de anillo diferentes. El anillo carbocíclico puede estar sustituido en alfa o beta con respecto a la cetona con un grupo arilo o alquilo adecuado. La cetona puede hacerse reaccionar con un agente de Grignard vinílico, normalmente en THF a una temperatura comprendida entre aproximadamente -78°C y aproximadamente 0°C, para producir un producto de vinilcarbinol (III). El alcohol vinílico puede hacerse reaccionar con tiourea en ácido acético a temperaturas de entre aproximadamente 25°C y aproximadamente 40°C para producir un derivado de isotiouronio (IV), que puede ciclarse además para dar la aminotiazina espirocíclica (Ia) en la que R^a y R^b son tal como se definieron anteriormente. Tal ciclación puede realizarse por ejemplo en HCl concentrado a aproximadamente 25°C. En algunos casos, la aminotiazina espirocíclica (Ia) puede prepararse directamente a partir del alcohol vinílico (III) por reacción con tiourea en HCl concentrado. La sustitución del tiofeno puede lograrse habitualmente tras la protección de la aminotiazina (Ia) con un grupo protector (PG), dando compuestos de fórmula (Va). El grupo protector (PG) puede ser por ejemplo un grupo terc-butoxicarbonilo o un grupo benciloxicarbonilo. El compuesto (Va) se transforma en el compuesto (Vb) en el que T se selecciona de, pero no se limita a, halógeno, nitro, carboxilo, ácido borónico o éster de boronato. La bromación (T = Br), por ejemplo, puede lograrse con N-bromosuccinimida en diclorometano, o bromo en un disolvente adecuado, tal como ácido acético o cloroformo a temperaturas de entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 25°C, produciendo compuestos de fórmula (Vb). El grupo T puede sustituirse entonces por un grupo aromático o heteroarilo. Tal sustitución puede realizarse por ejemplo usando un ácido borónico aromático o éster de boronato adecuado con un catalizador de paladio en dimetilformamida o dioxano a temperaturas de entre aproximadamente 80°C y aproximadamente 100°C, produciendo un compuesto de fórmula (Vc), en la que L es un enlace sencillo y en la que U, R¹, R² y R³ son tal como se definieron anteriormente. Los compuestos de fórmula (Ib) se obtiene entonces por la eliminación del PG, usando condiciones conocidas por los expertos en la técnica (esquema 1).

15

20

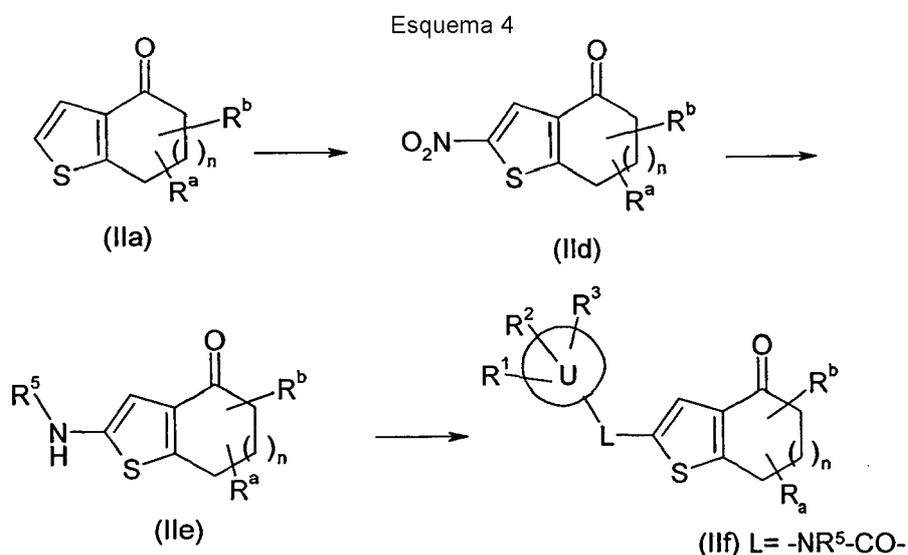
25

Esquema 1



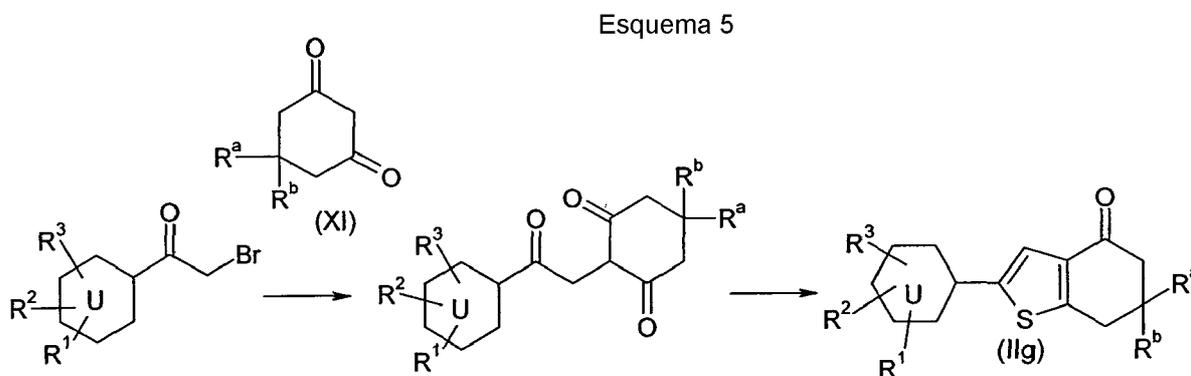
Alternativamente, el derivado de halógeno (Vb) puede hacerse reaccionar con un éster boronato, tal como bis(pinacolato)diboro, para formar un boronato sustituido con tiofeno. Esta reacción puede lograrse con un catalizador de paladio adecuado en un disolvente tal como DMF a temperaturas de entre aproximadamente 80°C y aproximadamente 100°C. El boronato sustituido con tiofeno puede hacerse reaccionar con un bromuro de arilo o heteroarilo con un catalizador de paladio adecuado en un disolvente tal como DMF a temperaturas de entre aproximadamente 80°C y aproximadamente 100°C, dando compuestos de fórmula (Vc). Puede prepararse otros diversos anillos espirocíclicos distintos de la aminotiazina a partir de las cetonas de fórmula (IIa) descritas en el presente documento. Por ejemplo, pueden prepararse derivados de aminoimidazolona haciendo reaccionar una tiofeno cetona adecuada (IIa) con cianuro de potasio o de sodio en presencia de carbonato de amonio en un disolvente tal como etanol acuoso a aproximadamente 80°C (esquema 2). El derivado de hidantoína (VI) obtenido, en el que R^a y R^b son tal como se definieron anteriormente, puede convertirse en el derivado de tiohidantoína (VII). Puede realizarse una reacción de este tipo por ejemplo mediante el tratamiento de (VI) con reactivo de Lawesson en tolueno, dioxano o THF con calentamiento. Puede lograrse la alquilación sobre azufre con un haluro de alquilo o arilo y una base tal como hidróxido de sodio en un disolvente como metanol o etanol, produciendo el derivado (VIII). El espirociclo aminoimidazolona de fórmula (Ic) puede formarse por el desplazamiento del grupo tiometilo con amoniaco en presencia de yoduro de amonio en metanol en un tubo sellado a 90°C. La sustitución del tiofeno puede lograrse con o sin protección del grupo aminoimidazolona tal como se describió anteriormente para los compuestos de aminotiazina, dando compuestos de fórmula (Id) en la que L, U, R¹, R² y R³ son tal como se definieron para el esquema 1.

como DMF a aproximadamente 25°C, produciendo compuestos de fórmula (IIf) en la que L indica -NR⁵-CO- y en la que U, R¹, R² y R³ son tal como se definieron anteriormente.



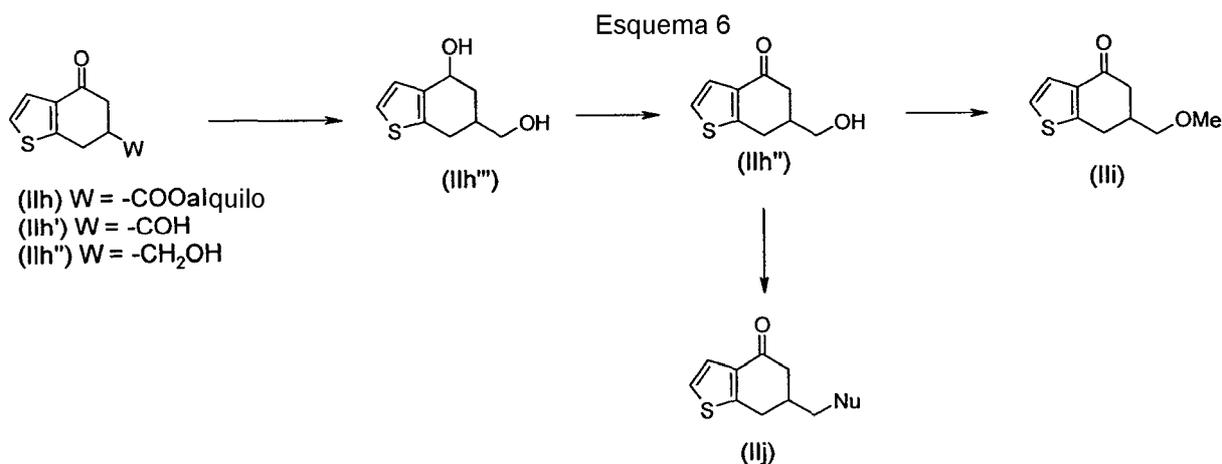
5 Puede fabricarse un compuesto de fórmula (IIg) haciendo reaccionar una 1,3-diona de fórmula (XI), en la que R^a y R^b son tal como se definieron anteriormente, con una bromoacetofenona sustituida con arilo adecuadamente en un disolvente tal como cloroformo con una base tal como carbonato de potasio a aproximadamente 25°C (esquema 5). La 1,3-diona de fórmula (XI) puede ser por ejemplo pero no se limita a dimedona. El cierre del anillo de la tricetona para dar el derivado de tiofeno puede lograrse con reactivo de Lawesson en tolueno o THF a de aproximadamente 80°C a aproximadamente 100°C, produciendo el compuesto de fórmula (IIg) en la que U, R¹, R², R³, R^a y R^b son tal como se definieron anteriormente.

10



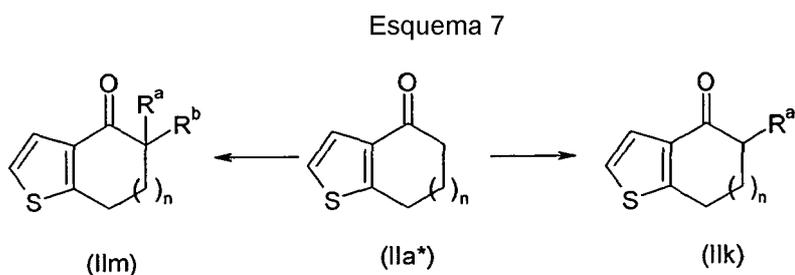
15 Alternativamente, puede lograrse la sustitución beta en la cetona haciendo reaccionar una tiofeno cetona adecuada de fórmula (IIh), (IIh') o (IIh'') en la que el grupo W es un éster, aldehído o alcohol. Tales materiales de partida o bien están disponibles comercialmente o bien se sintetizan siguiendo condiciones conocidas por los expertos en la técnica. Tales compuestos pueden manipularse para proporcionar la sustitución apropiada en la posición beta. Por ejemplo, puede reducirse éster etilo del ácido 4-oxo-4,5,6,7-tetrahidro-benzo[b]tiofeno-6-carboxílico (IIh) en el que el alquilo es etilo, para dar el diol correspondiente de fórmula (IIh''') con hidruro de litio y aluminio o diborano en un disolvente tal como THF o dietil éter (esquema 6). La oxidación del alcohol bencílico para dar la cetona (IIh'') puede lograrse con dióxido de manganeso en diclorometano o dioxano a aproximadamente 25°C. La funcionalización del grupo alcohol, por ejemplo eterificación, puede lograrse con un haluro de alquilo y una base adecuada tal como hidruro de sodio en un disolvente tal como THF o DMF a aproximadamente 0°C, dando la acetona de fórmula (IIi). La mesilación del alcohol con anhídrido metanosulfónico en DCM con una base adecuada tal como trietilamina permite el desplazamiento con una gama de reactivos nucleófilos Nu, tales como aminas, alcóxidos y reactivos organometálicos, produciendo compuestos de fórmula (IIj).

20



Puede lograrse la sustitución alfa en la cetona (IIa*) haciendo reaccionar una tieno cetona adecuada con una base tal como hidruro de sodio en DMF o LDA en THF y extinguiendo el enolato resultante con un haluro de alquilo (esquema 7). Pueden lograrse cetonas mono y disustituídas de fórmula (IIk) y (IIlm) respectivamente con las cantidades apropiadas de base y electrófilo.

5



Los compuestos de esta invención pueden aislarse en asociación con moléculas de disolvente mediante cristalización a partir de la evaporación de un disolvente apropiado. Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula (I), que contienen un centro básico, pueden prepararse de manera convencional. Por ejemplo, puede tratarse una disolución de la base libre con un ácido adecuado, o bien puro o bien en una disolución adecuada, y aislarse la sal resultante o bien mediante filtración o bien mediante evaporación a vacío del disolvente de reacción. Pueden obtenerse sales de adición de base farmacéuticamente aceptables de manera análoga tratando una disolución de compuestos de fórmula (I), que contienen un centro ácido, con una base adecuada. Ambos tipos de sales pueden formarse o interconvertirse usando técnicas con resinas de intercambio iónico.

10

15

Dependiendo de las condiciones usadas, los tiempos de reacción son generalmente de entre unos cuantos minutos y 14 días, y la temperatura de reacción es de entre aproximadamente -30°C y 140°C, normalmente entre -10°C y 90°C, en particular entre aproximadamente 0°C y aproximadamente 70°C.

20

Pueden obtenerse además compuestos de fórmula (I) liberando compuestos de fórmula (I) a partir de uno de sus derivados funcionales mediante tratamiento con un agente de solvólisis o hidrogenólisis.

25

Materiales de partida preferidos para la solvólisis o hidrogenólisis son aquellos que cumplen con la fórmula (I), pero que contienen grupos amino y/o hidroxilo protegidos correspondientes en vez de uno o más grupos amino y/o hidroxilo libres, preferiblemente aquellos que portan un grupo protector de amino en vez de un átomo de H unido a un átomo de N, en particular aquellos que portan un grupo R'-N, en el que R' indica un grupo protector de amino, en vez de un grupo HN, y/o aquellos que portan un grupo protector de hidroxilo en vez del átomo de H de un grupo hidroxilo, por ejemplo aquellos que cumplen con la fórmula (I), pero portan un grupo -COOR'', en el que R'' indica un grupo protector de hidroxilo, en vez de un grupo -COOH.

30

También es posible que una pluralidad de grupos amino y/o hidroxilo protegidos, idénticos o diferentes, estén presentes en la molécula del material de partida. Si los grupos protectores presentes son diferentes unos de otros, pueden escindirarse en muchos casos selectivamente.

El término "grupo protector de amino" se conoce en términos generales y se refiere a grupos que son adecuados para proteger (bloquear) un grupo amino frente a reacciones químicas, pero que son fáciles de eliminar tras haberse

llevado a cabo la reacción química deseada en otra parte de la molécula. Son típicos de tales grupos, en particular, grupos acilo, arilo, aralcoximetilo o aralquilo no sustituidos o sustituidos. Puesto que los grupos protectores de amino se eliminan tras la reacción (o secuencia de reacciones) deseada, su tipo y tamaño además no son cruciales; sin embargo, se da preferencia a aquellos que tienen 1-20 átomos de carbono, en particular 1-8. El término "grupo acilo" ha de entenderse en el sentido más amplio en relación con el presente procedimiento. Incluye grupos acilo derivados de ácidos carboxílicos o ácidos sulfónicos alifáticos, aralifáticos, aromáticos o heterocíclicos, y, en particular, grupos alcoxi-carbonilo, ariloxycarbonilo y especialmente aralcoxycarbonilo. Ejemplos de tales grupos acilo son alcanilo, tal como acetilo, propionilo y butirilo; aralcanilo, tal como fenilacetilo; aroilo, tal como benzoilo y toliilo; ariloxialcanilo, tal como POA; alcoxycarbonilo, tal como metoxi-carbonilo, etoxycarbonilo, 2,2,2-tricloroetoxycarbonilo, BOC (terc-butoxi-carbonilo) y 2-yodoetoxycarbonilo; aralcoxycarbonilo, tal como CBZ ("carbo-benzoxilo"), 4-metoxibenciloxycarbonilo y FMOC; y aril-sulfonilo, tal como Mtr. Grupos protectores de amino preferidos son BOC y Mtr, además de CBZ, Fmoc, bencilo y acetilo.

El término "grupo protector de hidroxilo" se conoce asimismo en términos generales y se refiere a grupos que son adecuados para proteger un grupo hidroxilo frente a reacciones químicas, pero que son fáciles de eliminar tras haberse llevado a cabo la reacción química deseada en otra parte de la molécula. Son típicos de tales grupos los grupos arilo, aralquilo o acilo no sustituidos o sustituidos mencionados anteriormente, además también grupos alquilo. La naturaleza y el tamaño de los grupos protectores de hidroxilo no son cruciales puesto que se eliminan de nuevo tras la reacción o secuencia de reacciones químicas deseada; se da preferencia a los grupos que tienen 1-20 átomos de carbono, en particular 1-10. Ejemplos de grupos protectores de hidroxilo son, entre otros, bencilo, 4-metoxibencilo, p-nitro-benzoilo, p-toluenosulfonilo, terc-butilo y acetilo, en los que se prefieren particularmente bencilo y terc-butilo.

El término "solvatos de los compuestos" se toma como que significa aductos de moléculas de disolvente inerte en los compuestos que se forman debido a su fuerza de atracción mutua. Los solvatos son, por ejemplo, mono o dihidratos o alcoholatos.

Los compuestos de fórmula (I) se liberan a partir de sus derivados funcionales, dependiendo del grupo protector usado, por ejemplo usando ácidos fuertes, ventajosamente usando TFA o ácido perclórico, pero también usando otros ácidos inorgánicos fuertes, tales como ácido clorhídrico o ácido sulfúrico, ácidos carboxílicos orgánicos fuertes, tales como ácido tricloroacético, o ácidos sulfónicos, tales como ácido benceno- o p-toluenosulfónico. La presencia de un disolvente inerte adicional es posible, pero no siempre es necesaria. Disolventes inertes adecuados son preferiblemente ácidos orgánicos, por ejemplo carboxílicos, tales como ácido acético, éteres, tales como THF o dioxano, amidas, tales como DMF, hidrocarburos halogenados, tales como DCM, además también alcoholes, tales como metanol, etanol o isopropanol, y agua. Además son adecuadas mezclas de los disolventes mencionados anteriormente. Se usa preferiblemente TFA en exceso sin la adición de un disolvente adicional, y se usa preferiblemente ácido perclórico en forma de una mezcla de ácido acético y ácido perclórico al 70% en la razón de 9:1. Las temperaturas de reacción para la escisión son ventajosamente de entre aproximadamente 0 y aproximadamente 50°C, preferiblemente entre 15 y 30°C (T.A.).

Los grupos BOC, OBut y Mtr pueden escindirse, por ejemplo, preferiblemente usando TFA en DCM o usando HCl aproximadamente de 3 a 5 N en dioxano a 15-30°C, y el grupo FMOC puede escindirse usando una disolución aproximadamente de 5 al 50% de dimetilamina, dietilamina o piperidina en DMF a 15-30°C.

Grupos protectores que pueden eliminarse de manera hidrogenolítica (por ejemplo CBZ, bencilo o la liberación del grupo amidino a partir del derivado de oxadiazol del mismo) pueden escindirse, por ejemplo, mediante tratamiento con hidrógeno en presencia de un catalizador (por ejemplo un catalizador de metal noble, tal como paladio, ventajosamente sobre un soporte, tal como carbono). Disolventes adecuados en este caso son los indicados anteriormente, en particular, por ejemplo, alcoholes, tales como metanol o etanol, o amidas, tales como DMF. La hidrogenólisis se lleva a cabo generalmente a temperaturas de entre aproximadamente 0 y 100°C y presiones de entre aproximadamente 1 y 200 bar, preferiblemente a 20-30°C y 1-10 bar. La hidrogenólisis del grupo CBZ sale bien, por ejemplo, sobre Pd/C a del 5 al 10% en metanol o usando formiato de amonio (en vez de hidrógeno) sobre Pd/C en metanol/DMF a 20-30°C.

Ejemplos de disolventes inertes adecuados son hidrocarburos, tales como hexano, éter de petróleo, benceno, tolueno o xileno; hidrocarburos clorados, tales como tricloroetileno, 1,2-dicloroetano, tetraclorometano, tri-fluorometilbenceno, cloroformo o DCM; alcoholes, tales como metanol, etanol, isopropanol, n-propanol, n-butanol o terc-butanol; éteres, tales como dietil éter, diisopropil éter, tetrahidrofurano (THF) o dioxano; éteres de glicol, tales como monometil o monoetil éter de etilenglicol o dimetil éter de etilenglicol (diglima); cetonas, tales como acetona o butanona; amidas, tales como acetamida, dimetilacetamida, N-metilpirrolidona (NMP) o dimetil-formamida (DMF); nitrilos, tales como acetonitrilo; sulfóxidos, tales como dimetilsulfóxido (DMSO); disulfuro de carbono; ácidos carboxílicos, tales como ácido fórmico o ácido acético; nitrocompuestos, tales como nitrometano o nitrobenzono; ésteres, tales como EtOAc, o mezclas de dichos disolventes.

Los ésteres pueden saponificarse, por ejemplo, usando LiOH, NaOH o KOH en agua, agua/THF, agua/THF/etanol o

agua/dioxano, a temperaturas de entre 0 y 100°C. Además, el éster puede hidrolizarse, por ejemplo, usando ácido acético, TFA o HCl.

5 Los grupos aminos libres pueden acilarse además de manera convencional usando un cloruro o anhídrido de acilo o alquilarse usando un haluro de alquilo no sustituido o sustituido o hacerse reaccionar con $\text{CH}_3\text{-C(=NH)-OEt}$, ventajosamente en un disolvente inerte, tal como DCM o THF y/o en presencia de una base, tal como trietilamina o piridina, a temperaturas de entre -60°C y +30°C.

10 En la totalidad de la memoria descriptiva, el término grupo saliente indica preferiblemente Cl, Br, I o un grupo OH modificado de manera reactiva, tal como, por ejemplo, un éster activado, una imidazolida o alquilsulfoniloxilo que tiene 1-6 átomos de carbono (preferiblemente metilsulfoniloxilo o trifluorometilsulfoniloxilo) o arilsulfoniloxilo que tiene 6-10 átomos de carbono (preferiblemente fenil- o p-tolilsulfoniloxilo).

Se describen radicales de este tipo para la activación del grupo carboxilo en reacciones de acilación típicas en la bibliografía (por ejemplo en las obras convencionales, tales como Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie [Métodos de Química Orgánica], Georg-Thieme-Verlag, Stuttgart).

15 Los ésteres activados se forman ventajosamente *in situ*, por ejemplo a través de la adición de HOBT o N-hidroxisuccinimida.

20 El término "derivados farmacéuticamente útiles" significa, por ejemplo, las sales de los compuestos de fórmula I y los denominados compuestos de profármaco. El término "derivados de profármaco" pretende significar los compuestos de fórmula I que se han modificado con, por ejemplo, grupos alquilo o acilo, azúcares u oligopéptidos y que se escinden rápidamente en el organismo para formar los compuestos activos. Estos también incluye los derivados poliméricos biodegradables de los compuestos según la invención, tal como se describe, por ejemplo, en Int. J. Pharm. 115, 61-67 (1995).

Sales farmacéuticas y otras formas

25 Dichos compuestos de fórmula (I) pueden usarse en su forma final distinta de sal. Por otro lado, la presente invención también se refiere al uso de estos compuestos en forma de sus sales farmacéuticamente aceptables, que pueden derivarse de diversos ácidos y bases orgánicos e inorgánicos mediante procedimientos conocidos en la técnica. Las formas de sal farmacéuticamente aceptable de los compuestos de fórmula I se preparan en su mayor parte mediante métodos convencionales. Si el compuesto de fórmula I contiene un centro ácido, tal como un grupo carboxilo, puede formarse una de sus sales adecuadas haciendo reaccionar el compuesto con una base adecuada para dar la sal de adición de base correspondiente. Tales bases son, por ejemplo, hidróxidos de metal alcalino, 30 incluyendo hidróxido de potasio e hidróxido de sodio; hidróxidos de metal alcalinotérreo, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de calcio; y diversas bases orgánicas, tales como piperidina, dietanolamina y N-metilglucamina (meglumina), benzatina, colina, dietanolamina, etilendiamina, benetamina, dietilamina, piperazina, lisina, L-arginina, amoniaco, trietanolamina, betaína, etanolamina, morfina y trometamina. En el caso de determinados compuestos de fórmula I, que contienen un centro básico, pueden formarse sales de adición de ácido tratando estos 35 compuestos con ácidos orgánicos e inorgánicos farmacéuticamente aceptables, por ejemplo haluros de hidrógeno, tales como cloruro de hidrógeno o bromuro de hidrógeno, otros ácidos minerales y sales correspondientes de los mismos, tales como sulfato, nitrato o fosfato y similares, y alquil- y monoaril-sulfonatos, tales como metanosulfonato, etanosulfonato, toluenosulfonato y benceno-sulfonato, y otros ácidos orgánicos y sales correspondientes de los mismos, tales como carbonato, acetato, trifluoro-acetato, tartrato, maleato, succinato, citrato, benzoato, salicilato, 40 ascorbato y similares. Por consiguiente, las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I incluyen los siguientes: acetato, adipato, alginato, aspartato, benzoato, benceno-sulfonato (besilato), bisulfato, bisulfito, bromuro, canforato, canfor-sulfonato, caprato, caprilato, cloruro, clorobenzoato, citrato, ciclamato, cinamato, digluconato, dihidrogenofosfato, dinitrobenzoato, dodecil-sulfato, etanosulfonato, formiato, glicolato, fumarato, galacterato (a partir del ácido múcico), galacturonato, glucoheptanoato, gluconato, glutamato, 45 glicerofosfato, hemi-succinato, hemisulfato, heptanoato, hexanoato, hipurato, clorhidrato, bromhidrato, yodhidrato, 2-hidroxi-etano-sulfonato, yoduro, isetionato, isobutirato, lactato, lactobionato, malato, maleato, malonato, mandelato, metafosfato, metanosulfonato, metilbenzoato, monohidrogenofosfato, 2-naftalenosulfonato, nicotinato, nitrato, oxalato, oleato, palmoato, pectinato, persulfato, fenilacetato, 3-fenilpropionato, fosfato, fosfonato, ftalato, pero esto no representa una restricción. Ambos tipos de sales pueden formarse o interconvertirse preferiblemente usando 50 técnicas con resinas de intercambio iónico.

Además, las sales de base de los compuestos de fórmula I incluyen sales de aluminio, amonio, calcio, cobre, hierro (III), hierro (II), litio, magnesio, manganeso (III), manganeso (II), potasio, sodio y zinc, pero esto no pretende representar una restricción. De las sales mencionadas anteriormente, se da preferencia a las sales de amonio; de metal alcalino, de sodio y potasio y las sales de metal alcalinotérreo, de calcio y magnesio. Las sales de los 55 compuestos de fórmula I que se derivan de bases no tóxicas orgánicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas, incluyendo también aminas sustituidas que se producen de manera natural, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio iónico, por ejemplo arginina,

5 betaína, cafeína, cloroprocaína, colina, N,N'-dibencil-etilen-diamina (benzatina), dicitlohexilamina, dietanol-amina, dietil-amina, 2-dietil-amino-etanol, 2-dimetil-amino-etanol, etanolamina, etilendiamina, N-etilmorfolina, N-etil-piperidina, glucamina, glucosamina, histidina, hidrabamina, isopropil-amina, lidocaína, lisina, meglumina (N-metil-D-glucamina), morfolina, piperazina, piperidina, resinas de poliamina, procaína, purinas, teobromina, trietanol-amina, trietilamina, trimetilamina, tripropil-amina y tris(hidroxi-metil)-metilamina (trometamina), pero esto no pretende representar una restricción.

10 Los compuestos de fórmula I de la presente invención que contienen grupos que contienen N2 básico pueden cuaternizarse usando agentes tales como haluros de alquilo (C₁-C₄), por ejemplo cloruro, bromuro y yoduro de metilo, etilo, isopropilo y terc-butilo; sulfatos de di-alquilo(C₁-C₄), por ejemplo sulfato de dimetilo, dietilo y diamilo; haluros de alquilo (C₁₀-C₁₈), por ejemplo cloruro, bromuro y yoduro de decilo, do-decilo, laurilo, miristilo y estearilo; y haluros de aril-alquilo (C₁-C₄), por ejemplo cloruro de bencilo y bromuro de fenetilo. Pueden prepararse compuestos de fórmula I solubles tanto en agua como en aceite usando tales sales.

15 Las sales farmacéuticas mencionadas anteriormente que se prefieren incluyen acetato, trifluoroacetato, besilato, citrato, fumarato, gluconato, hemisuccinato, hipurato, clorhidrato, bromhidrato, isetionato, mandelato, meglumina, nitrato, oleato, fosfonato, pivalato, fosfato de sodio, estearato, sulfato, sulfosalicilato, tartrato, tiomalato, tosilato y trometamina, pero esto no pretende representar una restricción.

20 Las sales de adición de ácido de compuestos de fórmula (I) básicos se preparan poniendo en contacto la forma de base libre con una cantidad suficiente del ácido deseado, provocando la formación de la sal de manera convencional. La base libre puede regenerarse poniendo en contacto la forma de sal con una base y aislando la base libre de manera convencional. Las formas de base libre difieren en determinados aspectos de las formas de sal correspondientes de las mismas con respecto a determinadas propiedades físicas, tales como solubilidad en disolventes polares; para los fines de la invención, sin embargo, las sales corresponden por lo demás a las formas de base libre respectivas de las mismas.

25 Tal como se mencionó, las sales de adición de base farmacéuticamente aceptables de los compuestos de fórmula I se forman con metales o aminas, tales como metales alcalinos y metales alcalinotérreos o aminas orgánicas. Metales preferidos son sodio, potasio, magnesio y calcio. Aminas orgánicas preferidas son N,N'-dibencil-etilendiamina, cloroprocaína, colina, dietanol-amina, etilendiamina, N-metil-D-glucamina y procaína.

30 Las sales de adición de base de compuestos de fórmula I ácidos se preparan poniendo en contacto la forma de ácido libre con una cantidad suficiente de la base deseada, provocando la formación de la sal de manera convencional. El ácido libre puede regenerarse poniendo en contacto la forma de sal con un ácido y aislando el ácido libre de manera convencional. Las formas de ácido libre difieren en determinados aspectos de las formas de sal correspondientes de las mismas con respecto a determinadas propiedades físicas, tales como solubilidad en disolventes polares; para los fines de la invención, sin embargo, las sales corresponden por lo demás a las formas de ácido libre respectivas de las mismas.

35 Si un compuesto de fórmula (I) contiene más de un grupo que puede formar sales farmacéuticamente aceptables de este tipo, la fórmula I también engloba sales múltiples. Las formas de sal múltiple típicas incluyen, por ejemplo, bitartrato, diacetato, difumarato, dimeglumina, di-fosfato, disodio y triclorhidrato, pero esto no pretende representar una restricción.

40 Con respecto a lo establecido anteriormente, puede observarse que el término "sal farmacéuticamente aceptable" en el presente contexto se toma como que significa un principio activo que comprende un compuesto de fórmula I en forma de una de sus sales, en particular si esta forma de sal confiere propiedades farmacocinéticas mejoradas al principio activo en comparación con la forma libre del principio activo o cualquier otra forma de sal del principio activo usada previamente. La forma de sal farmacéuticamente aceptable del principio activo también puede proporcionar a este principio activo por primera vez una propiedad farmacocinética deseada que no tenía previamente e incluso puede tener una influencia positiva sobre la farmacodinamia de este principio activo con respecto a su eficacia terapéutica en el cuerpo.

50 Debido a su estructura molecular, los compuestos de fórmula (I) pueden ser quirales y, por consiguiente, pueden aparecer en diversas formas enantioméricas. Por tanto, pueden existir en forma racémica u ópticamente activa. Puesto que la actividad farmacéutica de los racematos o estereoisómeros de los compuestos según la invención puede diferir, puede ser deseable usar los enantiómeros. En estos casos, el producto final o incluso los productos intermedios pueden separarse en compuestos enantioméricos mediante medidas químicas o físicas conocidas por el experto en la técnica o incluso emplearse tal cual en la síntesis.

55 En el caso de aminas racémicas, se forman diastereómeros a partir de la mezcla mediante reacción con un agente de resolución ópticamente activo. Ejemplos de agentes de resolución adecuados son ácidos ópticamente activos, tales como las formas (R) y (S) de ácido tartárico, ácido diacetiltartárico, ácido dibenzoiltartárico, ácido mandélico,

ácido málico, ácido láctico, aminoácidos N-protectados adecuados (por ejemplo N-benzoilprolina o N-bencenosulfonilprolina), o los diversos ácidos canforsulfónicos ópticamente activos. También resulta ventajosa la resolución cromatográfica de enantiómeros con la ayuda de un agente de resolución ópticamente activo (por ejemplo dinitrobenzoilfenilglicina, triacetato de celulosa u otros derivados de hidratos de carbono o polímeros de metacrilato derivatizados de manera quiral inmovilizados sobre gel de sílice). Eluyentes adecuados para este fin son mezclas de disolventes acuosos o alcohólicos, tales como, por ejemplo, hexano/isopropanol/acetonitrilo, por ejemplo en la razón de 82:15:3.

La invención se refiere además a composiciones farmacéuticas de compuestos de fórmula I, y fórmulas relacionadas en combinación con al menos un principio activo adicional, preferiblemente medicamentos usados en el tratamiento de esclerosis múltiples tales como cladribina u otro coagente, tal como interferón, por ejemplo interferones pegilados o no pegilados, preferiblemente interferón beta y/o con compuestos que mejoran la función vascular o en combinación con agentes de inmunomodulación por ejemplo fingolimod; ciclosporinas, rapamicinas o ascomicinas, o sus análogos inmunosupresores, por ejemplo ciclosporina A, ciclosporina G, FK-506, ABT-281, ASM981, rapamicina, 40-O-(2-hidroxi)etil-rapamicina etc.; corticosteroides; ciclofosfamida; azatiopreno; metotrexato; leflunomida; mizoribina; ácido micofenólico; micofenolato mofetilo; 15-desoxiespergualina; valerato de diflucortolona; difluprednato; dipropionato de alclometasona; amcinonida; amsacrina; asparaginasa; azatioprina; basiliximab; dipropionato de beclometasona; betametasona; acetato de betametasona; dipropionato de betametasona; fosfato sódico de betametasona; valerato de betametasona; budesonida; captopril; clorhidrato de clormetina; cladribina; propionato de clobetasol; acetato de cortisona; cortivazol; ciclofosfamida; citarabina; daclizumab; dactinomina; desonida; desoximetasona; dexametasona; acetato de dexametasona; isonicotinato de dexametasona; metasulfobenzato sódico de dexametasona; fosfato de dexametasona; tebutato de dexametasona; acetato de diclorisona; clorhidrato de doxorubicina; clorhidrato de epirubicina; acetónido de flucorolona; acetato de fludrocortisona; fludroxicortida; pivalato de flumetasona; flunisolida; acetónido de fluocinolona; fluocinonida; fluocortolona; hexanoato de fluocortolona; pivalato de fluocortolona; fluorometolona; acetato de fluprednido; propionato de fluticasona; clorhidrato de gemcitabina; halcinonida; hidrocortisona, acetato de hidrocortisona, butirato de hidrocortisona, hemisuccinato de hidrocortisona; melfalán; meprednisona; mercaptopurina; metilprednisolona; acetato de metilprednisolona; hemisuccinato de metilprednisolona; misoprostol; muromonab-cd3; micofenolato mofetilo; acetato de parametasona; prednazolina, prednisolona; acetato de prednisolona; caproato de prednisolona; metasulfobenzato sódico de prednisolona; fosfato sódico de prednisolona; prednisona; prednilideno; rifampicina; rifampicina sódica; tacrolimús; teriflunomida; talidomida; tiotepa; pivalato de tixocortol; triamcinolona; hemisuccinato de acetónido de triamcinolona; benetónido de triamcinolona; diacetato de triamcinolona; hexacetónido de triamcinolona; anticuerpos monoclonales inmunosupresores, por ejemplo, anticuerpos monoclonales frente a receptores de leucocitos, por ejemplo, MHC, CD2, CD3, CD4, CD7, CD25, CD28, B7, CD40, CD45 o CD58 o sus ligandos; u otros compuestos inmunomoduladores, por ejemplo CTLA41g, u otros inhibidores de moléculas de adhesión, por ejemplo AcM o inhibidores de bajo peso molecular incluyendo antagonistas de selectina y antagonistas de VLA-4. Una composición preferida es con ciclosporina A, FK506, rapamicina o 40-(2-hidroxi)etil-rapamicina y fingolimod. Estos medicamentos adicionales, tales como interferón beta, pueden administrarse de manera simultánea o secuencial, por ejemplo por las vías subcutánea, intramuscular u oral. Estas composiciones pueden usarse como medicamentos en medicina humana y veterinaria.

Pueden administrarse formulaciones farmacéuticas en forma de unidades de dosificación, que comprenden una cantidad predeterminada de principio activo por unidad de dosificación. Una unidad de este tipo puede comprender, por ejemplo, de 0,5 mg a 1 g, preferiblemente de 1 mg a 700 mg, de manera particularmente preferible de 5 mg a 100 mg, de un compuesto según la invención, dependiendo del estado patológico tratado, el método de administración y la edad, el peso y el estado del paciente, o pueden administrarse formulaciones farmacéuticas en forma de unidades de dosificación que comprenden una cantidad predeterminada de principio activo por unidad de dosificación. Las formulaciones de unidad de dosificación preferidas son aquellas que comprenden una dosis diaria o una dosis parcial, tal como se indicó anteriormente, o una fracción correspondiente de la mismas de un principio activo. Además, pueden prepararse formulaciones farmacéuticas de este tipo usando un procedimiento, que se conoce generalmente en la técnica farmacéutica.

Pueden adaptarse formulaciones farmacéuticas para administración mediante cualquier método adecuado deseado, por ejemplo mediante métodos orales (incluyendo bucales o sublinguales), rectales, nasales, tópicos (incluyendo bucales, sublinguales o transdérmicos), vaginales o parenterales (incluyendo subcutáneos, intramusculares, intravenosos o intradérmicos). Tales formulaciones pueden prepararse usando todos los procedimientos conocidos en la técnica farmacéutica, por ejemplo, combinando el principio activo con el/los excipiente(s) o adyuvante(s).

Pueden administrarse formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración oral como unidades independientes, tales como, por ejemplo, cápsulas o comprimidos; polvos o gránulos; disoluciones o suspensiones en líquidos acuosos o no acuosos; espumas o alimentos de espuma comestibles; o emulsiones líquidas de aceite en agua o emulsiones líquidas de agua en aceite.

Por tanto, por ejemplo, en el caso de administración oral en forma de un comprimido o una cápsula, el componente de principio activo puede combinarse con un excipiente inerte oral, no tóxico y farmacéuticamente aceptable, tal

como, por ejemplo, etanol, glicerol, agua y similares. Se preparan polvos triturando el compuesto hasta un tamaño fino adecuado y mezclándolo con un excipiente farmacéutico triturado de manera similar, tal como, por ejemplo, un hidrato de carbono comestible, tal como, por ejemplo, almidón o manitol. Asimismo, puede estar presente un aroma, conservante, dispersante y colorante.

- 5 Se producen cápsulas preparando una mezcla de polvo tal como se describió anteriormente y llenando cubiertas de gelatina conformadas con la misma. Pueden añadirse deslizantes y lubricantes, tales como, por ejemplo, ácido silícico altamente disperso, talco, estearato de magnesio, estearato de calcio o polietilenglicol en forma sólida, a la mezcla de polvo antes de la operación de llenado. Asimismo, puede añadirse un disgregante o solubilizante, tal como, por ejemplo, agar-agar, carbonato de calcio o carbonato de sodio, para mejorar la disponibilidad del medicamento después de haberse tomado la cápsula.

Además, si se desea o es necesario, asimismo pueden incorporarse en la mezcla aglutinantes, lubricantes y disgregantes adecuados así como colorantes. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales, tales como, por ejemplo, glucosa o beta-lactosa, edulcorantes producidos a partir de maíz, caucho natural y sintético, tal como, por ejemplo, goma arábiga, goma tragacanto o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras, y similares. Los lubricantes usados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio y similares. Los disgregantes incluyen, sin restringirse a los mismos, almidón, metilcelulosa, agar, bentonita, goma xantana y similares. Los comprimidos se formulan, por ejemplo, preparando una mezcla de polvo, granulando o prensando en seco la mezcla, añadiendo un lubricante y un disgregante y prensando toda la mezcla para dar comprimidos. Se prepara una mezcla de polvo mezclando el compuesto triturado de manera adecuada con un diluyente o una base, tal como se describió anteriormente, y opcionalmente con un aglutinante, tal como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, un alginato, gelatina o polivinil-pirrolidona, un retardante de la disolución, tal como, por ejemplo, parafina, un acelerador de la absorción, tal como, por ejemplo, una sal cuaternaria, y/o un absorbente, tal como, por ejemplo, bentonita, caolín o fosfato de dicalcio. La mezcla de polvo puede granularse humectándola con un aglutinante, tal como, por ejemplo, almíbar, pasta de almidón, mucílago de goma arábiga o disoluciones de celulosa o materiales poliméricos y prensándola a través de un tamiz. Como alternativa a la granulación, la mezcla de polvo puede hacerse pasar a través de una máquina de preparación de comprimidos, proporcionando trozos de conformación no uniforme que se descomponen para formar gránulos. Los gránulos pueden lubricarse mediante la adición de ácido esteárico, una sal de estearato, talco o aceite mineral para impedir la adhesión a los moldes de colada de comprimido. Entonces se prensa la mezcla lubricada para dar comprimidos. También pueden combinarse los principios activos con un excipiente inerte que fluye libremente y luego prensarse directamente para dar comprimidos sin llevar a cabo las etapas de granulación o prensado en seco. Puede estar presente una capa protectora transparente u opaca que consiste en una capa de sellado de goma laca, una capa de azúcar o material polimérico y una capa de brillo de cera. Pueden añadirse colorantes a estos recubrimientos para poder diferenciar entre diferentes unidades de dosificación.

Pueden prepararse líquidos orales, tales como, por ejemplo, disolución, jarabes y elixires, en forma de unidades de dosificación de modo que una cantidad dada comprende una cantidad especificada previamente de los compuestos. Pueden prepararse jarabes disolviendo los compuestos en una disolución acuosa con un aroma adecuado, mientras que se preparan elixires usando un vehículo alcohólico no tóxico. Pueden formularse suspensiones mediante dispersión de los compuestos en un vehículo no tóxico. Asimismo, pueden añadirse solubilizantes y emulsionantes, tales como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados y éteres de polioxietileno-sorbitol, conservantes, aditivos de aroma, tales como, por ejemplo, aceite de menta o edulcorantes naturales o sacarina, u otros edulcorantes artificiales y similares.

Las formulaciones de unidad de dosificación para administración oral, si se desea, pueden encapsularse en microcápsulas. La formulación también puede prepararse de tal manera que la liberación se prolongue o se retarde, tal como, por ejemplo, recubriendo o incluyendo material particulado en polímeros, cera y similares.

Los compuestos de fórmula (I) y sales, solvatos y derivados fisiológicamente funcionales de los mismos y los otros principios activos también pueden administrarse en forma de sistemas de administración en liposomas, tales como, por ejemplo, vesículas unilaminares pequeñas, vesículas unilaminares grandes y vesículas multilaminares. Pueden formarse liposomas a partir de diversos fosfolípidos, tales como, por ejemplo, colesterol, estearilamina o fosfatidilcolinas.

Los compuestos de fórmula (I) y las sales, los solvatos y derivados fisiológicamente funcionales de los mismos y los otros principios activos también pueden administrarse usando anticuerpos monoclonales como portadores individuales con los que se acoplan las moléculas del compuesto. Los compuestos también pueden acoplarse con polímeros solubles como portadores de medicamentos dirigidos. Tales polímeros pueden englobar polivinilpirrolidona, copolímero de pirano, polihidroxipropil-metacrilamidofenol, polihidroxietil-aspartamidofenol o poli(óxido de etileno)-polilisina, sustituidos con radicales palmitoílo. Los compuestos pueden acoplarse además con una clase de polímeros biodegradables que son adecuados para lograr la liberación controlada de un medicamento, por ejemplo poli(ácido láctico), poli-épsilon-caprolactona, poli(ácido hidroxibutírico), poli-ortoésteres, poliacetales,

polidihidroxipiranos, policianoacrilatos y copolímeros de bloque anfipáticos o reticulados de hidrogeles.

5 Pueden administrarse formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración transdérmica como emplastos independientes para el contacto estrecho y prolongado con la epidermis del receptor. Por tanto, por ejemplo, el principio activo puede administrarse desde el emplasto mediante iontoforesis, tal como se describe en términos generales en *Pharmaceutical Research*, 3(6), 318 (1986).

Pueden formularse compuestos farmacéuticos adaptados para administración tópica como pomadas, cremas, suspensiones, lociones, polvos, disoluciones, pastas, geles, pulverizaciones, aerosoles o aceites.

10 Para el tratamiento del tejido ocular u otros tejidos externos, por ejemplo la boca y la piel, las formulaciones se aplican preferiblemente como pomada o crema tópica. En el caso de formulación para dar una pomada, el principio activo puede emplearse con una base de crema o bien parafínica o bien miscible en agua. Alternativamente, el principio activo puede formularse para dar una crema con la base de crema de aceite en agua o una base de agua en aceite.

Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica al ojo incluyen colirios, en los que el principio activo se disuelve o se suspende en un portador adecuado, en particular un disolvente acuoso.

15 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración tópica en la boca engloban pastillas para chupar, pastillas y colutorios.

Pueden administrarse formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración rectal en forma de supositorios o enemas.

20 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración nasal en las que la sustancia portadora es un sólido comprenden un polvo grueso que tiene un tamaño de partícula, por ejemplo, en el intervalo de 20-500 micrómetros, que se administra de la manera en la que se toma el rapé, es decir mediante inhalación rápida a través de las fosas nasales desde un recipiente que contiene el polvo mantenido cerca de la nariz. Las formulaciones adecuadas para administración como pulverización nasal o gotas nasales con un líquido como sustancia portadora engloban disoluciones de principio activo en agua o aceite.

25 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración mediante inhalación engloban nebulizaciones o polvos finamente particulados, que pueden generarse mediante diversos tipos de dispensadores presurizados con aerosoles, nebulizadores o insufladores.

Pueden administrarse formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración vaginal como pesarios, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones de pulverización.

30 Las formulaciones farmacéuticas adaptadas para administración parenteral incluyen disoluciones para inyección estériles acuosas y no acuosas que comprenden antioxidantes, tampones, bacteriostáticos y solutos, por medio de los cuales se hace que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor que va a tratarse; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas, que pueden comprender medios de suspensión y espesantes. Las formulaciones pueden administrarse en recipientes de dosis única o dosis múltiples, por ejemplo ampollas y viales sellados, y almacenarse en estado secado por congelación (liofilizado), de modo que sólo es necesaria la adición del líquido portador estéril, por ejemplo agua para fines de inyección, inmediatamente antes de su uso.

35 Pueden prepararse disoluciones y suspensiones para inyección preparadas según la fórmula a partir de polvos estériles, gránulos y comprimidos.

40 No hace falta decir que, además de los constituyentes antes mencionados particularmente, las formulaciones también pueden comprender otros agentes habituales en la técnica con respecto al tipo de formulación; por tanto, por ejemplo, las formulaciones que son adecuadas para administración oral pueden comprender aromas.

45 Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula I y del otro principio activo depende de varios factores, incluyendo, por ejemplo, la edad y el peso del animal, el estado patológico preciso que requiere tratamiento, y su gravedad, la naturaleza de la formulación y el método de administración, y la determina en última instancia el médico o veterinario del tratamiento. Sin embargo, una cantidad eficaz de un compuesto está generalmente en el intervalo de desde 0,1 hasta 100 mg/kg de peso corporal del receptor (mamífero) al día y particularmente en el intervalo normalmente de desde 1 hasta 10 mg/kg de peso corporal al día. Por tanto, la cantidad real al día para un mamífero adulto que pesa 70 kg es habitualmente de entre 70 y 700 mg, en la que esta cantidad puede administrarse como una dosis individual al día o habitualmente en una serie de dosis parciales (tal como, por ejemplo, dos, tres, cuatro, cinco o seis) al día, de modo que la dosis diaria total sea la misma. Puede determinarse una cantidad eficaz de una sal o un solvato o de un derivado fisiológicamente funcional del mismo

50

como la fracción de la cantidad eficaz del compuesto *per se*.

5 La presente invención se refiere además a un método para tratar a un sujeto que padece un trastorno asociado a 1-fosfato de esfingosina, que comprende administrar a dicho sujeto una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I). La presente invención se refiere preferiblemente a un método, en el que el trastorno asociado a 1-fosfato de esfingosina es un trastorno o estado autoinmunitario asociado con una respuesta inmunitaria sobreactiva.

LISTA DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Todos los RMN se obtuvieron a 400 MHz en un instrumento Bruker.

10 Se generaron nombres usando el software Cambridgesoft Chemistry Cartridge (v. 9.0.0.182). Se realizaron todas las reacciones que implican reactivos sensibles al aire o la humedad bajo una atmósfera de nitrógeno usando material de vidrio y disolventes secados.

Las condiciones de HPLC fueron las siguientes:

Método A: Columna: - Supelco, Ascentis® Express C18 o Hichrom Halo C18, 2,7 µm C18, 150 x 4,6 mm con un gradiente de ACN/agua/ácido fórmico al 0,1% (del 4% al 100% a lo largo de 6 min con una velocidad de flujo de 1 ml/min)

15 Método B: Columna: Columna: - Phenomenex Luna 5 µm C18 (2), 100 x 4,6 mm con un gradiente de ACN/agua/ácido fórmico al 0,1% (del 5% al 95% a lo largo de 3,5 min con una velocidad de flujo de 2 ml/min)

Método C: Columna: - Phenomenex, Gemini NX, 3 µm C18, 150 x 4,6 mm con un gradiente de ACN/bicarbonato de amonio 10 mM en agua (del 4% al 100% a lo largo de 6 min con una velocidad de flujo de 1 ml/min)

20 Método D: Columna: - Waters Xterra MS 5 µm C18, 100 x 4,6 mm con un gradiente de ACN/bicarbonato de amonio 10 mM acuoso (del 5% al 95% a lo largo de 3,5 min con una velocidad de flujo de 2 ml/min)

Método E: Columna: Columna: - Phenomenex Luna 5 µm C18 (2), 100 x 4,6 mm con un gradiente de ACN/agua/ácido fórmico al 0,1%(del 5% al 95% a lo largo de 4 min con una continuación de ACN a esta concentración durante 4 min adicionales; velocidad de flujo de 2 ml/min)

25 Método F: Columna: - Waters Xterra MS 5 µm C18, 100 x 4,6 mm con un gradiente de ACN/bicarbonato de amonio 10 mM acuoso (del 5% al 95% a lo largo de 3,5 min con una continuación de ACN a esta concentración durante 4 min adicionales, velocidad de flujo de 2 ml/min).

Purificación quiral

Se llevó a cabo la purificación quiral usando o bien:

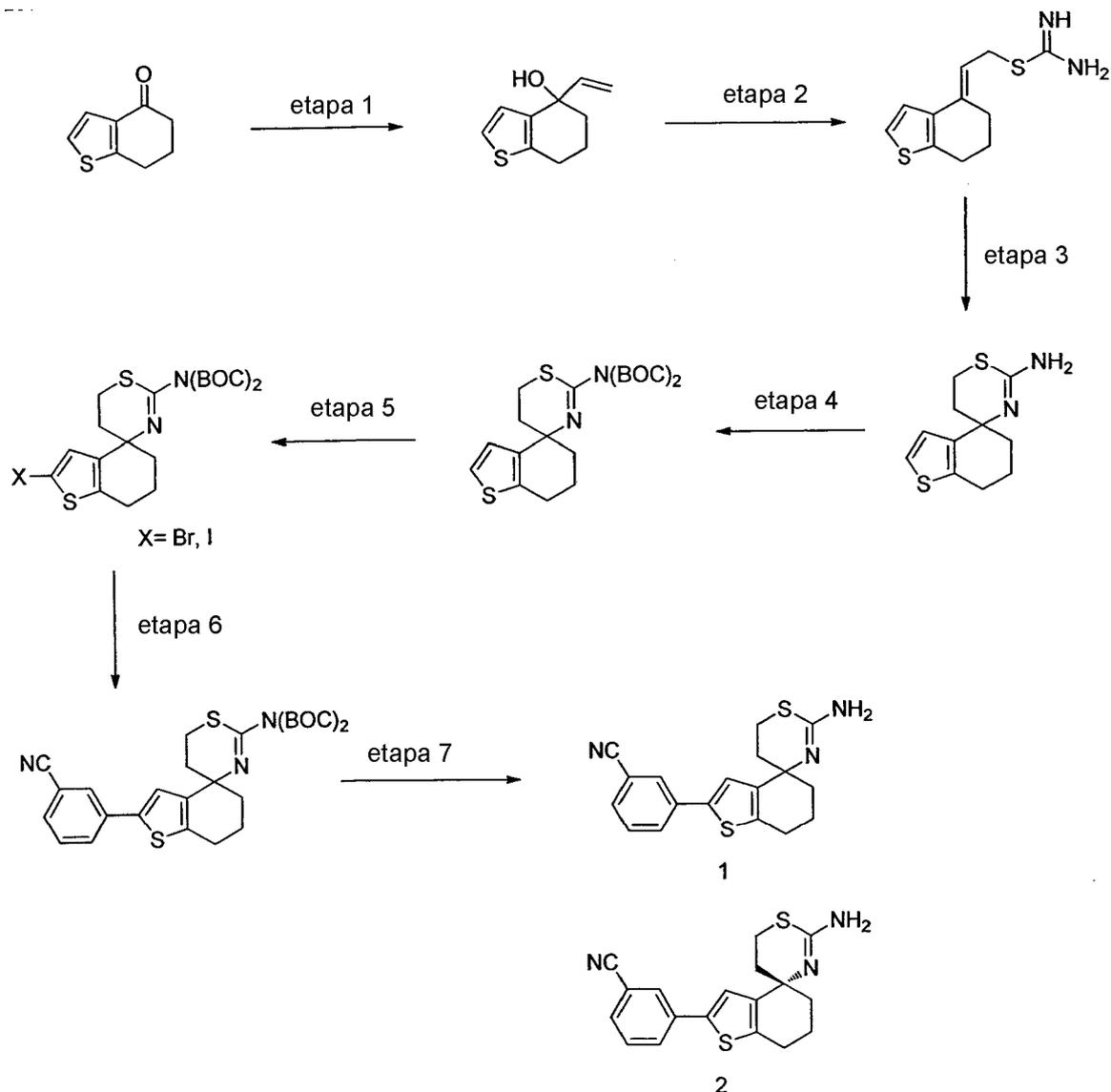
30 1. Columna Chiralpak IA (25 cm x 4,6 mm) eluyendo con un disolvente de heptano (80%) e IPA/MeOH/DEA al 0,1% 1:1 (20%) a una velocidad de flujo de 1,5 ml/min.

2. Columna Chiralpak IB (25 cm x 4,6 mm) eluyendo con un disolvente de heptano (75%) y etanol (25%) a una velocidad de flujo de 1,5 ml/min.

Los métodos analíticos A-F hacen referencia a las tablas de datos representadas en el documento a continuación.

Ejemplo 1: 3-(2'-Amino-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin-2-il)benzonitrilo, sal de formiato

Método 1



5 Etapa 1: 4-Vinil-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofen-4-ol

Se disolvió 6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona (8,48 g, 56 mmol) en dietil éter anhidro (200 ml) y se enfrió la disolución hasta -30°C . Se añadió cloruro de vinilmagnesio (60 ml, disolución 1,6 M en THF, 96 mmol) a la cetona en porciones mientras que se mantenía la temperatura a -30°C . Tras finalizar la adición, se agitó la reacción a -30°C durante 30 min y después se dejó calentar hasta 25°C . Se continuó la agitación durante la noche y se trató la disolución entonces con disolución de cloruro de amonio saturada. Se extrajo el producto en diclorometano y volvió a extraerse con agua y salmuera saturada. Se secó la disolución de diclorometano (MgSO_4), se filtró y se concentró a vacío para dar el compuesto del título como un aceite amarillo en bruto (10,1 g, 100%). Se usó este compuesto directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional.

10

Etapa 2: Carbamimidato de 2-(6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-iliden)etilo

15 Se disolvió 4-vinil-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofen-4-ol (10,1 g, 56 mmol) en ácido acético (70 ml) y se añadió en una porción tiourea (4,3 g, 56 mmol). Se agitó la reacción a 25°C durante 2 horas y después se eliminó a vacío la mayor parte del ácido acético. Se diluyó el residuo con dietil éter para dar un sólido blanco. Se separó por filtración éste y se lavó con éter adicional antes de secarse a vacío. Se aisló el compuesto del título como la sal de acetato (13,8 g,

83%).

Etapa 3: 5',6,6',7-Tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-amina

Se suspendió carbamimidatoato de 2-(6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-iliden)etilo (13,8 g, 46 mmol) en HCl concentrado (150 ml) y se agitó a 25°C hasta que se disolvió todo el sólido. Se monitorizó la reacción con CL/EM hasta que no quedó material de partida. Se neutralizó después la mezcla con disolución de NaOH 2 M acuosa y hielo hasta que precipitó un sólido. Se separó éste por filtración, se lavó con agua y se secó a vacío para producir el compuesto del título como un sólido blanco (10,35 g, 93%). ¹H-RMN δ (ppm)(CHCl₃-d): 7,05 (1 H, d, J= 5,25 Hz), 6,88 (1 H, d, J= 5,24 Hz), 4,79 (2 H, s), 3,20-3,01 (2 H, m), 2,90-2,74 (2 H, m), 2,10-1,98 (2 H, m), 1,96-1,77 (4 H, m). CLEM (método f) Tr 2,83 (min) m/z 239 (MH⁺).

10 Etapa 4: 5',6,6',7-Tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-ilcarbamato de di-terc-butilo

Se disolvió 5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-amina (13,1 g, 55 mmol) en diclorometano (300 ml) y se añadieron dicarbonato de di-terc-butilo (48 g, 220 mmol) y dimetilaminopiridina (13,4 g, 110 mmol). Se agitó la reacción a 25°C durante la noche y después se concentró a vacío. Se llevó el residuo a dietil éter y el sólido resultante se separó por filtración. Se evaporó el filtrado hasta un residuo en bruto que se purificó sobre gel de sílice usando éter de petróleo 40-60 : acetato de etilo (3 : 1) para producir el compuesto del título como un sólido amarillo (21,6 g, 89%).

Etapa 5: Bromación o yodación

2-Bromo-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-iliminodicarbonato de di-terc-butilo

Se disolvió 5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-ilcarbamato de di-terc-butilo (6,0 g, 13,7 mmol) en diclorometano (130 ml) y se enfrió hasta -5°C. Se añadió N-bromosuccinimida (2,56 g, 14,4 mmol) en una porción y se agitó la reacción durante 1 h seguido por 1 hora adicional a 25°C. Entonces se lavó la disolución en diclorometano con agua, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío. Entonces se purificó el residuo en bruto sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 0-50% de acetato de etilo en éter de petróleo 40-60, para dar el compuesto del título (4,02 g, 57%). ¹H-RMN δ (ppm)(CDCl₃): 6,79 (1 H, s), 3,28-3,17 (1 H, m), 3,12-3,04 (1 H, m), 2,80-2,68 (2 H, m), 2,09-1,86 (6 H, m), 1,52 (18 H, s). CLEM (método d) Tr 4,47 (min) m/z 539 (MH⁺).

2-Yodo-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-ilcarbamato de di-terc-butilo

Se disolvió 5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-ilcarbamato de di-terc-butilo (2,55 g, 5,8 mmol) en diclorometano (60 ml) y se enfrió hasta 0°C. Se añadió N-yodosuccinimida (1,38 g, 6,11 mmol) en una porción y se calentó la reacción hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se añadió una porción adicional de N-yodoosuccinimida (1,38 g, 6,11 mmol) y se agitó la mezcla durante 18 h adicionales a temperatura ambiente. Entonces se lavó la disolución en diclorometano con agua, se secó (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo en bruto sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 0-50% de acetato de etilo en éter de petróleo 40-60 (2,46 g, 75%).

35 Etapa 6: 2-(3-Cianofenil)-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-iliminodicarbonato de di-terc-butilo

Se disolvió 2-bromo-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-ilcarbamato de di-terc-butilo (0,51 g, 1 mmol) en DMF (15 ml). Se añadió Cs₂CO₃ acuoso (3,7 M, 0,6 ml) y ácido 3-cianofenilborónico (0,147 g, 1 mmol) y se degasificó la disolución bajo una corriente de nitrógeno durante 10 min. Se añadió Pd(dppf)Cl₂ (0,082 g, 0,1 mmol) y se calentó la reacción a 90°C durante 2 h. Se enfrió la reacción y se evaporó a vacío para dejar un residuo que se purificó sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 0-75% de acetato de etilo en éter de petróleo 40-60 (0,41 g, 76%). ¹H-RMN δ (ppm)(CHCl₃-d): 7,80 (1 H, t, J = 1,68 Hz), 7,71 (1 H, dt, J = 7,86, 1,53 Hz), 7,54-7,42 (2 H, m), 7,17 (1 H, s), 3,28 (1 H, ddd, J = 12,69, 10,13, 4,84 Hz), 3,12 (1 H, dt, J = 12,72, 4,72 Hz), 2,96-2,81 (2 H, m), 2,13-1,86 (5 H, m), 1,87-1,78 (1 H, m), 1,53 (18 H, s). CLEM (método e) Tr 5,12 (min) m/z 562 (MH⁺).

45 Etapa 7: 3-(2'-Amino-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2-il)benzonitrilo, sal de formiato

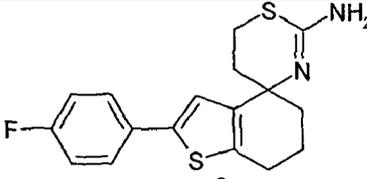
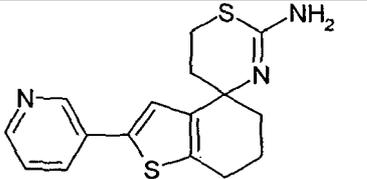
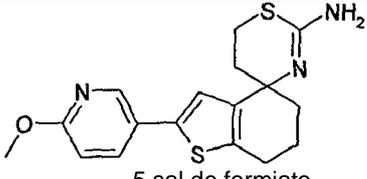
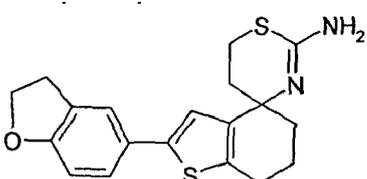
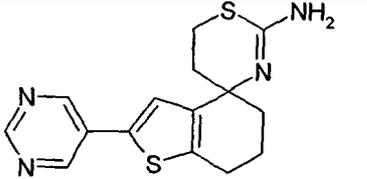
Se agitó 2-(3-cianofenil)-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-iliminodicarbonato de di-terc-butilo (0,084 g, 0,25 mmol) en ácido trifluoroacético (1 ml) durante 18 h a temperatura ambiente. Se evaporó la reacción a vacío para dejar un residuo que se purificó usando HPLC preparativa para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino y sal de formiato (21 mg, 25%). ¹H-RMN δ (ppm)(CHCl₃-d): 8,45 (1 H, s), 7,80 (1 H, s), 7,74 (1 H, dt, J = 7,87, 1,53 Hz), 7,53 (1 H, dt, J = 7,71, 1,38 Hz), 7,46 (1 H, t, J = 7,78 Hz), 7,15 (1 H, s), 3,26-3,13

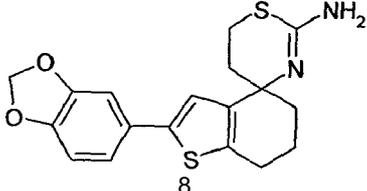
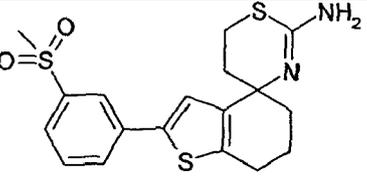
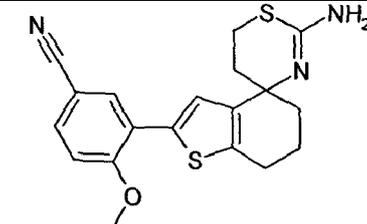
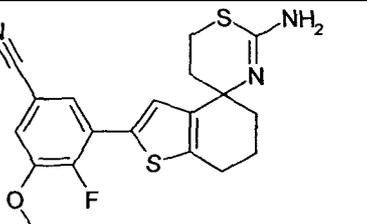
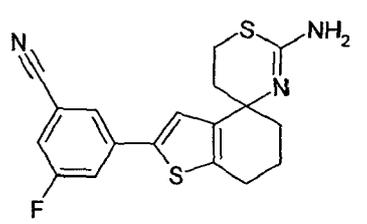
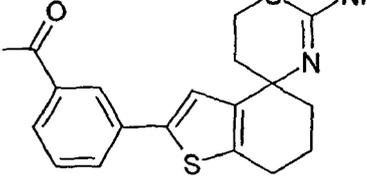
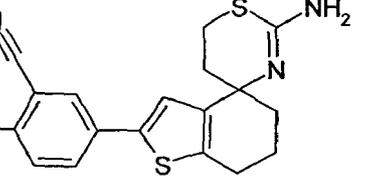
(2 H, m), 3,01-2,91 (1 H, m), 2,81 (1 H, dt, $J = 16,94, 5,24$ Hz), 2,44-2,36 (1 H, m), 2,28-2,09 (3 H, m), 2,01-1,89 (2 H, m). No se observaron picos de NH_2 . HPLC (Método a) Tr 7,75 (min) m/z 340 (MH^+).

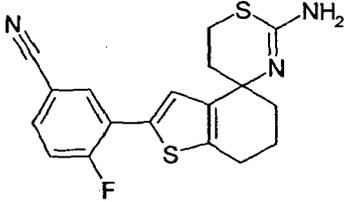
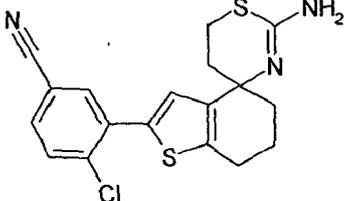
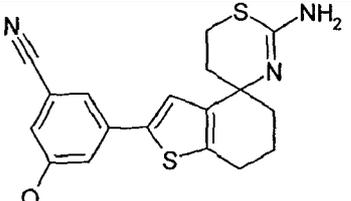
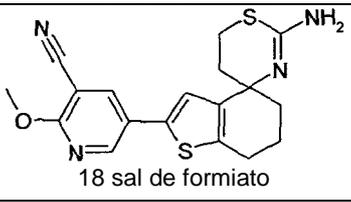
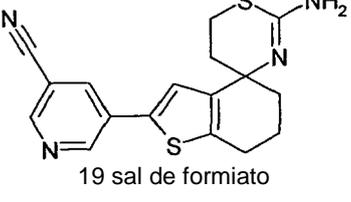
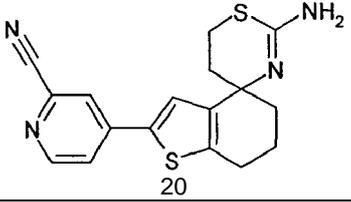
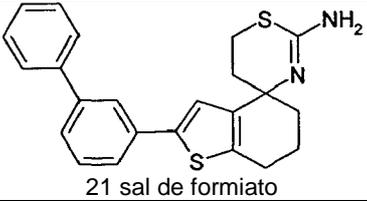
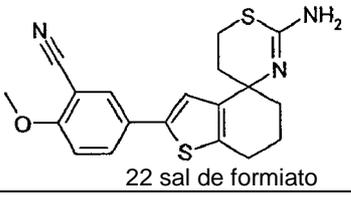
Ejemplo 2: (R)-3-(2'-Amino-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2-il)benzonitrilo

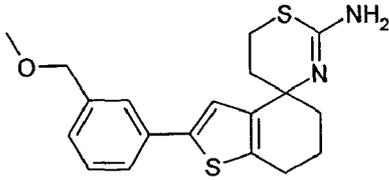
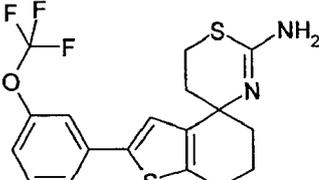
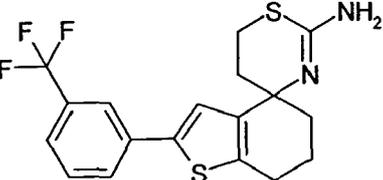
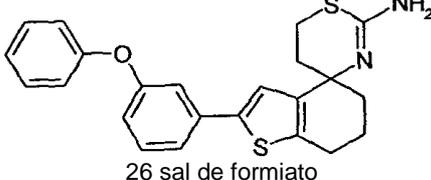
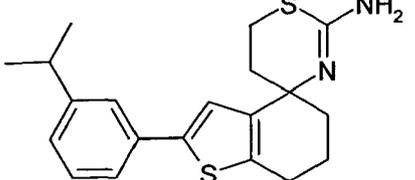
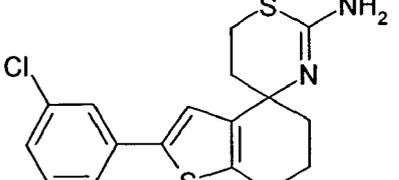
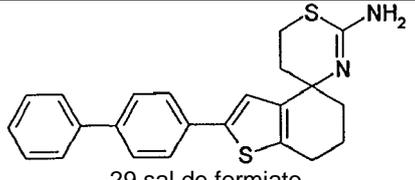
5 Se purificó 3-(2'-amino-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2-il)benzonitrilo usando HPLC preparativa quiral para dar el compuesto del título como un sólido blanco (5,9 mg, tiempo de retención = 10,68 min) y su enantiómero como un sólido blanco, (S)-3-(2'-amino-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2-il)benzonitrilo (3,9 mg, tiempo de retención = 13,66 min). (Enantiómero R): $^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)($\text{CHCl}_3\text{-d}$): 7,79 (1 H, s), 7,73 (1 H, dt, $J = 7,85, 1,52$ Hz), 7,52-7,40 (2 H, m), 7,13 (1 H, s), 3,24-3,15 (1 H, m), 3,07 (1 H, ddd, $J = 12,47, 6,49, 4,13$ Hz), 2,93-2,77 (2 H, m), 2,10-1,95 (3 H, m), 1,95-1,78 (3 H, m). No se observaron picos de NH_2 . CLEM (método e) Tr 2,67 (min) m/z 340 (MH^+). Enantiómero (S): $^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)($\text{CHCl}_3\text{-d}$): 7,79 (1 H, t, $J = 1,68$ Hz), 7,73 (1 H, dt, $J = 7,84, 1,55$ Hz), 7,52-7,41 (2 H, m), 7,13 (1 H, s), 3,20 (1 H, ddd, $J = 12,43, 9,74, 4,38$ Hz), 3,06 (1 H, ddd, $J = 12,45, 6,23, 4,26$ Hz), 2,92-2,77 (2 H, m), 2,09-1,93 (3 H, m), 1,94-1,80 (3 H, m). No se observaron picos de NH_2 . CLEM (método e) Tr 2,67 (min) m/z 340 (MH^+).

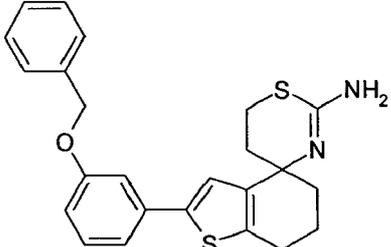
Se prepararon de forma similar usando el método 1 con diferentes derivados de éster o ácido borónico:

Estructura	MH^+	Tr de HPLC	RMN
 3	333	7,87 ^a	$^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)($\text{CHCl}_3\text{-d}$): 7,51-7,44 (2 H, m), 7,05-6,98 (3 H, m), 4,28 (2 H, s), 3,19 (1 H, ddd, $J = 12,41, 10,00, 4,04$ Hz), 3,07 (1 H, ddd, $J = 12,41, 6,44, 4,12$ Hz), 2,91-2,75 (2 H, m), 2,09-1,97 (2 H, m), 1,98-1,78 (4 H, m). (Sólido blanquecino)
 4	316	6,7 ^a	$^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)($\text{CHCl}_3\text{-d}$): 8,69 (1 H, d, $J = 2,36$ Hz), 8,35 (1 H, dd, $J = 4,85, 1,57$ Hz), 7,80 (1 H, dt, $J = 8,00, 1,95$ Hz), 7,29-7,14 (1 H, m, solapándose con el pico de disolvente), 7,02 (1 H, s), 3,09-3,00 (1 H, m), 2,91 (1 H, ddd, $J = 12,47, 6,35, 4,07$ Hz), 2,79-2,63 (2 H, m), 1,95-1,64 (6 H, m). No se observaron picos de NH_2 . (Sólido blanquecino)
 5 sal de formiato	346	2,15 ^b	$^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)($\text{CHCl}_3\text{-d}$): 8,48 (1 H, s), 8,34 (1 H, d, $J = 2,52$ Hz), 7,73 (1 H, dd, $J = 8,62, 2,56$ Hz), 6,99 (1 H, s), 6,76 (1 H, d, $J = 8,61$ Hz), 3,96 (3 H, s), 3,21 (2 H, t, $J = 6,02$ Hz), 3,00-2,89 (1 H, m), 2,79 (1 H, dt, $J = 16,85, 5,19$ Hz), 2,45-2,37 (1 H, m), 2,25 (1 H, t, $J = 12,27$ Hz), 2,18-2,08 (2 H, m), 2,00-1,89 (2 H, m). No se observaron picos de NH_2 . (Sólido blanquecino)
 6 sal de formiato	357	2,29 ^b	$^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)($\text{CHCl}_3\text{-d}$): 8,45 (1 H, s), 7,31 (1 H, s), 7,21 (1 H, dd, $J = 8,44, 2,28$), 6,94 (1 H, s), 6,77 (1 H, d, $J = 8,29$ Hz), 4,60 (2 H, t, $J = 8,68$ Hz), 3,28-3,14 (4 H, m), 2,92 (1 H, ddd, $J = 16,94, 8,30, 5,79$ Hz), 2,78 (1 H, dt, $J = 16,84, 5,30$ Hz), 2,47-2,38 (1 H, m), 2,21-2,02 (3 H, m), 2,00-1,87 (2 H, m). No se observaron picos de NH_2 . (Sólido blanquecino)
 7	317	8,92 ^c	$^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)($\text{CHCl}_3\text{-d}$): 9,07 (1 H, s), 8,88 (2 H, s), 7,19 (1 H, s), 3,22 (1 H, ddd, $J = 12,45, 9,24, 5,07$ Hz), 3,07 (1 H, dt, $J = 12,48, 5,13$ Hz), 2,92-2,81 (2 H, m), 2,11-1,82 (6 H, m). No se observaron picos de NH_2 . (Sólido blanquecino)

Estructura	MH ⁺	Tr de HPLC	RMN
 <p>8</p>	359	2,29 ^b	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,36 (0,5 H, s), 7,0-6,88 (2 H, m), 6,87 (1 H, s), 6,73 (1 H, d, <i>J</i> = 8,07 Hz), 5,90 (2 H, s), 3,23-3,11 (2 H, m), 2,89-2,78 (1 H, m), 2,70 (1 H, d, <i>J</i> = 16,70 Hz), 2,38-2,29 (1 H, m), 2,08 (2 H, t, <i>J</i> = 13,81 Hz), 2,00 (1 H, s), 1,85 (2 H, s). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>9</p>	393	2,07 ^b	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,08 (1 H, t, <i>J</i> = 1,88 Hz), 7,78 (2 H, d, <i>J</i> = 7,76 Hz), 7,56-7,49 (1 H, m), 7,21-7,17 (1 H, m), 3,21 (1 H, ddd, <i>J</i> = 12,44, 9,25, 5,18 Hz), 3,12-3,02 (4 H, m), 2,94-2,78 (2 H, m), 2,10-1,79 (6 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>10 sal de formiato</p>	370	2,69 ^e	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,48 (1 H, s), 7,84 (1 H, d, <i>J</i> = 2,09 Hz), 7,54 (1 H, dd, <i>J</i> = 8,59, 2,12 Hz), 7,30 (1 H, s), 7,03-6,96 (1 H, m), 3,98 (3 H, s), 3,25-3,18 (2 H, m), 3,01-2,90 (1 H, m), 2,82 (1 H, dt, <i>J</i> = 17,24, 4,97 Hz), 2,46-2,37 (1 H, m), 2,27 (1 H, t, <i>J</i> = 12,42 Hz), 2,19-2,07 (2 H, m), 2,01-1,90 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>11 sal de formiato</p>	388	7,83 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,39 (1 H, s), 7,45 (1 H, dd, <i>J</i> = 6,00, 1,92 Hz), 7,27 (1H, s, oscurecido por pico de disolvente), 7,10-7,05 (1 H, m), 3,91 (3 H, s), 3,25-3,10 (2 H, m), 3,00-2,88 (2 H, m), 2,85-2,74 (1 H, m), 2,41-2,32 (1 H, m), 2,22-2,06 (2 H, m), 2,00-1,86 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>12 sal de formiato</p>	358	3,37 ^d	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,38 (1 H, s), 7,61-7,57 (1 H, m), 7,45 (1 H, dt, <i>J</i> = 9,54, 1,98 Hz), 7,24-7,15 (2 H, m), 3,23 (1 H, ddd, <i>J</i> = 12,94, 9,58, 3,61 Hz), 3,15-3,06 (1 H, m), 3,03-2,90 (1 H, m), 2,83-2,72 (2 H, m), 2,39-2,30 (1 H, m), 2,20-2,03 (2 H, m), 1,99-1,85 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanco)
 <p>13 sal de formiato</p>	373	3,36 ^d	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,46 (1 H, s), 8,19 (1 H, t, <i>J</i> = 1,76 Hz), 7,92 (1 H, d, <i>J</i> = 7,78 Hz), 7,73-7,69 (1 H, m), 7,43 (1 H, t, <i>J</i> = 7,78 Hz), 7,15 (1 H, s), 3,95 (3 H, s), 3,21 (2 H, t, <i>J</i> = 6,02 Hz), 3,01-2,91 (1 H, m), 2,81 (1 H, dt, <i>J</i> = 16,82, 5,22 Hz), 2,47-2,39 (1 H, m), 2,31-2,23 (1 H, m), 2,18-2,08 (2 H, m), 2,00-1,88 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanco)
 <p>14 sal de formiato</p>	358	7,86 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,43 (1 H, s), 7,78-7,68 (2 H, m), 7,24-7,14 (1 H, m), 7,08 (1 H, s), 3,27-3,11 (2 H, m), 3,00-2,89 (1 H, m), 2,80 (1 H, dt, <i>J</i> = 16,97, 5,27 Hz), 2,43-2,34 (1 H, m), 2,25-2,08 (3 H, m), 2,02-1,88 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)

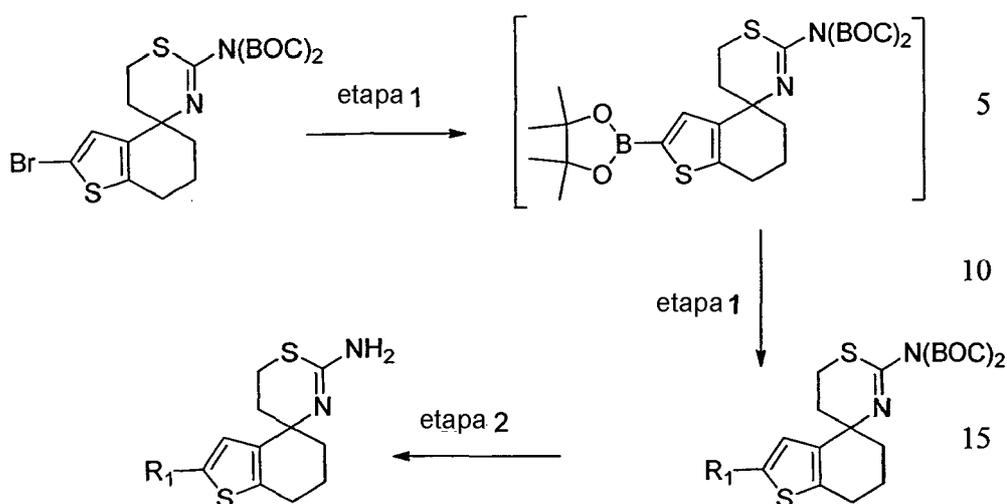
Estructura	MH ⁺	Tr de HPLC	RMN
 <p>15 sal de formiato</p>	358	7,76 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,46 (1 H, s), 7,87 (1 H, dd, <i>J</i> = 7,04,2,09 Hz), 7,53 (1 H, ddd, <i>J</i> = 8,55, 4,45,2,11 Hz), 7,31 (1 H, s), 7,24-7,18 (1H, m), 3,27-3,15 (2 H, m), 3,03-2,93 (1 H, m), 2,83 (1 H, dt, <i>J</i> = 17,01, 5,25 Hz), 2,44-2,36 (1 H, m), 2,30-2,21 (1 H, m), 2,19-2,08 (2 H, m), 2,01-1,90 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>16 sal de formiato</p>	374	7,91 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,39 (1 H, s), 7,75 (1 H, d, <i>J</i> = 1,97 Hz), 7,52 (1 H, t, <i>J</i> = 8,30 Hz), 7,50-7,44 (1 H, m), 7,15 (1 H, s), 3,25-3,11 (2 H, m), 3,00-2,87 (2 H, m), 2,84-2,74 (1 H, m), 2,41-2,32 (1 H, m), 2,21-2,05 (2 H, m), 1,97-1,86 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>17 sal de formiato</p>	370	2,76 ^e	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,41 (1 H, s), 7,39 (1 H, t, <i>J</i> = 1,43 Hz), 7,25-7,22 (1 H, m), 7,11 (1 H, s), 7,04-6,99 (1 H, m), 3,87 (3 H, s), 3,28-3,15 (2 H, m), 3,01-2,91 (1 H, m), 2,81 (1 H, dt, <i>J</i> = 17,06, 5,23 Hz), 2,46-2,37 (1 H, m), 2,27-2,09 (3 H, m), 2,00-1,89 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>18 sal de formiato</p>	371	7,76 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,49 (1 H, d, <i>J</i> = 2,50 Hz), 8,36 (1 H, s), 8,00 (1 H, d, <i>J</i> = 2,51 Hz), 7,04 (1 H, s), 4,07 (3 H, s), 3,29-3,13 (2 H, m), 3,01-2,90 (1 H, m), 2,80 (1 H, dd, <i>J</i> = 17,32, 0,04 Hz), 2,45-2,36 (1 H, m), 2,28-2,08 (3 H, m), 1,98-1,90 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanco)
 <p>19 sal de formiato</p>	341	7,35 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,91 (1 H, d, <i>J</i> = 2,27 Hz), 8,67 (1 H, d, <i>J</i> = 1,87 Hz), 8,27 (1 H, s), 8,08 (1 H, t, <i>J</i> = 2,08 Hz), 7,25 (1 H, s), 3,28-3,19 (1 H, m), 3,15-3,07 (1 H, m), 3,00-2,89 (1 H, m), 2,78 (1 H, dt, <i>J</i> = 17,22, 5,49 Hz), 2,37 (1 H, ddd, <i>J</i> = 14,34, 9,84, 3,73 Hz), 2,24-2,04 (3 H, m), 1,96-1,85 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>20</p>	341	2,49 ^e	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,65 (1 H, d, <i>J</i> = 5,26 Hz), 7,80 (1 H, d, <i>J</i> = 1,77 Hz), 7,58 (1 H, dd, <i>J</i> = 5,25,1,87 Hz), 7,35-7,30 (1 H, m), 3,33-3,17 (2 H, m), 3,04-2,97 (1 H, m), 2,87 (1 H, dt, <i>J</i> = 17,64, 5,20 Hz), 2,49-2,41 (1 H, m), 2,29-2,14 (3 H, m), 2,04-1,96 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>21 sal de formiato</p>	391	3,05 ^e	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,44 (1 H, s), 7,70 (1 H, s), 7,61-7,56 (2 H, m), 7,54-7,32 (6 H, m), 7,11 (1 H, s), 3,24-3,10 (2 H, m), 2,93 (1 H, ddd, <i>J</i> = 17,04, 8,37, 5,79 Hz), 2,78 (1 H, dt, <i>J</i> = 17,15, 5,58 Hz), 2,44-2,34 (1 H, m), 2,21-2,04 (3 H, m), 1,99-1,82 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>22 sal de formiato</p>	370	7,78 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,39 (1 H, s), 7,72-7,66 (2 H, m), 7,03-6,95 (2 H, m), 3,96 (3 H, s), 3,27-3,16 (2 H, m), 3,00-2,89 (1 H, m), 2,80 (1 H, dt, <i>J</i> = 16,92, 5,15 Hz), 2,47-2,38 (1 H, m), 2,28-2,09 (3 H, m), 1,99-1,90 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)

Estructura	MH ⁺	Tr de HPLC	RMN
 <p>23 sal de formiato</p>	359	7,79 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,48 (1 H, s), 7,54-7,40 (2 H, m), 7,42-7,28 (1 H, m), 7,29-7,20 (1 H, m), 7,09 (1 H, s), 4,51-4,42 (2 H, m), 3,43-3,33 (3 H, m), 3,17 (2 H, s), 2,99-2,88 (1 H, m), 2,78 (1 H, d, <i>J</i> = 16,74 Hz), 2,44-2,35 (1 H, m), 2,28-2,15 (1 H, m), 2,14-2,05 (2 H, m), 1,91 (2 H, s). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>24 sal de formiato</p>	399	3,33 ^d	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,46 (1 H, s), 7,47 (1 H, d, <i>J</i> = 7,88 Hz), 7,42-7,34 (2 H, m), 7,15-7,11 (2 H, m), 3,25-3,13 (2 H, m), 3,01-2,91 (1 H, m), 2,80 (1 H, dt, <i>J</i> = 16,95, 5,21 Hz), 2,46-2,37 (1 H, m), 2,27-2,07 (3 H, m), 2,01-1,89 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>25 sal de formiato</p>	383	3,87 ^d	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,48 (1 H, s), 7,79-7,66 (2 H, m), 7,54-7,44 (2 H, m), 7,15 (1 H, s), 3,24-3,12 (2 H, m), 2,97 (1 H, ddd, <i>J</i> = 17,11, 8,46, 5,92 Hz), 2,81 (1 H, dt, <i>J</i> = 16,99, 5,25 Hz), 2,46-2,36 (1 H, m), 2,28-2,08 (3 H, m), 2,02-1,88 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido marrón)
 <p>26 sal de formiato</p>	407	2,6 ^b	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,46 (1 H, s), 7,41-7,25 (5 H, m), 7,22 (1 H, s), 7,16-7,02 (3 H, m), 6,90-6,85 (1 H, m), 3,20 (2 H, t, <i>J</i> = 6,01 Hz), 3,00-2,89 (1 H, m), 2,79 (1 H, dt, <i>J</i> = 16,99, 5,31 Hz), 2,46-2,38 (1 H, m), 2,26 (1 H, t, <i>J</i> = 12,20 Hz), 2,20-2,06 (2 H, m), 1,93 (2 H, dd, <i>J</i> = 12,72, 5,43 Hz). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>27 sal de formiato</p>	357	3,59 ^d	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,51 (1 H, s), 7,36 (2 H, d, <i>J</i> = 8,83 Hz), 7,31-7,24 (1 H, m), 7,14 (1 H, d, <i>J</i> = 7,63 Hz), 7,07 (1 H, s), 3,15 (2 H, t, <i>J</i> = 6,04 Hz), 3,00-2,87 (2 H, m), 2,78 (1 H, dt, <i>J</i> = 16,84, 5,11 Hz), 2,42-2,32 (1 H, m), 2,29-2,15 (1 H, m), 2,15-1,97 (2 H, m), 1,96-1,86 (2 H, m), 1,28 (6 H, d, <i>J</i> = 6,92 Hz). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido marrón)
 <p>28</p>	349	2,43 ^b	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,45 (1 H, s), 7,52 (1 H, s), 7,41 (1 H, d, <i>J</i> = 7,64 Hz), 7,36-7,18 (2 H, m), 7,10 (1 H, s), 3,21 (2 H, t, <i>J</i> = 5,97 Hz), 3,02-2,92 (1 H, m), 2,85-2,74 (1 H, m), 2,47-2,39 (1 H, m), 2,25 (1 H, d, <i>J</i> = 12,76 Hz), 2,20-2,09 (2 H, m), 1,94 (2 H, dd, <i>J</i> = 13,27, 6,45 Hz). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>29 sal de formiato</p>	391	8,99 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,49 (1 H, s), 7,65-7,58 (6 H, m), 7,46 (2 H, t, <i>J</i> = 7,56 Hz), 7,37 (1 H, d, <i>J</i> = 7,35 Hz), 7,13 (1 H, s), 3,24 (1 H, dt, <i>J</i> = 7,65, 4,02 Hz), 2,28 (1 H, s), 2,21-2,09 (6 H, m), 2,00-1,91 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)

Estructura	MH ⁺	Tr de HPLC	RMN
 <p>30 sal de formiato</p>	421	2,62 ^b	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,48 (1 H, s), 7,49-7,32 (5 H, m), 7,31-7,23 (1 H, m, oscurecido por pico de disolvente), 7,15 (2 H, t, J = 5,22 Hz), 7,06 (1 H, s), 6,89 (1 H, dd, J = 8,21, 2,44 Hz), 5,11 (2 H, s), 3,23-3,17 (2 H, m), 2,93 (1 H, t, J = 8,04 Hz), 2,82 (1 H, t, J = 5,29 Hz), 2,47-2,39 (1 H, m), 2,25 (1 H, d, J = 13,13 Hz), 2,16-2,06 (2 H, m), 1,97-1,90 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)

^a-1 Ta se refiere a método de HPLC A a F

Método 2:

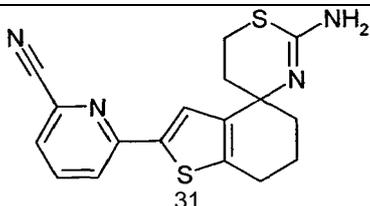
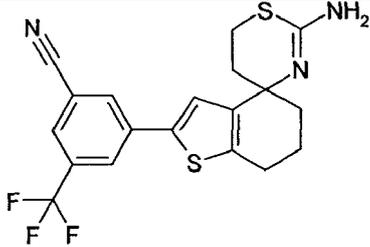
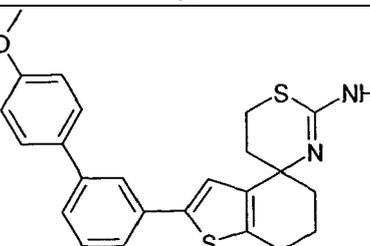
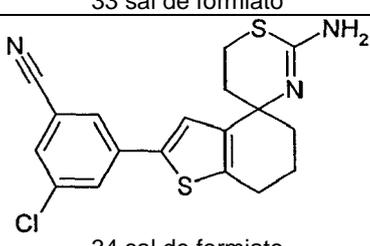
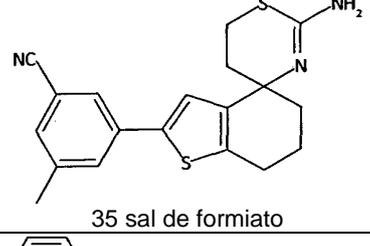
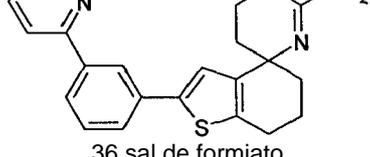


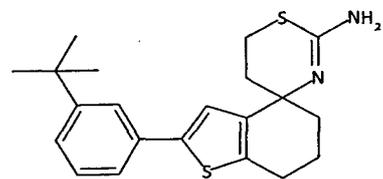
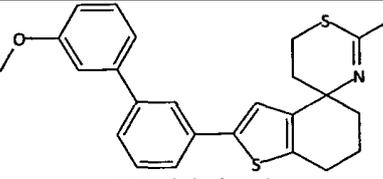
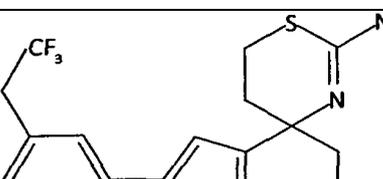
5 Etapa 1: Se disolvió 2-bromo-5',6,6',7-tetrahydro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-ilcarbamato de di-terc-butilo (0,1 g, 0,2 mmol) en DMF (1 ml), se añadieron bis(pinacolato)diboro (90 mg, 0,4 mmol), acetato de potasio (59 mg, 0,6 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (16 mg, 0,02 mmol) y se degasificó la disolución bajo una corriente de nitrógeno durante 10 min. Se calentó la reacción durante 15 min a 80°C. Se enfrió la mezcla y se añadieron un bromuro o cloruro aromático o heteroaromático (0,2 mmol) y Cs₂CO₃ acuoso (0,15 ml, 3,7 M, 0,55 mmol) y se degasificó la disolución otra vez bajo una corriente de nitrógeno durante 10 min. Se añadió Pd(dppf)Cl₂ (16 mg, 0,02 mmol) y se calentó la disolución durante 2 h a 80°C. Se enfrió entonces la reacción y se evaporó a vacío para dejar un residuo que se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional.

Etapa 2:

15 Se agitó el producto intermedio de di-terc-butilo protegido de la etapa 1 (0,2 mmol) en ácido trifluoroacético (2 ml) durante 18 h a temperatura ambiente. Se evaporó la mezcla de reacción a vacío para dejar un residuo que se purificó usando HPLC preparativa para dar el producto deseado.

Se prepararon de forma similar usando el método 2 con diferentes bromuro de arilo o heteroarilo:

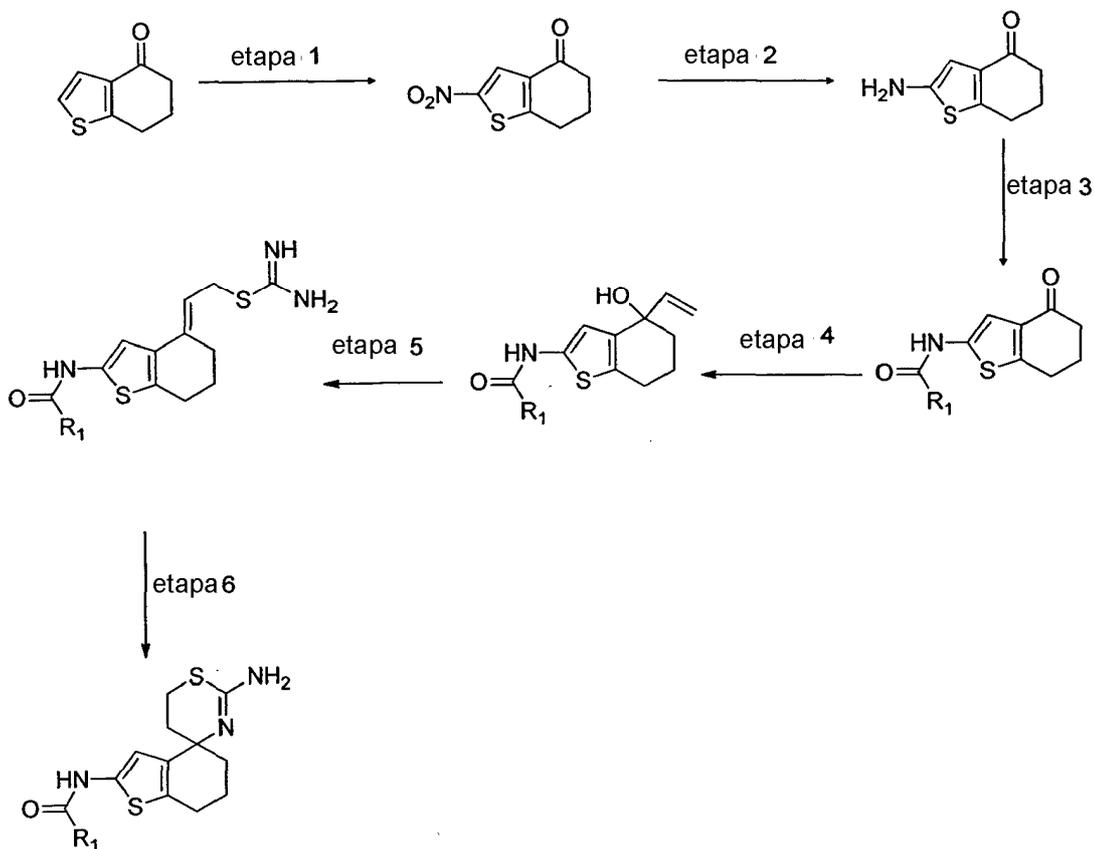
Estructura	MH ⁺	Tr de HPLC	RMN
 <p>31</p>	341	7,84 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(DMSO-d ₆): 8,27-8,16 (1 H, m), 8,05 (1 H, t, <i>J</i> = 7,90 Hz), 7,90-7,81 (2 H, m), 3,30 (1 H, t, <i>J</i> = 12,22 Hz), 3,16 (1 H, d, <i>J</i> = 13,32 Hz), 2,88-2,73 (2 H, m), 2,20 (1 H, t, <i>J</i> = 11,83 Hz), 2,10 (1 H, d, <i>J</i> = 11,07 Hz), 1,91 (3 H, s), 1,83 (1 H, d, <i>J</i> = 13,17 Hz). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>32</p>	408	2,91 ^e	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,42 (1 H, s), 7,95 (2 H, d, <i>J</i> = 9,31 Hz), 7,76 (1 H, s), 7,23 (1 H, s), 3,27 (1 H, t, <i>J</i> = 10,76 Hz), 3,21-3,13 (1 H, m), 3,05-2,95 (1 H, m), 2,88-2,78 (1 H, m), 2,44-2,35 (1 H, m), 2,30-2,10 (3 H, m), 1,96 (2 H, t, <i>J</i> = 11,28 Hz). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido marrón)
 <p>33 sal de formiato</p>	421	3,07 ^e	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,51 (1 H, s), 7,68 (1 H, s), 7,56 (2 H, d, <i>J</i> = 8,37 Hz), 7,48-7,37 (3 H, m), 7,10 (1 H, s), 7,00 (2 H, d, <i>J</i> = 8,23 Hz), 3,86 (3 H, s), 3,20 (2 H, s), 3,02-2,74 (2H, m), 2,44-2,03 (4 H m), 1,94 (2 H, s). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido marrón)
 <p>34 sal de formiato</p>	374	7,93 ^e	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,43 (1 H, s), 7,70 (2 H, dt, <i>J</i> = 14,93, 1,68 Hz), 7,50 (1 H, t, <i>J</i> = 1,60 Hz), 7,16 (1 H, s), 3,27-3,14 (2 H, m), 3,00-2,93 (1 H, m), 2,84 (1 H, t, <i>J</i> = 5,30 Hz), 2,42-2,35 (1 H, m), 2,23 (1 H, d, <i>J</i> = 10,17 Hz), 2,16 (2 H, ddd, <i>J</i> = 14,41, 7,84, 3,84 Hz), 1,94 (2 H, dd, <i>J</i> = 13,36, 6,80 Hz). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido marrón)
 <p>35 sal de formiato</p>	354	7,84 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,46 (1 H, s), 7,60 (1H, s), 7,54(1H, s), 7,34(1H, s), 7,11(1H, s), 3,25-3,17 (2 H, m), 2,99-2,90 (1 H, m), 2,83 (1 H, s), 2,49-2,31 (3 H, m), 2,25 (1 H, t, <i>J</i> = 12,12 Hz), 2,18-2,10 (2 H, m), 1,94 (3 H, d, <i>J</i> = 11,98 Hz). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido beis)
 <p>36 sal de formiato</p>	392	2,16 ^b	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,71 (1 H, d, <i>J</i> = 4,88 Hz), 8,47 (1 H, s), 8,15 (1 H, s), 7,86 (1 H, d, <i>J</i> = 7,88 Hz), 7,77 (2 H, s), 7,58 (1 H, d, <i>J</i> = 7,83 Hz), 7,53-7,41 (1 H, m), 7,17 (2 H, s), 3,19 (2 H, s), 3,02-2,90 (1 H, m), 2,80 (1 H, d, <i>J</i> = 17,26 Hz), 2,48-2,38 (1 H, m), 2,25 (1 H, t, <i>J</i> = 12,30 Hz), 2,17-2,07 (2 H, m), 1,93 (2 H, t, <i>J</i> = 6,83 Hz). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido amarillo)

Estructura	MH ⁺	Tr de HPLC	RMN
 <p>37 sal de formiato</p>	371	2,65 ^b	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,48 (1 H, s), 7,52 (1 H, s), 7,40-7,24 (3 H, m, solapándose con el pico de disolvente), 7,05 (1 H, s), 3,20 (2 H, s), 3,00-2,90 (1 H, m), 2,84-2,74 (1 H, m), 2,47-2,38 (1 H, m), 2,26 (1 H, t, J = 11,75 Hz), 2,17-2,04 (2 H, m), 1,94 (2 H, t, J = 11,26 Hz), 1,35 (9 H, s). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido marrón)
 <p>38 sal de formiato</p>	421	2,59 ^b	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,47 (1 H, s), 7,71 (1 H, s), 7,51-7,34 (4 H, m), 7,20 (1 H, d, J = 7,93 Hz), 7,13 (2 H, d, J = 12,05 Hz), 6,98-6,88 (1 H, m), 3,88 (3 H, s), 3,31-3,16 (2 H, m), 3,04-2,89 (1 H, m), 2,87-2,76 (1 H, m), 2,54-2,39 (1 H, m), 2,34-2,21 (1 H, m), 2,20-2,06 (2 H, m), 1,99-1,88 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido marrón)
 <p>39 sal de formiato</p>	397	2,46 ^b	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,49 (0,25 H, s), 7,52 (1 H, d, J = 7,89 Hz), 7,46 (1 H, s), 7,37 (1 H, t, J = 7,73 Hz), 7,23 (1 H, d, J = 7,68 Hz), 7,08 (1 H, s), 3,42 (2 H, q, J = 10,77 Hz), 3,22 (2 H, d, J = 6,37 Hz), 3,02-2,91 (1 H, m), 2,87-2,78 (1 H, m), 2,49-2,40 (1 H, m), 2,25 (1 H, t, J = 12,53 Hz), 2,17-2,08 (2 H, m), 2,00-1,93 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido amarillo)

^a Ta se refiere a método de HPLC A a F

Método 3:

Etapa 1: 2-Nitro-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona



5 Se disolvió 6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona (5 g, 32,9 mmol) en ácido sulfúrico concentrado (30 ml) y se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo / sal. Se añadió ácido nítrico concentrado (3,5 ml) en ácido sulfúrico concentrado (20 ml) gota a gota manteniendo la temperatura de la reacción por debajo de 0°C. Se agitó la mezcla de reacción a 0-5°C durante 1 h. Se vertió la disolución en hielo y se filtró el sólido resultante, se lavó con agua y se secó en un horno de vacío, dando el compuesto del título (5,68 g, 88%).

Etapa 2: 2-Amino-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona

Se disolvió 2-nitro-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona (3,6 g, 18,2 mmol) en DMF (50 ml) y se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno (300 psi) durante 18 h con paladio al 10% sobre carbono. Se filtró la mezcla a través de Celite y se usó directamente en la etapa siguiente como una disolución en DMF.

10 Etapa 3:

Se trató 2-amino-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona (0,4 g, 2,7 mmol) en DMF (10 ml) con un ácido carboxílico (2,7 mmol), HATU (0,91 g, 2,7 mmol) y diisopropiletilamina (1,24 g, 1,7 ml, 9,6 mmol). Se agitó la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 1 h. Se concentró la mezcla a vacío para dejar un residuo que se purificó sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 0-100% de acetato de etilo en éter de petróleo 40-60 para dar la cetona deseada.

15

Etapa 4:

Se disolvió el derivado de cetona obtenido en la etapa 3 (0,7 mmol) en THF anhidro (20 ml) y se enfrió la disolución hasta -40°C bajo una atmósfera de nitrógeno. Se añadió cloruro de vinilmagnesio (2,55 ml, disolución 1,6 M en THF, 4,2 mmol) a la cetona en porciones mientras que se mantenía la temperatura a -40°C. Tras finalizar la adición, se agitó la reacción a -30°C durante 30 min y después se dejó calentar hasta 25°C. Se trató la disolución entonces con disolución de cloruro de amonio acuosa saturada. Se extrajo el producto en acetato de etilo y volvió a extraerse con agua y salmuera saturada. Se secó la disolución de acetato de etilo (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío para dar el producto deseado como un aceite amarillo en bruto que cristalizó en reposo. La trituración con dietil éter proporcionó el producto deseado como un sólido.

20

25 Etapa 5:

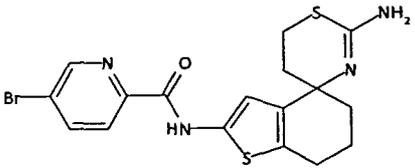
Se suspendió el producto obtenido en la etapa 4 (0,17 mmol) en ácido acético (0,35 ml). Se añadió tiourea (14 mg, 0,19 mmol) y se agitó la reacción a 25°C durante 2 h. La mayor parte del ácido acético se eliminó a vacío y se diluyó el residuo con dietil éter para dar un sólido blanquecino. Se separó éste por filtración y se lavó con éter adicional antes de secarse a vacío para dar el producto deseado como la sal de acetato.

30 Etapa 6:

Se suspendió el producto obtenido en la etapa 5 (0,08 mmol) en HCl concentrado (1 ml) y se agitó a 25°C hasta que se disolvió todo el sólido. Se monitorizó la reacción con CL/EM hasta que no quedó material de partida. Se neutralizó después la mezcla con disolución de NaHCO₃ saturada acuosa. Se extrajo entonces la fase acuosa con diclorometano (x3). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron (MgSO₄) y se concentraron a vacío para producir el producto deseado. En algunos casos, se purificó adicionalmente por HPLC preparativa.

35

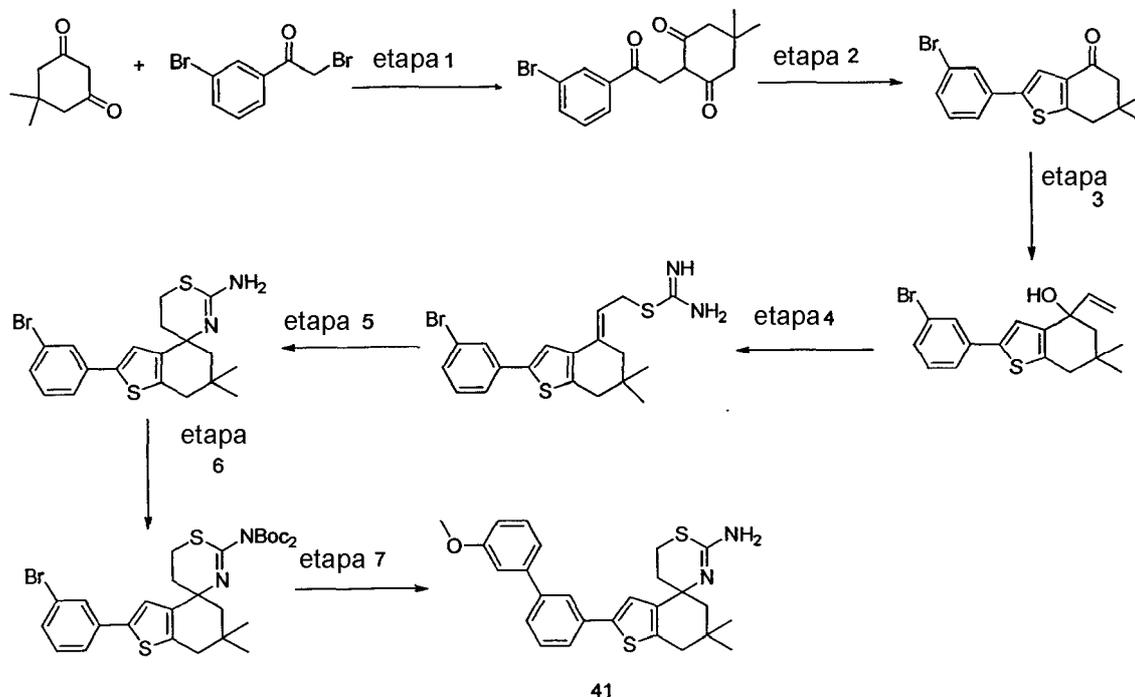
Se preparó de forma similar usando el método 3, partiendo de un ácido carboxílico diferente:

Estructura	MH ⁺	Tr de HPLC	RMN
 <p>40 sal de formiato</p>	437	2,2 ^b	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,52 (1 H, s), 8,31-8,26 (1 H, m), 7,96 (1 H, d, J = 8,10 Hz), 7,89 (1 H, d, J = 7,57 Hz), 7,28-7,25 (1 H, m, solapándose con el pico de disolvente), 6,64 (1 H, s), 3,01 (2 H, s), 2,67 (2 H, s), 2,54 (1 H, d, J = 18,32 Hz), 2,42 (1 H, s), 2,18 (1 H, s), 2,03 (1 H, t, J = 12,54 Hz), 1,91 (2 H, s), 1,77 (2 H, s). (Sólido amarillo)

^a Ta se refiere a método de HPLC A a F

Ejemplo 41: 2-(3'-Metoxibifenil-3-il)-6,6-dimetil-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-amina, sal de formiato

Método 4



5 Etapa 1: 2-(2-(3-Bromofenil)-2-oxoetil)-5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona

Se combinaron 5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona (1,4 g, 10 mmol), 2-bromo-1-(3-bromofenil)etanona (2,78 g, 10 mmol) y K_2CO_3 (1,38 g, 10 mmol) en cloroformo (40 ml). Se agitó la mezcla durante 18 h a temperatura ambiente tras lo cual se formó un precipitado blanco. Se recogió el sólido por filtración, se suspendió en agua y se acidificó hasta pH 5 usando HCl 1 M (ac.). Se filtró el sólido resultante, se lavó con agua y se secó a vacío para dar el compuesto del título. Se evaporó el filtrado acuoso y se purificó el residuo en bruto sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 0-100% de acetato de etilo en éter de petróleo 40-60 para producir el producto del título (2,77 g, 82%).

Etapa 2: 2-(3-Bromofenil)-6,6-dimetil-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona

Se sometieron a reflujo 2-(2-(3-bromofenil)-2-oxoetil)-5,5-dimetilciclohexano-1,3-diona (2,77 g, 8,2 mmol) y 2,4-disulfuro de 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano (reactivo de Lawesson) (2,29 g, 5,4 mmol) en tolueno (100 ml) durante 6 h. Se concentró a vacío la mezcla de reacción y se purificó sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 0-10% de acetato de etilo en éter de petróleo 40-60 para dar el compuesto del título (0,6 g, 22%).

Etapa 3: 2-(3-Bromofenil)-6,6-dimetil-4-vinil-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofen-4-ol

Se disolvió 2-(3-bromofenil)-6,6-dimetil-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona (0,36 g, 1,0 mmol) en THF anhidro (10 ml) y se enfrió la disolución hasta $-30^\circ C$ bajo una atmósfera de nitrógeno. Se añadió cloruro de vinilmagnesio (2,8 ml, disolución 1,6 M en THF, 5,4 mmol) a la cetona en porciones mientras que se mantenía la temperatura a $-30^\circ C$. Tras finalizar la adición, se dejó calentar la reacción hasta $25^\circ C$ y después se agitó durante 18 h. La monitorización de la reacción por CL/EM indicó que todavía quedaba presente material de partida así que se añadió cloruro de vinilmagnesio adicional (2,8 ml, disolución 1,6 M en THF, 5,4 mmol). Después de 2 h se trató la disolución con disolución de cloruro de amonio acuosa saturada. Se extrajo el producto en acetato de etilo (x3) y volvió a extraerse éste con agua y salmuera saturada. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron ($MgSO_4$), se filtraron y se concentraron a vacío para dar el compuesto del título (0,43 g, cuant.).

Etapa 4: Carbamimidotioato de (E)-2-(2-(3-bromofenil)-6,6-dimetil-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-iliden)etilo

Se suspendió 2-(3-bromofenil)-6,6-dimetil-4-vinil-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofen-4-ol (0,39 g, 1,0 mmol) en ácido acético (2,0 ml). Se añadió tiourea (83 mg, 1,0 mmol) y se agitó la reacción a $25^\circ C$ durante 18 h. Se diluyó la mezcla

con dietil éter y éter de petróleo produciendo un precipitado sólido. Se filtró el sólido, se lavó con dietil éter adicional y se secó a vacío para dar el compuesto del título como la sal de acetato (0,3 g, 60%).

Etapa 5: 2-(3-Bromofenil)-6,6-dimetil-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-amina

5 Se suspendió carbamidato de (E)-2-(2-(3-bromofenil)-6,6-dimetil-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-iliden)etilo (0,31 g, 0,65 mmol) en HCl conc. (ac.) (10 ml) e iso-propanol (10 ml) y se sometió a reflujo durante 2 h. Se añadieron porciones adicionales de iso-propanol (5 ml) y HCl conc. (ac.) (15 ml) y se sometió a reflujo la mezcla 18 h adicionales. Se enfrió la mezcla en un baño de hielo y después se neutralizó con disolución de NaOH 2 M acuosa. La fase acuosa se extrajo después con diclorometano (x3). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron (MgSO₄) y se concentraron a vacío para dar el compuesto del título (0,131 g, 48%).

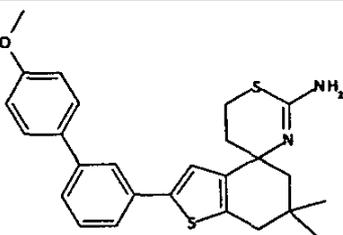
10 Etapa 6: 2-(3-Bromofenil)-6,6-dimetil-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-ilcarbamato de di-terc-butilo

15 Se agitaron 2-(3-bromofenil)-6,6-dimetil-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-amina (0,13 g, 0,32 mmol), dicarbonato de di-terc-butilo (0,27 g, 1,2 mmol) y dimetilaminopiridina (76 mg, 0,62 mmol) en diclorometano (5 ml) a 25°C durante la noche. La mezcla de reacción se concentró a vacío. Se purificó el residuo en bruto sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 0-50% de acetato de etilo en éter de petróleo 40-60 para producir el compuesto del título como un sólido amarillo (0,125 g, 72%).

Etapa 7: 2-(3'-Metoxifenil-3-il)-6,6-dimetil-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-amina, sal de formiato

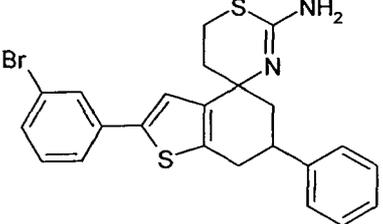
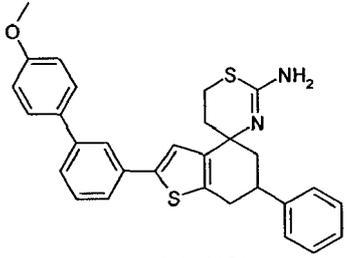
20 Se disolvió 2-(3-bromofenil)-6,6-dimetil-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-ilcarbamato de di-terc-butilo (60 mg, 0,096 mmol) en DMF (1 ml) y Cs₂CO₃ acuoso (0,1 ml, 3,7 M, 0,37 mmol). Se añadió después ácido 4-metoxifenilborónico (0,0162 g, 0,10 mmol) y se degasificó la disolución bajo una corriente de nitrógeno durante 10 min. Se añadió Pd(dppf)Cl₂ (8 mg, 0,0096 mmol) y se calentó la reacción durante 2 h a 90°C. Se enfrió la reacción después y se concentró a vacío. Se trató el residuo en bruto con ácido trifluoroacético (2 ml) y se agitó durante 18 h a temperatura ambiente. Se concentró la mezcla a vacío para dejar un residuo que se purificó usando HPLC preparativa para dar el compuesto del título como la sal de formiato como una goma beis (8 mg, 19%).¹H-RMN δ (ppm)(CHCl₃-d): 8,49 (1 H, s), 7,81 (1 H, s), 7,60 (1 H, d, J = 7,61 Hz), 7,53 (1 H, d, J = 7,71 Hz), 7,52-7,39 (2 H, m), 7,29-7,25 (2 H, m), 7,22 (1 H, t, J = 2,02 Hz), 6,99 (1 H, dd, J = 8,21, 2,53 Hz), 3,95 (3 H, s), 3,40 (1 H, dd, J = 12,04, 4,06 Hz), 3,23 (1 H, dt, J = 12,47, 4,34 Hz), 2,81 (1 H, d, J = 17 Hz), 2,68 (1 H, d, J = 16,82 Hz), 2,40-2,30 (1H, m), 2,21 (1 H, dt, J = 14,11, 4,37 Hz), 2,10 (1 H, d, J = 14,4 Hz), 1,76 (1 H, d, J = 14,9 Hz), 1,23 (3 H, s), 1,19 (3 H, s). No se observaron picos de NH₂. CLEM (método b) Tr 2,72 (min) m/z 449 (MH⁺).

Se prepararon de manera similar usando el método 4, partiendo de diferentes derivados de éster ácido o borónico:

Estructura	MH ⁺	Tr de HPLC	RMN
 <p>42 sal de formiato</p>	449	2,71 ^b	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,41 (1 H, s), 7,72 (1 H, s), 7,60-7,52 (2 H, m), 7,52-7,35 (3 H, m), 7,21 (1 H, s), 7,05-6,97 (2 H, m), 3,87 (3 H, s), 3,34 (1 H, td, J = 12,08, 3,99 Hz), 3,16 (1 H, dt, J = 12,51, 4,46 Hz), 2,75 (1 H, d, J = 16,6 Hz), 2,59 (1 H, d, J = 16,6 Hz), 2,36-2,26 (1 H, m), 2,16 (1 H, dt, J = 14,17, 4,35 Hz), 2,03 (1 H, d, J = 15,4 Hz), 1,70 (1 H, d, J = 14,1 Hz), 1,16 (3 H, s), 1,13 (3 H, s). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido beis)

^{a+} Ta se refiere a método de HPLC A a F

Se prepararon de manera similar usando el método 4 partiendo de 5-fenilciclohexano-1,3-diona y diferentes derivados de éster o ácido borónico:

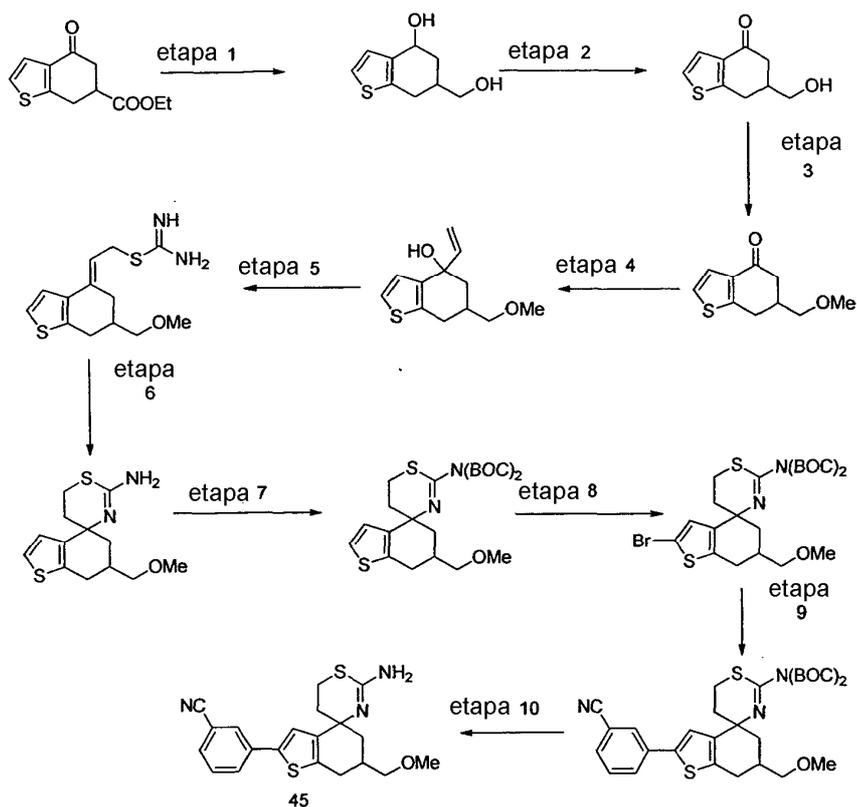
Estructura	MH ⁺	Tr de HPLC	RMN
 <p>43 sal de formiato</p>	469	2,69 ^b	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,44 (1 H, s), 7,72-7,70 (1 H, m), 7,47 (1 H, d, <i>J</i> = 7,86 Hz), 7,41-7,16 (8 H, m, solapándose con el pico de disolvente), 3,57 (1 H, t, <i>J</i> = 12,71 Hz), 3,40 (1 H, td, <i>J</i> = 12,72, 3,70 Hz), 3,27 (1 H, dd, <i>J</i> = 16,61, 4,79 Hz), 3,13 (1 H, dt, <i>J</i> = 12,63, 4,15 Hz), 2,87 (1 H, dd, <i>J</i> = 16,61, 11,56 Hz), 2,47 (1 H, td, <i>J</i> = 13,48, 4,22 Hz), 2,34 (1 H, d, <i>J</i> = 13,05 Hz), 2,22 (1 H, dt, <i>J</i> = 14,23, 3,87 Hz), 1,93 (1 H, t, <i>J</i> = 13,00 Hz). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanco)
 <p>44 sal de HCl</p>	497	3,32 ^e	¹ H-RMN δ (ppm)(DMSO-d ₆): 10,60 (1 H, s), 7,95 (2 H, d, <i>J</i> = 11,94 Hz), 7,75 (2 H, d, <i>J</i> = 8,53 Hz), 7,61 (2 H, dd, <i>J</i> = 7,51, 4,78 Hz), 7,53 (1 H, t, <i>J</i> = 7,65 Hz), 7,43 (4 H, d, <i>J</i> = 4,34 Hz), 7,39-7,29 (1 H, m), 7,11 (2 H, d, <i>J</i> = 8,53 Hz), 3,87 (3 H, s), 3,62-3,51 (1 H, m), 3,47-3,30 (1 H, m, por debajo del pico de agua), 3,26-3,18 (1 H, m), 3,01-2,91 (1 H, sm), 2,78-2,66 (1 H, m), 2,42-2,37 (3 H, dd, <i>J</i> = 26,26, 13,32 Hz), 2,22-2,14 (1 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido beis)

^{a-1} Ta se refiere a método de HPLC A a F

Para los ejemplos 43 y 44, en la etapa 5 del método 4, solo se aisló un diastereoisómero como una mezcla racémica.

5 Ejemplo 45: 3-(2'-Amino-6-(metoximetil)-5',6,7-tetrahydro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2-il)benzonitrilo, sal de clorhidrato

Método 5



Etapa 1: 6-(Hidroximetil)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofen-4-ol

Se disolvió 4-oxo-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofen-6-carboxilato de etilo (1,5 g, 6,7 mmol) en EtOH (20 ml). Se añadió NaOH 1 M (ac.) (7 ml) en porciones y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 1 h 45 min. Se concentró la mezcla a vacío y se trató el residuo con HCl 2 M (ac.). Se extrajo el producto en acetato de etilo (x3) y volvió a extraerse éste con agua y salmuera saturada. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron (MgSO₄) y se concentraron a vacío para producir ácido 4-oxo-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofen-6-carboxílico en bruto (1,27 g, 100%). Se disolvió éste en THF (15 ml) y se añadió BH₃ DMS (4,8 ml, 2 M en THF, 8,7 mmol) gota a gota a 0°C. Se calentó la mezcla hasta temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. Se añadió metanol y se concentró la mezcla de reacción a vacío. El residuo en bruto se disolvió en acetato de etilo y se lavó con disolución de NaOH 1 M (ac.), agua y salmuera. Se secó el extracto orgánico (MgSO₄) y se concentró a vacío para dar el compuesto del título (1,2 g, cuant.).

Etapa 2: 6-(Hidroximetil)-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona

Se disolvió 6-(hidroximetil)-4,5,6,7-tetrahidrobenzo[b]tiofen-4-ol (1,2 g, 6,7 mmol) en 1,4-dioxano (30 ml) y se añadió dióxido de manganeso (5,8 g, 67 mmol) en porciones a temperatura ambiente. Se agitó la mezcla durante 1 h 40 min. La disolución se filtró a través de Celite, se lavó con 1,4-dioxano y se concentró a vacío. Se purificó el residuo en bruto sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 40-60% de acetato de etilo en éter de petróleo 40-60 para producir el compuesto del título como un sólido amarillo (0,745 g, 62%).

Etapa 3: 6-(Metoximetil)benzo[b]tiofen-4(7H)-ona

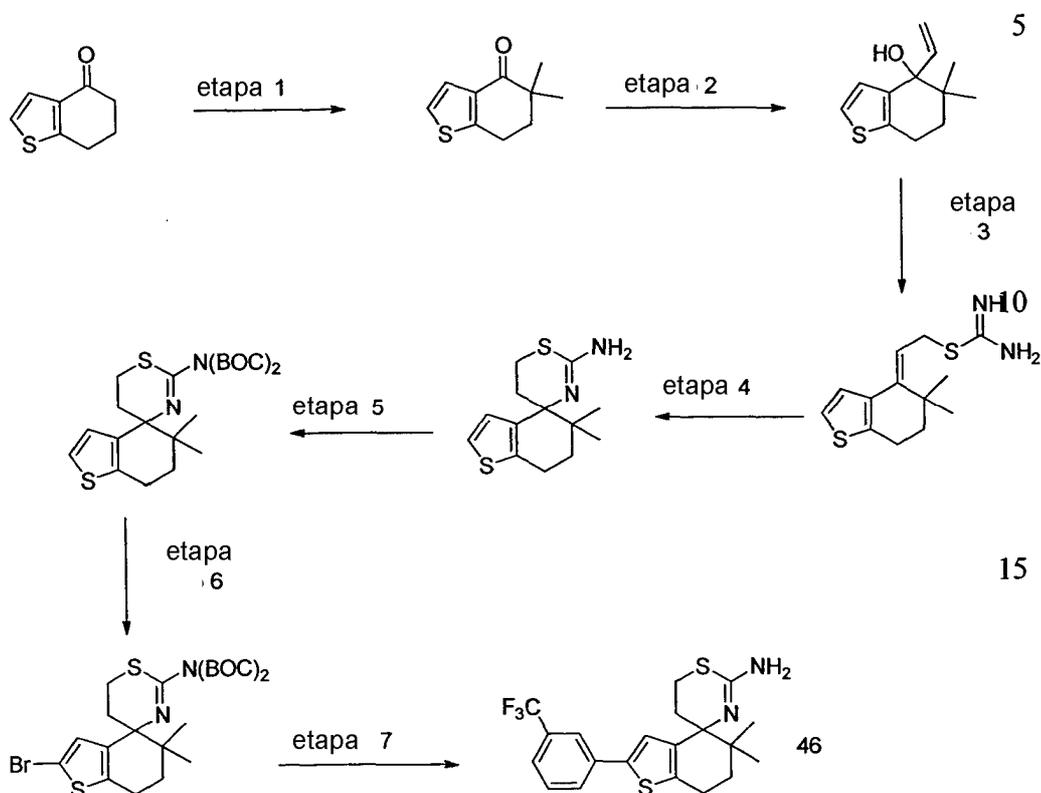
Se lavó hidruro de sodio (dispersión al 60% en aceite mineral, 0,2 g, 5 mmol) con hexano y después se suspendió en THF (6 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno a 0°C. Se disolvió 6-(hidroximetil)-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona (0,745 g, 4,1 mmol) en THF (4 ml) y se añadió gota a gota a la suspensión de hidruro de sodio. Después de 10 min se añadió yoduro de metilo (0,71 g, 0,31 ml, 5 mmol) y se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se agitó durante 3 h. Se añadieron agua y disolución de salmuera saturada (2 ml, 1:1) y se extrajo el producto en diclorometano (x3). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron (MgSO₄) y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo en bruto sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 0-50% de acetato de etilo en iso-hexano para dar el compuesto del título (0,109 g, 34%).

Etapas 4-10: 3-(2'-Amino-6-(metoximetil)-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2-il)benzonitrilo, sal de clorhidrato

Se sintetizó 3-(2'-amino-6-(metoximetil)-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2-il)benzonitrilo a partir de 6-(metoximetil)benzo[b]tiofen-4(7H)-ona siguiendo los procedimientos descritos en el método 1, etapas 1-7 para producir el compuesto del título como la sal de HCl (5,7 mg). En la etapa 6, solo se aisló un diaestereoisómero como una mezcla racémica como un sólido amarillo. ¹H-RMN δ (ppm)(CH₃OH-d₄): 8,06 (1 H, s), 7,97 (1 H, d, J = 7,94 Hz), 7,74-7,60 (3 H, m), 3,63 (1 H, dd, J = 13,21, 3,89 Hz), 3,59-3,49 (2 H, m), 3,46 (3 H, s), 3,44-3,39 (1 H, m, solapándose con el pico de disolvente), 3,14 (1 H, dd, J = 16,75, 4,63 Hz), 2,81-2,59 (2 H, m), 2,39 (3 H, t, J = 13,47 Hz), 1,68 (1 H, t, J = 13,25 Hz). No se observaron picos de NH₂. CLEM (método d) Tr 3,13 (min) m/z 384 (MH⁺).

Ejemplo 46: 5,5-Dimetil-2-(3-(trifluorometil)fenil)-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-amina

Método 6



5 Etapa 1: 5,5-Dimetil-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona

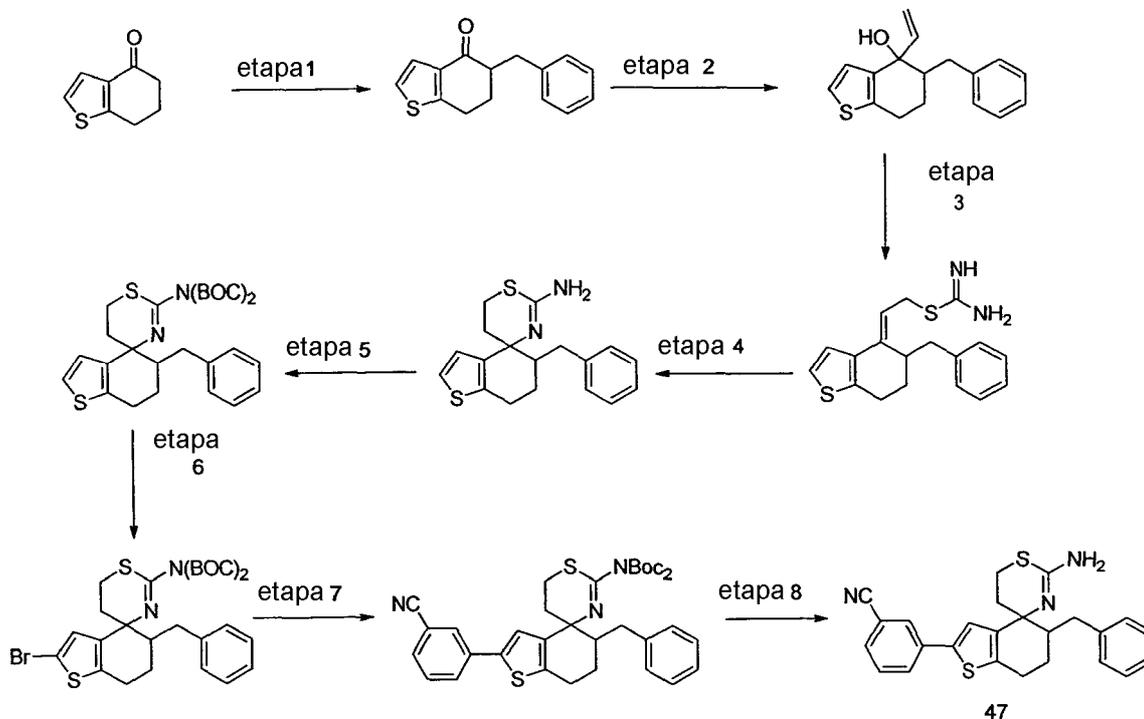
Se añadió 6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona (1,0 g, 6,6 mmol) en tolueno (10 ml) gota a gota a NaH (dispersión al 60% en aceite mineral, 1,32 g, 32,9 mmol) en tolueno (5 ml). Se añadió DMF (5 ml) y se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 1 h. Se enfrió la mezcla hasta 0°C, se añadió yoduro de metilo (4,67 g, 2,1 ml, 32,9 mmol) gota a gota y se sometió a reflujo la disolución durante 3 h. Se enfrió la mezcla y se trató con cuidado con isopropanol. Se extrajo el producto en dietil éter (x3) y volvió a extraerse éste con agua y salmuera saturada. Se secó la disolución de dietil éter (MgSO₄), se filtró y se concentró a vacío. Se purificó el residuo en bruto sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 0-75% de acetato de etilo en éter de petróleo 40-60 para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (0,375 g, 32%).

15 Etapas 2-7: 5,5-Dimetil-2-(3-(trifluorometil)fenil)-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-amina

Se sintetizó 5,5-dimetil-2-(3-(trifluorometil)fenil)-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2'-amina a partir de 5,5-dimetil-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona siguiendo los procedimientos descritos en el método 1, etapas 1-7 para dar el compuesto del título como una goma beis (3,7 mg). ¹H-RMN δ (ppm)(CHCl₃-d): 7,75 (1 H, s), 7,73-7,67 (1 H, m), 7,50-7,42 (2 H, m), 7,08 (1 H, s), 3,15-3,06 (1 H, m), 3,00-2,78 (3 H, m), 2,11-1,99 (2 H, m), 1,98-1,87 (1 H, m), 1,72 (1 H, ddd, J = 13,93, 7,00, 2,17 Hz), 1,08 (3 H, s), 0,99 (3 H, s). No se observaron picos de NH₂. CLEM (método e) Tr 3,04 (min) m/z 411 (MH⁺).

Ejemplo 47: 3-(2'-Amino-5-bencil-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2-il)benzonitrilo

Método 7



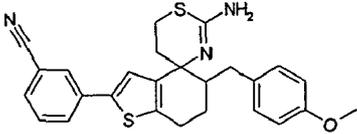
Etapa 1: 5-Bencil-6,7-dihidrobencob[ti]ofofen-4(5H)-ona

- 5 Se añadió 6,7-dihidrobencob[ti]ofofen-4(5H)-ona (0,5 g, 3,3 mmol) en THF (7,5 ml) gota a gota a LDA (2,2 ml, 3,67 mmol) bajo una atmósfera de nitrógeno a -78°C. Se calentó la mezcla hasta -30°C durante 10 min antes de volverse a enfriar hasta -78°C. Después se añadió bromuro de bencilo (1,17 ml, 9,9 mmol) gota a gota y se calentó la mezcla gradualmente hasta temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. Se añadió disolución de cloruro de amonio saturada a la mezcla de reacción y se extrajo el producto en acetato de etilo (x3). Se combinaron los extractos orgánicos combinados, se secaron (MgSO₄) y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo en bruto sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 0-50% de acetato de etilo en iso-hexano para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (0,55 g, 62%).

Etapas 2-8: 3-(2'-Amino-5-bencil-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2-il)benzonitrilo

- 15 Se sintetizó 3-(2'-amino-5-bencil-5',6,6',7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-[1,3]tiazin]-2-il)benzonitrilo a partir de 5-bencil-6,7-dihidrobencob[ti]ofofen-4(5H)-ona siguiendo los procedimientos descritos en el método 1, etapas 1-7 para producir el compuesto del título (60 mg). En la etapa 4, solo se aisló un diaestereoisómero como una mezcla racémica como una espuma amarilla. ¹H-RMN δ (ppm)(CHCl₃-d): 7,79 (1 H, s), 7,72 (1 H, d, J = 7,88 Hz), 7,51 (1 H, d, J = 7,70 Hz), 7,44 (1 H, t, J = 7,92 Hz), 7,32-7,15 (5 H, m, solapándose con el pico de disolvente), 7,11 (1 H, s), 3,23 (1 H, t, J = 12,62 Hz), 3,01 (2 H, d, J = 11,07 Hz), 2,86 (1 H, dd, J = 17,67, 6,12 Hz), 2,81-2,68 (1 H, m), 2,29-2,14 (2 H, m), 2,10 (1 H, d, J = 13,69 Hz), 2,02-1,81 (3 H, m). No se observaron picos de NH₂. HPLC (método a) Tr 8,19 (min) m/z 430 (MH⁺).

Se preparó de forma similar usando el método 7 y 1-bromometil-4-metoxi-benceno en la primera etapa:

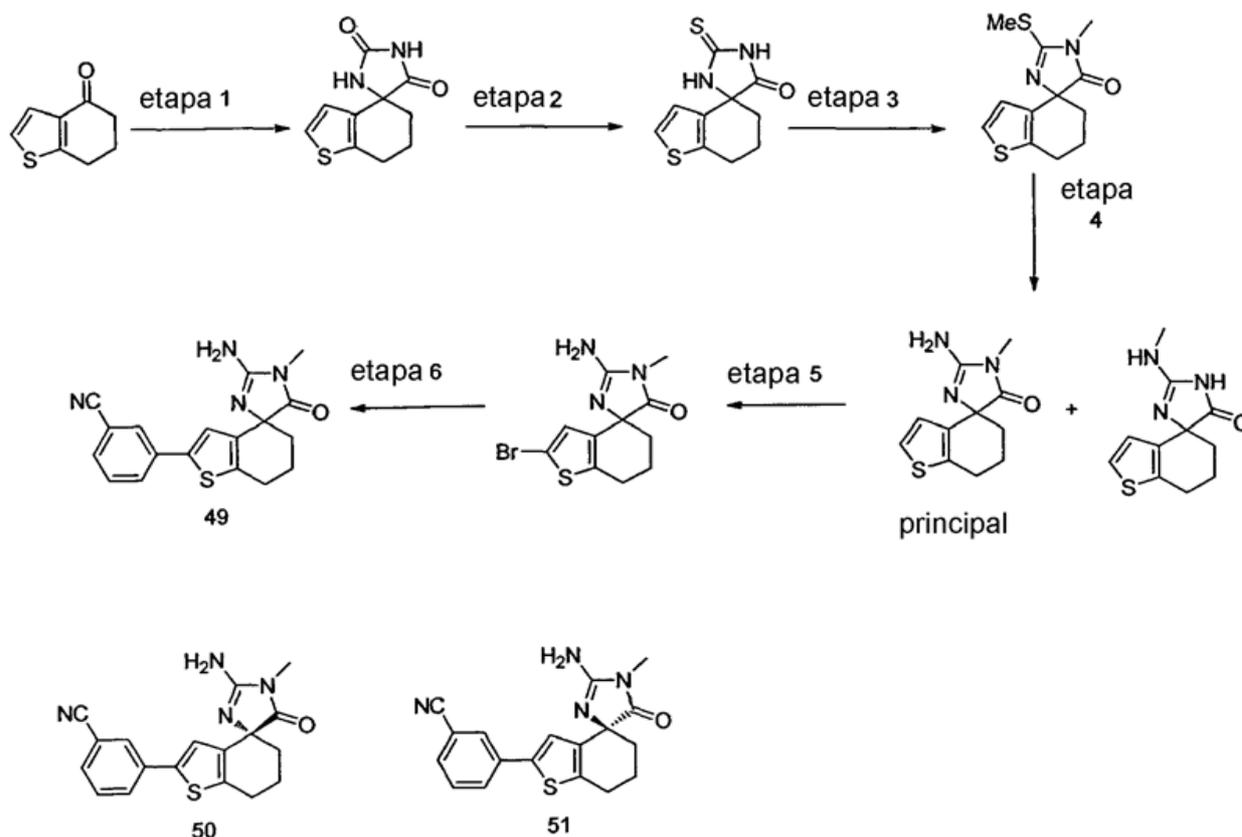
Estructura	MH ⁺	Tr de HPLC	RMN
 <p>48 sal de formiato</p>	460	8,17 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,63 (1 H, s), 7,84-7,70 (2 H, m), 7,56-7,42 (2 H, m), 7,31-7,24 (2 H, m, solapándose con el pico de disolvente), 7,18-7,07 (1 H, m), 6,86 (2 H, d, J = 7,95 Hz), 3,80 (3 H, s), 3,32 (1 H, t, J = 12,63 Hz), 3,04 (2 H, t, J = 10,68 Hz), 2,88-2,70 (2 H, m), 2,49 (1 H, t, J = 12,18 Hz), 2,36-2,12 (3 H, m), 2,01 (1 H, d, J = 13,51 Hz), 1,78-1,64 (1 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Espuma blanca)

^a Ta se refiere a método de HPLC A a F

Para el ejemplo 48, en la etapa 4 del método 7, solo se aisló un diaestereoisómero como una mezcla racémica.

Preparación de 2'-amino-1'-metil-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazo]-5'(1'H)-ona

5 Método 8:



Etapa 1: 6,7-Dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazolidin]-2',5'-diona

10 Se añadió EtOH acuoso al 50% (35 ml) a 6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona (1,0 g, 6,5 mmol), KCN (0,85 g, 13 mmol) y (NH₄)₂CO₃ (5,36 g, 55 mmol) en un tubo de reacción largo. Se selló el tubo y se calentó a 80°C durante 24 h. Se enfrió la mezcla y se vertió en hielo-agua (100 ml). Se acidificó la disolución usando HCl conc. ac. y se formó un precipitado sólido. Se recogió el precipitado por filtración, se lavó con agua y se secó a vacío para dar el compuesto del título (1,33 g, 91%).

Etapa 2: 2'-Tioxo-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazolidin]-5'-ona

15 Se suspendieron 6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazolidin]-2',5'-diona (0,5 g, 2,25 mmol) y 2,4-disulfuro de 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano (reactivo de Lawesson) (0,91 g, 2,25 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml).

La mezcla se calentó por irradiación con microondas a 120°C durante 30 min. Se concentró la disolución a vacío y el residuo en bruto se purificó sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 20-100% de acetato de etilo en éter de petróleo 40-60. Se purificó adicionalmente el material aislado sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 2-5% de metanol en diclorometano para dar el compuesto del título como un sólido incoloro (0,54 g, 100%).

Etapa 3: 1'-Metil-2'-(metiltio)-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-5'(1'H)-ona

Se disolvió 2'-tioxo-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-5'-ona (0,192 g, 0,86 mmol) en metanol (16 ml). Se añadieron yoduro de metilo (1,83 g, 0,8 ml, 12,9 mmol) y NaOH (ac.) (3,22 ml, 0,6 M, 1,93 mmol) y la mezcla se calentó por irradiación con microondas a 60°C durante 10 min. Se concentró la disolución a vacío y se purificó el residuo en bruto sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 20-100% de acetato de etilo en iso-hexano para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (0,26 g, 100%).

Etapa 4: 2'-Amino-1'-metil-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-5'(1'H)-ona

Se calentaron 1'-metil-2'-(metiltio)-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-5'(1'H)-ona (1,5 g, 5,63 mmol), yoduro de amonio (4,89 g, 33,78 mmol) y amonio 7 N en metanol (20 ml) a 90°C durante 12 h. Se evaporó el disolvente a presión reducida y se repartió el residuo entre agua y diclorometano. Se combinaron los extractos de diclorometano, se secaron sobre sulfato de magnesio y se evaporaron a presión reducida para dar un aceite. Éste consistía en el compuesto del título como componente principal y su regioisómero minoritario en una proporción 2:1. Se cargo el aceite en un cartucho Biotage SNAP y se eluyó con diclorometano-diclorometano/amoniaco 7 N en metanol (9:1). Se combinaron las fracciones apropiadas y se evaporaron a presión reducida para dar 2'-amino-1'-metil-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-5'(1'H)-ona como una espuma (800 mg, 60%).

Etapa 5: 2'-Amino-2-bromo-1'-metil-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-5'(1'H)-ona

Se disolvió 2'-amino-1'-metil-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-5'(1'H)-ona (75 mg, 0,32 mmol) en ácido acético (0,5 ml) y agua (0,5 ml). Se enfrió la mezcla hasta 0°C y se añadió bromo (51 mg, 0,016 ml, 0,32 mmol) gota a gota. Después de 20 min a 0°C se calentó la reacción hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 h. Se eliminó el disolvente a vacío para dar un aceite amarillo que se solidificó en reposo. Se suspendió el residuo en diclorometano y se trató con una disolución NH₃ 7 N/MeOH produciendo un precipitado que se eliminó por filtración. Se concentraron las aguas madre orgánicas a vacío y se purificó el residuo en bruto sobre gel de sílice usando una elución en gradiente del 2-10% de NH₃ 7 N/metanol en diclorometano para dar el compuesto del título como la sal de formiato como una espuma de color amarillo pálido (0,285 g, 95%). ¹H-RMN δ (ppm)(DMSO-d₆): 8,22 (1 H, s), 6,71 (1 H, s), 3,01-2,95 (3 H, m), 2,77-2,65 (2 H, m), 2,11-2,04 (1 H, m), 1,87 (2 H, t, J = 9,50 Hz), 1,76-1,68 (1 H, m). No se observaron picos de NH₂. HPLC (método c) Tr 8,77 (min) m/z 314 (MH⁺).

Etapa 6: 3-(2'-Amino-1'-metil-5'-oxo-1',5',6,7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-2-il)benzonitrilo

Se suspendieron 2'-amino-2-bromo-1'-metil-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-5'(1'H)-ona (0,127 g, 0,4 mmol), ácido 3-cianofenilborónico (59 mg, 0,4 mmol) y Pd(dppf)Cl₂ (33 mg, 0,04 mmol), en DMF (1,5 ml). Se añadió Cs₂CO₃ (0,35 ml, disolución ac. 3,7 M, 1,29 mmol) y se degasificó la disolución bajo una corriente de nitrógeno durante 10 min. La mezcla se calentó a 90°C durante 2 h. Se enfrió la reacción y se eliminó disolvente a vacío. Se purificó el residuo en bruto usando HPLC preparativa para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (14 mg, 11%). ¹H-RMN δ (ppm)(DMSO-d₆): 8,11 (1 H, s), 7,86 (1 H, d, J = 8,18 Hz), 7,71 (1 H, d, J = 7,72 Hz), 7,57 (1 H, t, J = 7,85 Hz), 7,14 (1 H, s), 6,41 (2 H, s a), 3,02 (3 H, s), 2,84-2,76 (2 H, m), 2,11 (1 H, d, J = 13,56 Hz), 1,91 (2 H, s), 1,70 (1 H, s). HPLC (método c) Tr 9,2 (min) m/z 337 (MH⁺).

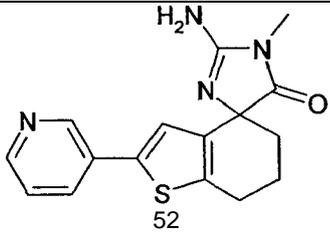
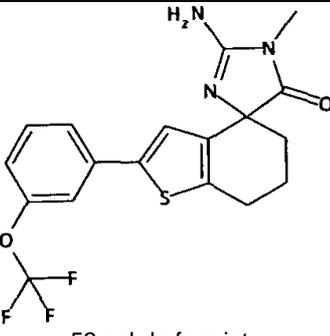
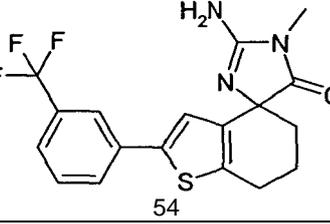
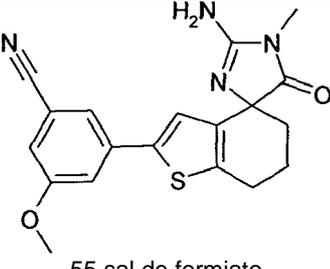
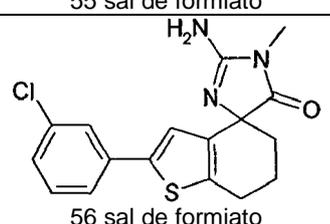
Ejemplos 50 y 51: (R)-3-(2'-Amino-1'-metil-5'-oxo-1',5',6,7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-2-il)benzonitrilo (3,7 mg) y (S)-3-(2'-amino-1'-metil-5'-oxo-1',5',6,7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-2-il)benzonitrilo.

El ejemplo 49 se purificó por HPLC preparativa quiral para dar el ejemplo 50, (R)-3-(2'-amino-1'-metil-5'-oxo-1',5',6,7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-2-il)benzonitrilo como un sólido blanquecino (3,7 mg) y el ejemplo 51, (S)-3-(2'-amino-1'-metil-5'-oxo-1',5',6,7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-2-il)benzonitrilo como un sólido blanquecino (3,3 mg). Se asignaron las configuraciones de manera arbitraria.

Ejemplo 50: Enantiómero (R): ¹H-RMN δ (ppm)(CH₃OH-d₄): 6,38 (1 H, s), 6,30 (1 H, dt, J = 7,89, 1,53 Hz), 6,08-5,95 (2 H, m), 5,50 (1 H, s), 1,61 (3 H, s), 1,39-1,31 (2 H, m), 0,78-0,70 (1 H, m), 0,56-0,47 (2 H, m), 0,38-0,30 (1 H, m). No se observaron picos de NH₂. HPLC (método a) Tr 7,56 (min) m/z 337 (MH⁺).

Ejemplo 51: Enantiómero (S): $^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)($\text{CH}_3\text{OH-d}^4$): 6,40-6,36 (1 H, m), 6,30 (1 H, dt, $J = 7,86, 1,51$ Hz), 6,10-5,97 (2 H, m), 5,50 (1 H, s), 1,61 (3 H, s), 1,38-1,31 (2 H, m), 0,78-0,71 (1 H, m), 0,56-0,47 (2 H, m), 0,38-0,32 (1 H, m). No se observaron picos de NH_2 . CLEM (método e) Tr 2,67 (min) m/z 337 (MH^+).

Se prepararon de forma similar usando el método 8 con diferentes derivados de éster o ácido borónico:

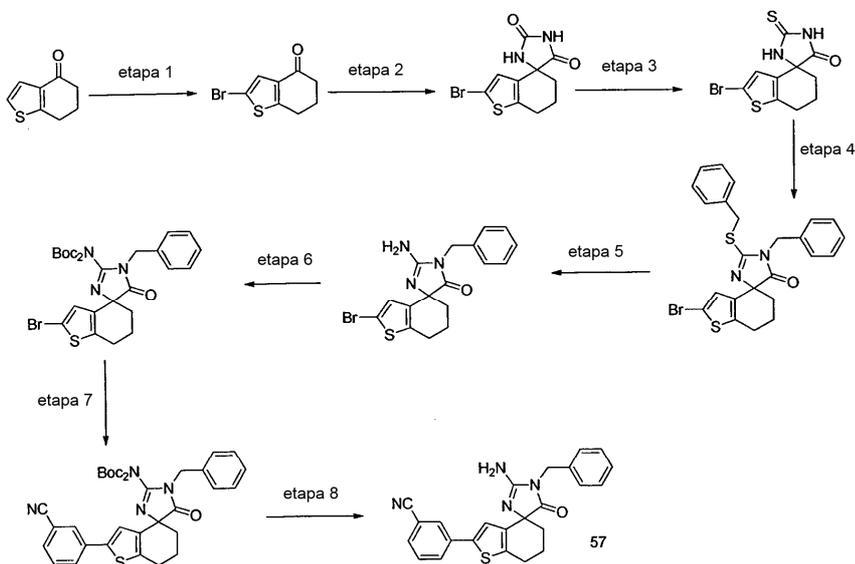
Estructura	MH^+	Tr de HPLC	RMN
 <p>52</p>	313	6,69 ^a	$^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)(DMSO-d^6): 8,80 (1 H, d, $J = 2,38$ Hz), 8,46 (1 H, dd, $J = 4,76, 1,51$ Hz), 7,96 (1 H, dt, $J = 8,04, 1,93$ Hz), 7,40 (1 H, dd, $J = 8,02, 4,77$ Hz), 7,06 (1 H, s), 3,01 (3 H, s), 2,88-2,74 (2 H, m), 2,18-2,10 (1 H, m), 1,95-1,84 (2 H, m), 1,77-1,67 (1 H, m). No se observaron picos de NH_2 . (Sólido blanquecino)
 <p>53 sal de formiato</p>	396	10,91 ^a	$^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)($\text{CHCl}_3\text{-d}$): 8,50 (1 H, s), 7,45-7,31 (3 H, m), 7,12-7,09 (1 H, m), 6,80 (1 H, s), 3,28-3,19 (3 H, m), 2,93-2,82 (2 H, m), 2,38-2,28 (1 H, m), 2,25-2,14 (1 H, m), 2,06-1,95 (2 H, m). No se observaron picos de NH_2 . (Sólido blanquecino)
 <p>54</p>	380	2,4 ^b	$^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)(DMSO-d^6): 7,83 (2 H, s), 7,65-7,50 (2 H, m), 7,05 (1 H, s), 6,39 (2 H, s), 2,99 (3 H, s), 2,83-2,75 (2 H, m), 2,10 (1 H, s), 1,95-1,75 (2 H, m), 1,66 (1 H, d, $J = 9,74$ Hz). (Sólido blanquecino)
 <p>55 sal de formiato</p>	367	2,85 ^b	$^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)(DMSO-d^6): 8,18 (1 H, s), 7,64 (1 H, t, $J = 1,45$ Hz), 7,33-7,30 (2 H, m), 7,17 (1 H, s), 3,83 (3 H, s), 3,01 (3 H, s), 2,86-2,71 (2 H, m), 2,14-2,03 (1 H, m), 1,87 (2 H, t, $J = 9,60$ Hz), 1,71 (1 H, t, $J = 8,95$ Hz). No se observaron picos de NH_2 . (Sólido blanquecino)
 <p>56 sal de formiato</p>	346	2,35 ^b	$^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)(DMSO-d^6): 8,18 (1 H, s), 7,64 (1 H, t, $J = 1,89$ Hz), 7,48 (1 H, dt, $J = 7,79, 1,37$ Hz), 7,37 (1 H, t, $J = 9,2$ Hz), 7,30 (1 H, ddd, $J = 7,96, 2,05, 1,06$ Hz), 7,07 (1 H, s), 3,00 (3 H, s), 2,81-2,74 (2 H, m), 2,09 (1 H, s), 1,88 (2 H, d, $J = 9,66$ Hz), 1,76-1,65 (1 H, m). No se observaron picos de NH_2 . (Sólido blanquecino)

5

^{a-1} Ta se refiere a método de HPLC A a F

Ejemplo 57: 3-(2'-Amino-1'-bencil-5'-oxo-1',5',6,7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-2-il)benzonitrilo

Método 9



5 Etapa 1: 2-Bromo-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona

Se disolvió 6,7-dihidro-4-benzo[B]tiofenona (1,5 g, 9,86 mmol) en ácido acético (10 ml) y agua (10 ml). Se enfrió la mezcla hasta 0°C y se añadió bromo (0,51 ml, 9,86 mmol) gota a gota. Después de 20 min a 0°C se calentó la reacción hasta temperatura ambiente y se agitó durante 18 h. La mezcla de reacción se enfrió en hielo y después se trató con disolución de hidróxido de sodio 1 M hasta que la mezcla fue básica. Se recogió un precipitado formado mediante filtración, se lavó con agua y se secó en un horno de vacío a 50°C para dar el compuesto del título como un sólido gris (2,1 g, 96%).

Etapa 2: 2-Bromo-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazolidin]-2',5'-diona

Se añadió EtOH al 50% acuoso (20 ml) a 2-bromo-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona (1,0 g, 4,5 mmol), KCN (0,586 g, 9 mmol) y $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ (3,68 g, 38,2 mmol) en un tubo de reacción largo. Se selló el tubo y se calentó a 80°C durante 18 h. Se enfrió la mezcla y se vertió en hielo-agua (100 ml). Se acidificó la disolución usando HCl conc. acuoso y se formó un precipitado sólido. Se recogió el precipitado por filtración, se lavó con agua y se secó a vacío para dar el compuesto del título (1,1 g, 81%).

Etapa 3: 2-Bromo-2'-tioxo-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazolidin]-5'-ona

Se suspendieron 2-bromo-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazolidin]-2',5'-diona (0,5 g, 1,67 mmol) y 2,4-disulfuro de 2,4-bis(4-metoxifenil)-1,3,2,4-ditiadifosfetano (reactivo de Lawesson) (0,371 g, 0,91 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml). La mezcla se calentó por irradiación con microondas a 110°C durante 2x30 min. Se concentró la disolución a vacío y se purificó el residuo en bruto sobre gel de sílice usando acetato de etilo en éter de petróleo 40-60 (1:1) para dar el compuesto del título como un sólido incoloro (0,28 g, 53%).

Etapa 4: 1'-Bencil-2'-(benciltio)-2-bromo-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-5'(1'H)-ona

Se disolvió 2-bromo-2'-tioxo-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazolidin]-5'-ona (0,285 g, 0,9 mmol) en THF (20 ml) y se enfrió hasta 0°C en un baño de hielo. Se añadió hidruro de sodio (dispersión al 50% en aceite, 26 mg, 1,08 mmol) y se agitó la mezcla durante 15 min. Se añadió bromuro de bencilo (0,13 ml, 1,08 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h. Se enfrió la mezcla hasta 0°C otra vez y se añadió una porción adicional de hidruro de sodio (dispersión al 50% en aceite, 26 mg, 1,08 mmol). Se agitó la mezcla durante 15 min, se añadió bromuro de bencilo (0,13 ml, 1,08 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 18 h. Se evaporó el disolvente a presión reducida. Se disolvió el residuo en agua y se extrajo con diclorometano (x3). Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron (MgSO_4) y se concentraron a vacío. El

residuo en bruto se purificó sobre gel de sílice usando acetato de etilo en iso-hexano (1:1) para dar el compuesto del título como un aceite incoloro (0,25 g, 56%).

Etapa 5: 2'-Amino-1'-bencil-2-bromo-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-5'(1'H)-ona

5 Se suspendieron 1'-bencil-2'-(benciltio)-2-bromo-6,7-dihidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-5'(1'H)-ona (0,25 g, 0,5 mmol) y yoduro de amonio (0,43 g, 3 mmol) en disolución de NH₃ 7 N/metanol (10 ml). La mezcla se calentó a 90°C durante 18 h. Se concentró la disolución a vacío y se repartió el residuo en bruto entre agua y diclorometano. Se extrajo el producto en diclorometano (x3), se combinaron los extractos orgánicos, se secaron (MgSO₄) y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo en bruto sobre gel de sílice usando NH₃ 7 N/metanol en diclorometano (1:9) para dar el compuesto del título como una espuma (80 mg, 41%).

10 Etapa 6: 1'-Bencil-2-bromo-5'-oxo-1',5',6,7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-2'-iliminodicarbonato de di-terc-butilo

El compuesto del título se preparó según el método 1, etapa 7. Se usó sin purificación adicional.

Etapa 7: 1'-Bencil-2-(3-cianofenil)-5'-oxo-1',5',6,7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-2'-ilcarbamato de di-terc-butilo

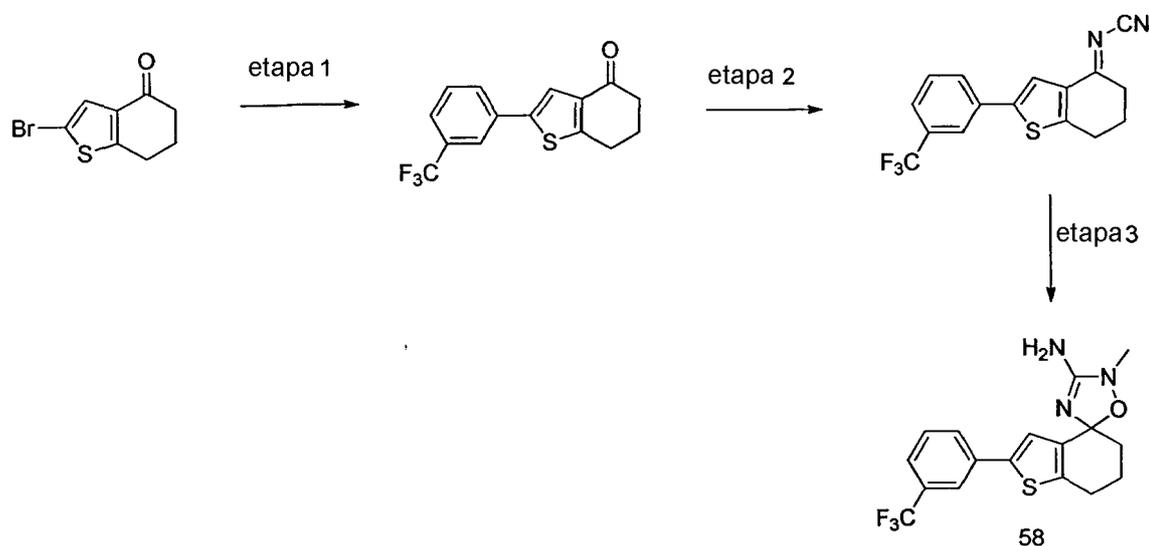
15 Se suspendieron 1'-bencil-2-bromo-5'-oxo-1',5',6,7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-2'-iliminodicarbonato de di-terc-butilo (80 mg, 0,14 mmol), ácido 3-cianofenilborónico (30 mg, 0,2 mmol) y Na₂CO₃ (0,2 ml, disolución ac. 2 M, 0,4 mmol) en 1,4-dioxano (4 ml). La disolución se degasificó bajo una corriente de nitrógeno durante 10 min. Se añadió Pd(dppf)Cl₂ (11 mg, 0,013 mmol) y la mezcla se calentó a 100°C durante 18 h. Se enfrió la reacción y se vertió en agua. Se extrajo el producto con acetato de etilo (x3). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron (MgSO₄) y se concentraron a vacío. El residuo en bruto se usó directamente en la etapa siguiente sin purificación adicional.

Etapa 8: 3-(2'-Amino-1'-bencil-5'-oxo-1',5',6,7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-2-il)benzonitrilo

25 Se agitó 1'-bencil-2-(3-cianofenil)-5'-oxo-1',5',6,7-tetrahidro-5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,4'-imidazol]-2'-ilcarbamato de di-terc-butilo (0,13 mmol) en diclorometano (1 ml) y ácido trifluoroacético (1 ml) durante 18 h a temperatura ambiente. Se evaporó la reacción a vacío para dejar un residuo que se disolvió en diclorometano. Se lavó la fase orgánica con disolución de Na₂CO₃ (ac.) sat. Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron (MgSO₄) y se concentraron a vacío. Se purificó el residuo en bruto usando HPLC preparativa para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino y como sal de formiato (21,4 mg, 38%). ¹H-RMN δ (ppm)(DMSO-d₆): 8,18 (1 H, s), 7,89 (1 H, t, J = 1,72 Hz), 7,75-7,69 (2 H, m), 7,56 (1 H, t, J = 7,83 Hz), 7,40-7,28 (5 H, m), 6,86 (1 H, s), 4,74 (2 H, q, J = 7,38 Hz), 2,82-2,72 (2 H, m), 2,15-2,04 (1 H, m), 1,91 (2 H, d, J = 9,98 Hz), 1,76 (1 H, t, J = 9,53 Hz). HPLC (método a) Tr 7,91 (min) m/z 413 (MH⁺).

Ejemplo 58: 2'-Metil-2-(3-(trifluorometil)fenil)-6,7-dihidro-2'H,5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,5'-[1,2,4]oxadiazol]-3'-amina

Método 10



Etapa 1: 2-(3-(Trifluorometil)fenil)-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona

5 Se suspendieron 2-bromo-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona (0,118 g, 0,48 mmol), ácido 3-trifluorometilborónico (0,137 g, 0,72 mmol) y Cs_2CO_3 (0,313 g, 0,96 mmol) en 1,4-dioxano (5 ml) y agua (0,5 ml). La disolución se degasificó bajo una corriente de nitrógeno durante 10 min. Se añadió $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ (17 mg, 0,024 mmol) y la mezcla se calentó por irradiación con microondas a 110°C durante 30 min. Se enfrió la reacción y se vertió en agua. Se extrajo el producto con diclorometano (x3). Se combinaron las fases orgánicas, se secaron (MgSO_4) y se concentraron a vacío. El residuo en bruto se purificó sobre gel de sílice usando acetato de etilo en iso-hexano (1:3) para dar el compuesto del título como un sólido (93 mg, 65%).

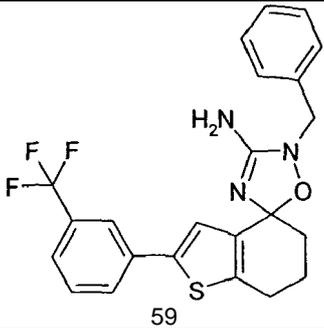
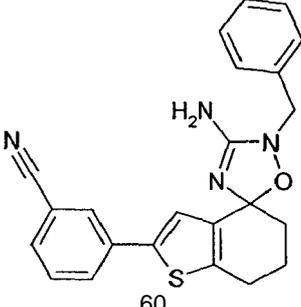
Etapa 2: (E)-N-(2-(3-(Trifluorometil)fenil)-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-iliden)cianamida

10 Se disolvió 2-(3-(trifluorometil)fenil)-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-ona (0,252 g, 0,85 mmol) en diclorometano (2 ml). Se añadió tetracloruro de titanio (1,7 ml, disolución en diclorometano 1,0 M, 1,7 mmol) y se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h. Se añadió después bis-trimetilsililcarbodiimida (0,42 ml, 1,87 mmol) y se agitó la mezcla a temperatura ambiente durante 18 h. Se vertió la mezcla de reacción en hielo/agua y se extrajo el producto con diclorometano. Volvió a extraerse éste con agua y disolución de carbonato de sodio saturada (ac.).
15 Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron (MgSO_4) y se concentraron a vacío para dar el compuesto del título como un sólido de color crema (0,27 g, 99%).

Etapa 3: 2'-Metil-2-(3-(trifluorometil)fenil)-6,7-dihidro-2'H,5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,5'-[1,2,4]oxadiazol]-3'-amina

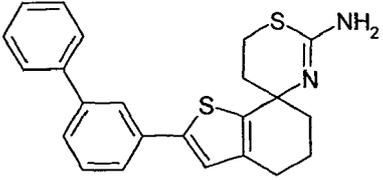
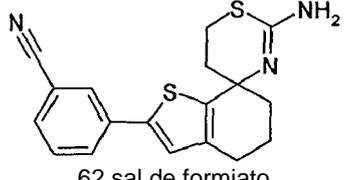
20 A una disolución de clorhidrato de metilhidroxilamina (23 mg, 0,28 mmol) en metanol (2 ml) se le añadió carbonato de potasio (44 mg, 0,32 mmol) seguido por (E)-N-(2-(3-(trifluorometil)fenil)-6,7-dihidrobenzo[b]tiofen-4(5H)-iliden)cianamida (50 mg, 0,16 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 1 h. Se concentró la mezcla a vacío y se repartió el residuo en bruto entre diclorometano y agua. Se extrajo el producto en diclorometano (x3). Se combinaron los extractos orgánicos, se secaron (MgSO_4) y se concentraron a presión reducida. Se purificó el residuo en bruto usando HPLC preparativa para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (34,2 mg, 58%). (Mezcla regioisomérica con 2'-metil-2-(3-(trifluorometil)fenil)-6,7-dihidro-2'H, 5H-espiro[benzo[b]tiofen-4,3'-[1,2,4]oxadiazol]-5'-amina). $^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)(DMSO-d_6): 7,87-7,80 (2 H, m), 7,64-7,58 (2 H, m), 7,34 (1 H, s), 6,12 (2 H, s), 2,94 (3 H, s), 2,80-2,60 (2 H, m), 1,93-1,80 (3 H, m), 1,80-1,69 (1 H, m). HPLC (método a) Tr 8,05 (min) m/z 368 (MH^+).
25

Se preparó de forma similar usando el método 10 y clorhidrato de N-bencilhidroxilamina en la etapa 3:

Estructura	MH^+	Tr de HPLC	RMN
 <p>59</p>	444	8,46 ^a	$^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)($\text{CHCl}_3\text{-d}$): 7,71 (1 H, s), 7,63 (1 H, d, $J = 7,47$ Hz), 7,50-7,40 (4 H, m), 7,38-7,25 (3 H, m, solapándose con el pico de disolvente), 6,88 (1 H, s), 4,44 (2 H, s), 4,17 (2 H, s), 2,84-2,67 (2 H, m), 2,06-1,96 (2 H, m), 1,95-1,87 (1 H, m), 1,86-1,78 (1 H, m). (Sólido blanquecino)
 <p>60</p>	401	8,08 ^a	$^1\text{H-RMN } \delta$ (ppm)($\text{CHCl}_3\text{-d}$): 7,74-7,73 (1 H, m), 7,67 (1 H, dt, $J = 7,87, 1,51$ Hz), 7,54-7,40 (4 H, m), 7,39-7,30 (3 H, m), 6,87 (1 H, s), 4,44 (2 H, s), 4,24 (2 H, s), 2,85-2,67 (2 H, m), 2,05-1,94 (2 H, m), 1,96-1,77 (2 H, m). (Sólido blanquecino)

^aTa se refiere a método de HPLC A a F

30 Se prepararon de forma similar usando el método 1 y partiendo de 5,6-dihidrobenzo[b]tiofen-7(4H)-ona y diversos derivados de éster o ácido borónico:

Estructura	MH ⁺	Tr de HPLC	RMN
 <p>61 sal de formiato</p>	391	8,26 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,58 (1 H, s), 7,83 (1 H, s), 7,72-7,67 (2 H, m), 7,63-7,40 (5 H, m), 7,34 (1 H, s), 7,13 (1 H, s), 3,45-3,37 (1 H, m), 3,27 (1 H, ddd, J = 12,77, 8,67, 3,64 Hz), 2,89 (1 H, dt, J = 16,68, 6,75 Hz), 2,71 (1 H, dt, J = 16,54, 5,66 Hz), 2,53-2,44 (1 H, m), 2,38-2,11 (3 H, m), 1,99 (2 H, t, J = 9,98 Hz). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)
 <p>62 sal de formiato</p>	340	7,59 ^a	¹ H-RMN δ (ppm)(CHCl ₃ -d): 8,46 (1 H, s), 7,81 (1 H, t, J = 1,68 Hz), 7,76 (1 H, dt, J = 7,89, 1,49 Hz), 7,54 (1 H, dt, J = 7,72, 1,37 Hz), 7,46 (1 H, t, J = 7,79 Hz), 7,05 (1 H, s), 3,37-3,20 (2 H, m), 2,82 (1 H, dt, J = 16,79, 6,64 Hz), 2,64 (1 H, dt, J = 16,80, 5,75 Hz), 2,46-2,37 (1 H, m), 2,32-2,16 (2 H, m), 2,16-2,07 (1 H, m), 1,97-1,86 (2 H, m). No se observaron picos de NH ₂ . (Sólido blanquecino)

^{a-1} Ta se refiere a método de HPLC A a F

Ejemplo 63: Ensayos *in vitro*

Ensayos bioquímicos para evaluar compuestos para determinar la inhibición de BACE-1

5 Se usó el kit de ensayo de BACE1 LanthaScreen™ de Invitrogen (número de catálogo PV4748) como ensayo primario en la cascada de examen.

10 El principio del ensayo es tal que un sustrato biotinilado marcado fluorescentemente presenta FRET en presencia de un anticuerpo anti-biotina marcado con terbio. En presencia de enzima BACE1 activa, la señal de FRET disminuye como resultado de la escisión del sustrato y éste puede inhibirse por un inhibidor IV de β-secretasa (Calbiochem 565788) con una CI₅₀ de 15-30 nM. Los compuestos que pueden inhibir la actividad proteasa de BACE-1 están por tanto asociados con altos valores de FRET.

15 Se realizó el ensayo en una microplaca de 384 pocillos según las instrucciones del fabricante usando una concentración de enzima de 700 mU/ml, equivalente a 20 nM (la CE₅₀ de BACE1 era de 0,106 U/ml) y una concentración de sustrato de 200 nM. A medida que avanza el programa, se redujo la concentración de enzima hasta 10 nM para reflejar la potencia mejorada de los compuestos de prueba. En resumen, se incubó el compuesto de prueba con la enzima y el sustrato durante 1 hora a temperatura ambiente en un volumen de reacción de 15 μl y después se añadió anticuerpo anti-biotina marcado con terbio 5 nM para detener la reacción y se incubó la disolución durante 1 hora adicional a temperatura ambiente. Se leyó la microplaca en un lector de placas Envision equipado con un filtro de excitación a 340 nm fotométrico se representó la cantidad de sustrato que se había escindido mediante la razón de TR-FRET, calculada dividiendo la señal de emisión de fluoresceína (520 nm) entre la

20 señal de emisión de terbio (495 nm).

Compuestos con actividad en el ensayo bioquímico de BACE-1 LanthaScreen™ avanzaron para las pruebas en el ensayo basado en células HTRF.

Ensayo basado en células para evaluar compuestos para determinar la inhibición de BACE-1

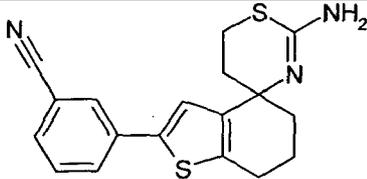
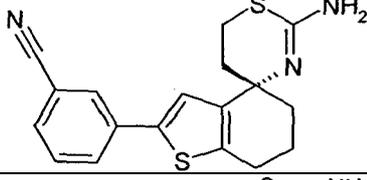
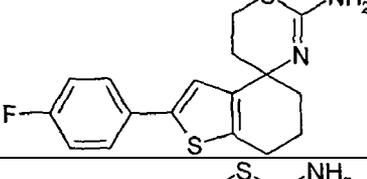
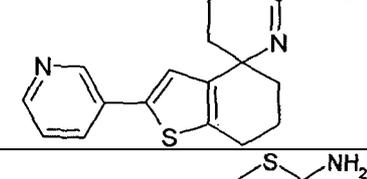
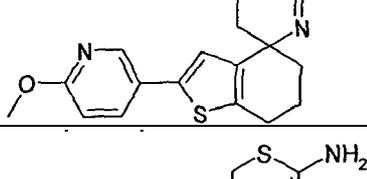
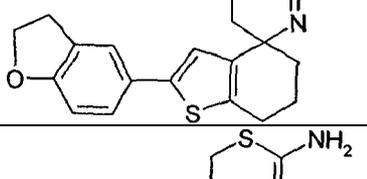
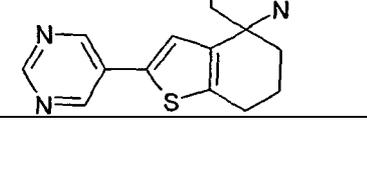
25 El ensayo basado en células usado para ayudar al programa utilizó reactivos de ensayo HTRF de Cisbio (número de catálogo 62B40PEB) para cuantificar la cantidad de péptido Aβ1-40 secretado por células HEK293 recombinantes. Se modificaron por ingeniería genética las células para producir altas cantidades de APP, el precursor para el péptido Aβ1-40, bajo presión de selección con higromicina. En resumen, se sembraron en placa las células en microplacas de 384 pocillos y se dejó que sedimentaran durante 2 horas antes de la adición de compuesto. Tras el tratamiento durante la noche con compuesto, se transfirió el medio que contenía péptido secretado a una placa de ensayo de bajo volumen para la cuantificación con reactivos de inmunoensayo HTRF. Según el protocolo del fabricante para la cuantificación, se obtiene una señal de TR-FRET en presencia del péptido Aβ1-40 tras la adición de un anticuerpo conjugado con criptato y un anticuerpo conjugado con XL665, cada uno generado frente a un epítipo diferente del péptido Aβ1-40. Se obtiene una señal de FRET baja cuando las células se tratan con compuestos que inhiben la escisión de APP y la secreción del péptido.

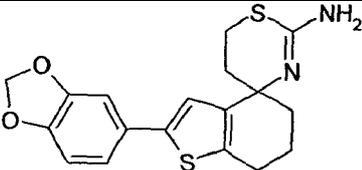
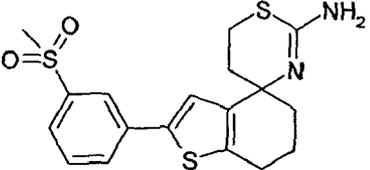
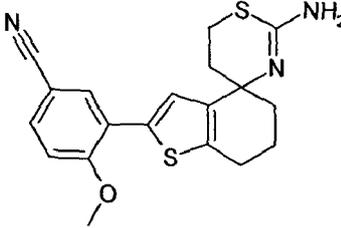
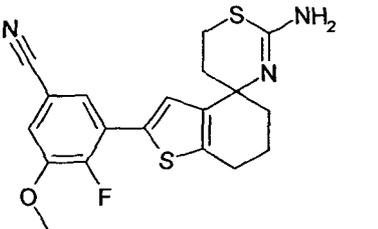
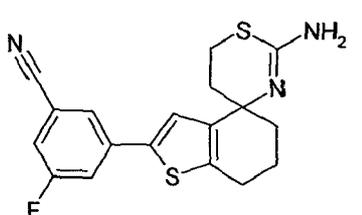
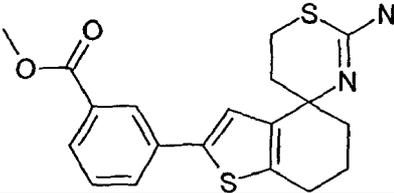
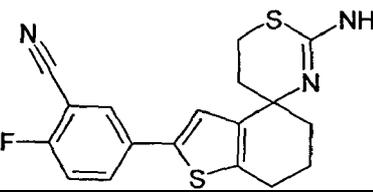
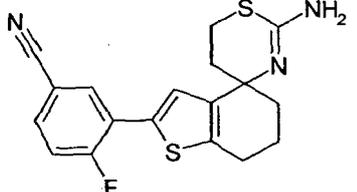
35 La concentración de péptido Aβ1-40 secretado por 30.000 células en un pocillo de ensayo era de aproximadamente

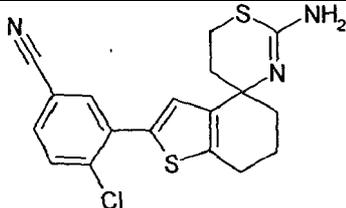
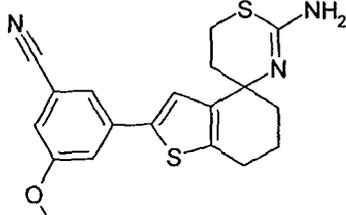
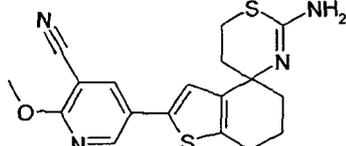
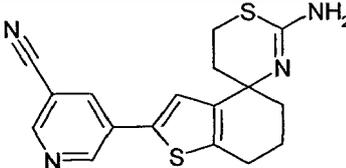
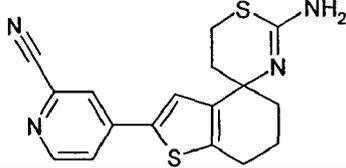
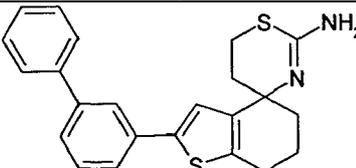
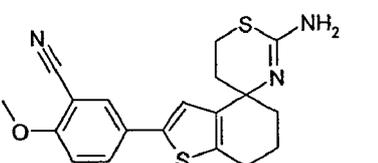
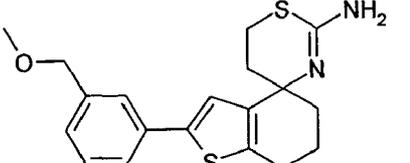
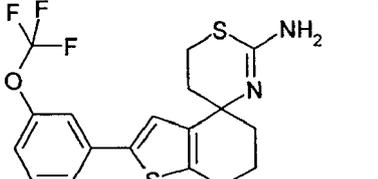
7500 pg/ml y se inhibió la secreción mediante tratamiento con un inhibidor de γ -secretasa (Calbiochem 565789) con una CI_{50} de 200 pM.

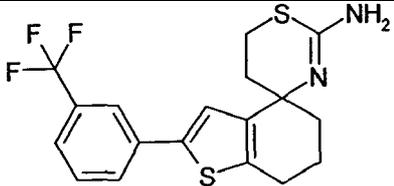
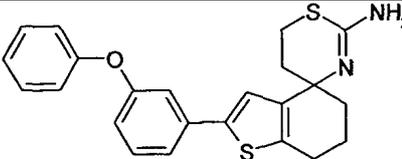
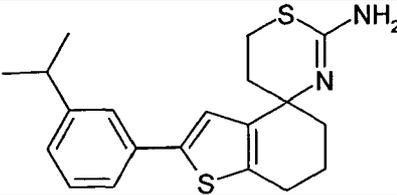
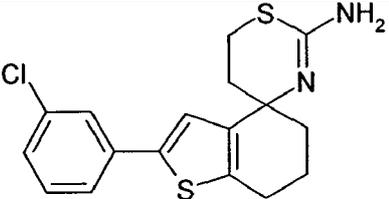
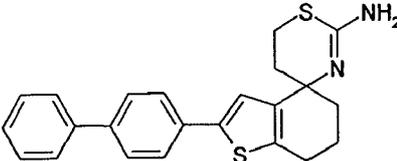
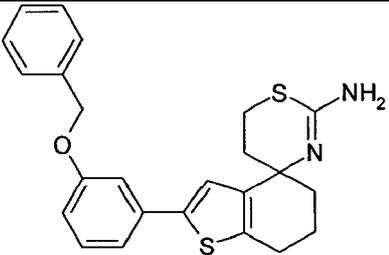
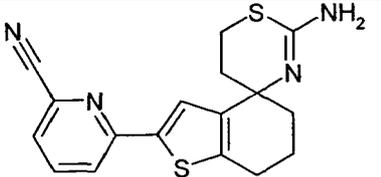
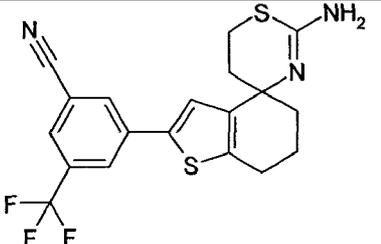
5 Se evaluó la inhibición de la secreción resultante de la toxicidad del compuesto usando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo® de Promega (número de catálogo G7570). Cuantificando el ATP generado por células metabólicamente activas, es posible confirmar que los compuestos activos no estaban ejerciendo su efecto mediante la inducción de muerte celular.

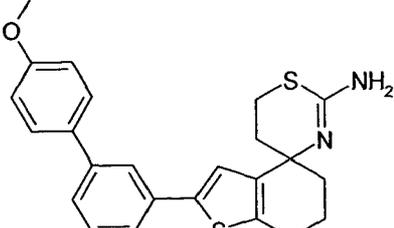
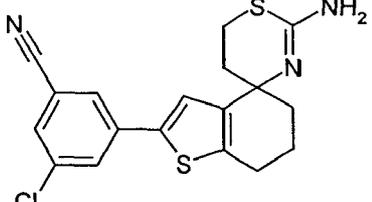
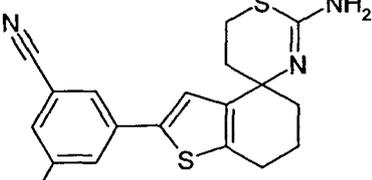
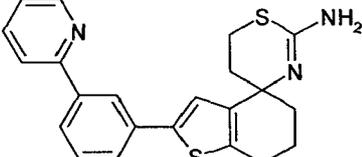
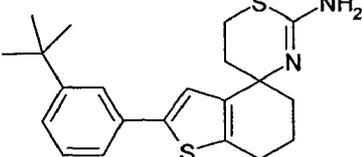
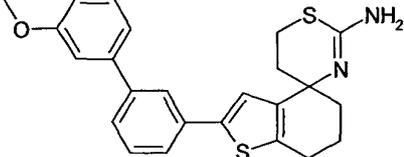
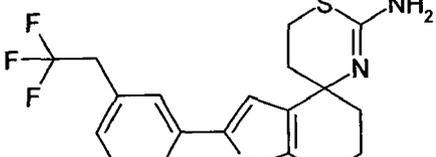
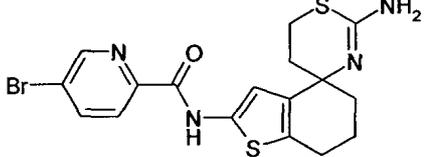
Los resultados se dan en la tabla I siguiente:

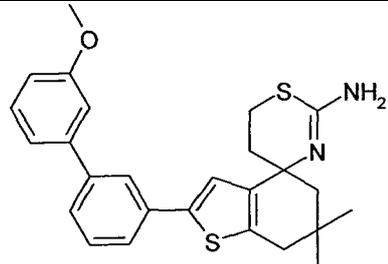
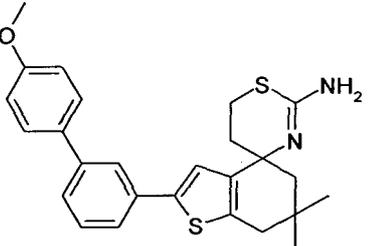
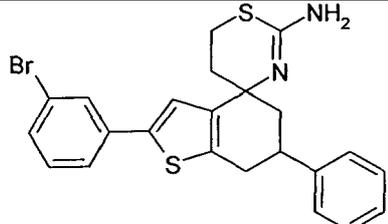
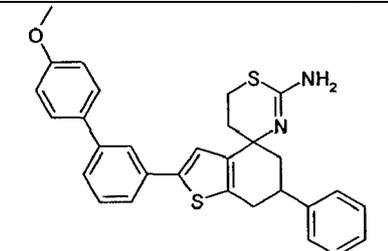
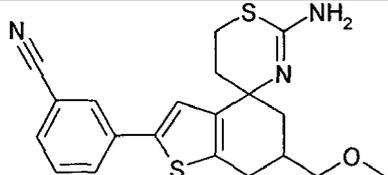
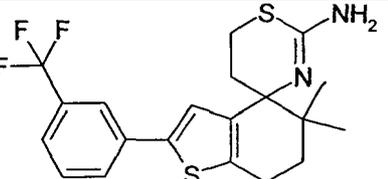
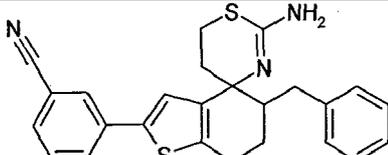
Ejemplo	Compuesto	Intervalos de CI_{50} del ensayo enzimático	Intervalos de CE_{50} del ensayo celular
1		b	a
2		a	a
3		c	c
4		c	c
5		c	c
6		c	c
7		c	c

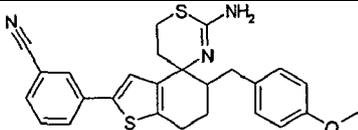
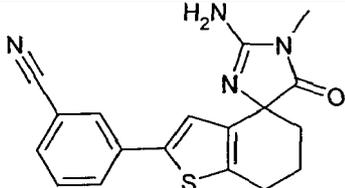
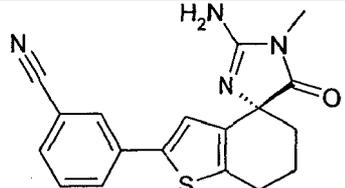
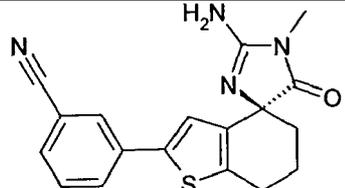
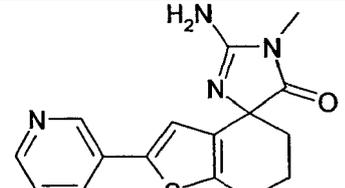
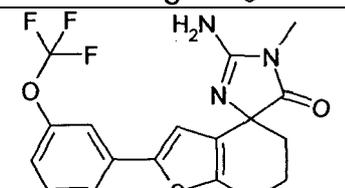
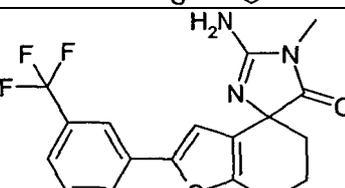
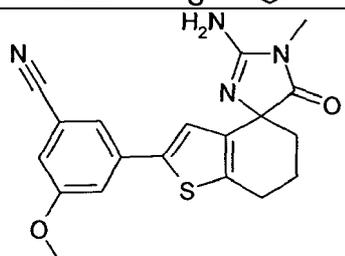
Ejemplo	Compuesto	Intervalos de CI_{50} del ensayo enzimático	Intervalos de CE_{50} del ensayo celular
8		c	c
9		c	b
10		b	a
11		c	b
12		c	b
13		c	c
14		b	b
15		b	a

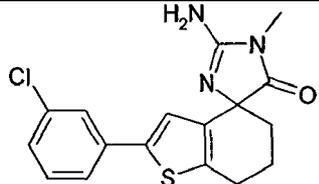
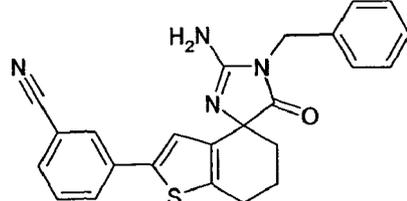
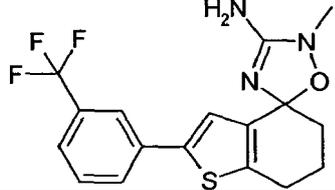
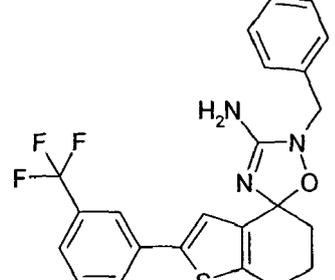
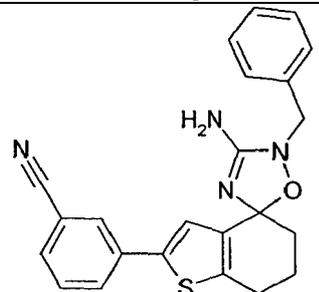
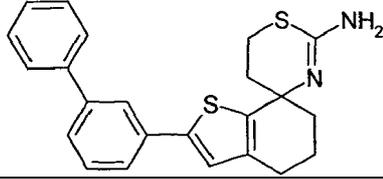
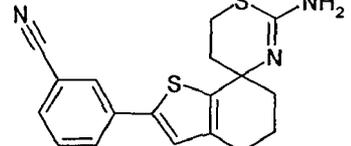
Ejemplo	Compuesto	Intervalos de CI_{50} del ensayo enzimático	Intervalos de CE_{50} del ensayo celular
16		b	a
17		b	b
18		c	b
19		c	b
20		c	b
21		b	c
22		c	b
23		c	b
24		b	c

Ejemplo	Compuesto	Intervalos de CI_{50} del ensayo enzimático	Intervalos de CE_{50} del ensayo celular
25		b	c
26		b	c
27		b	c
28		b	c
29		b	c
30		b	c
31		b	b
32		b	c

Ejemplo	Compuesto	Intervalos de CI_{50} del ensayo enzimático	Intervalos de CE_{50} del ensayo celular
33		b	c
34		b	b
35		b	b
36		c	c
37		c	c
38		b	c
39		c	c
40		c	c

Ejemplo	Compuesto	Intervalos de CI_{50} del ensayo enzimático	Intervalos de CE_{50} del ensayo celular
41		b	c
42		b	c
43		c	c
44		b	c
45		c	b
46		c	c
47		c	b

Ejemplo	Compuesto	Intervalos de CI_{50} del ensayo enzimático	Intervalos de CE_{50} del ensayo celular
48		b	c
49		a	a
50		c	b
51		a	a
52		c	b
53		b	c
54		a	b
55		b	b

56		b	b
57		a	c
58		b	c
59		b	c
60		a	c
61		b	c
62		c	c

Intervalos de Cl_{50} del ensayo enzimático

a: $Cl_{50} \leq 1 \mu\text{M}$

b: $1 \mu\text{M} < Cl_{50} \leq 5 \mu\text{M}$

c: $5 \mu\text{M} < Cl_{50} \leq 65 \mu\text{M}$

Intervalos de CE_{50} del ensayo celular

a: $CE_{50} \leq 1 \mu\text{M}$

b: $1 \mu\text{M} < CE_{50} \leq 5 \mu\text{M}$

c: $5 \mu\text{M} < CE_{50} \leq 50 \mu\text{M}$

Ejemplo 64: Preparación de una formulación farmacéutica

Formulación 1 - comprimidos:

5 Se mezcla un compuesto de fórmula (I) como polvo seco con un aglutinante de gelatina seco en una razón en peso aproximada de 1:2. Se añade una cantidad menor de estearato de magnesio como lubricante. Se forma la mezcla en comprimidos de 240-270 mg (80-90 mg de compuesto activo según la invención por comprimido) en una prensa para comprimidos.

Formulación 2 - cápsulas:

10 Se mezcla un compuesto de fórmula (I) como polvo seco con un diluyente de almidón en una razón en peso aproximada de 1:1. Se llena la mezcla en cápsulas de 250 mg (125 mg de compuesto activo según la invención por cápsula).

Formulación 3 - líquido:

15 Se combinan un compuesto de fórmula (I) (1250 mg), sacarosa (1,75 g) y goma xantana (4 mg), se hacen pasar a través de un tamiz U.S. de malla n.º 10, y luego se mezclan con una disolución preparada previamente de celulosa microcristalina y carboximetilcelulosa sódica (11:89, 50 mg) en agua. Se diluyen benzoato de sodio (10 mg), aroma y color con agua y se añaden con agitación. Entonces se añade suficiente agua para producir un volumen total de 5 ml.

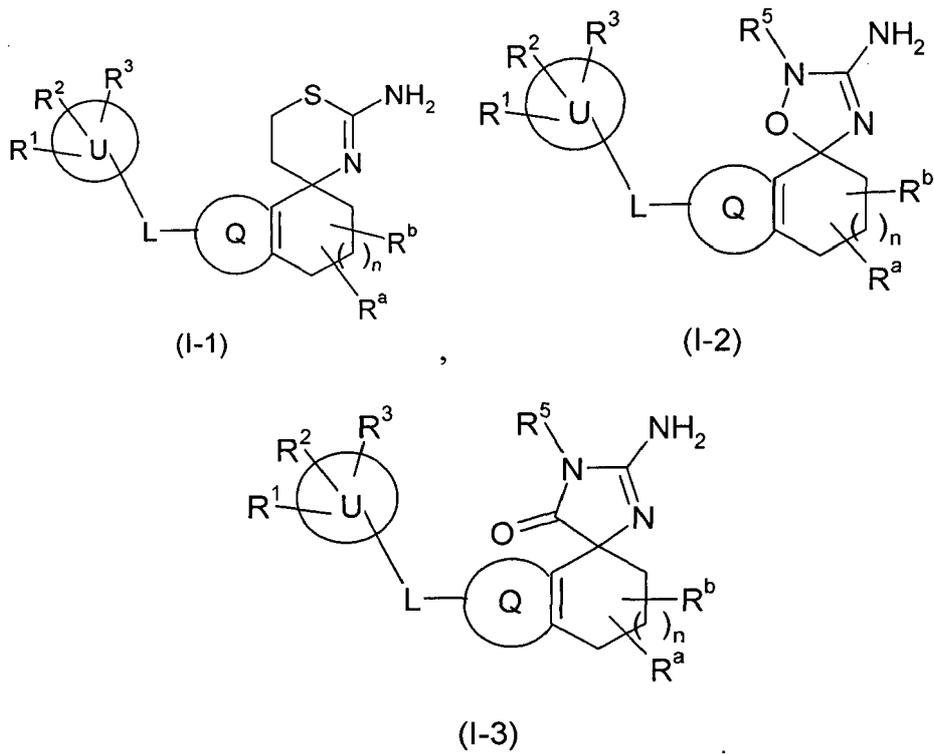
Formulación 4 - comprimidos:

20 Se mezcla un compuesto de fórmula (I) como polvo seco con un aglutinante de gelatina seco en una razón en peso aproximada de 1:2. Se añade una cantidad menor de estearato de magnesio como lubricante. Se forma la mezcla en comprimidos de 450-900 mg (150-300 mg de compuesto activo según la invención) en una prensa para comprimidos.

Formulación 5 - inyección:

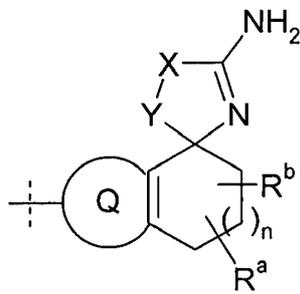
Se disuelve un compuesto de fórmula (I) en un medio acuoso inyectable de solución salina tamponada con fosfato hasta una concentración de aproximadamente 5 mg/ml.

25



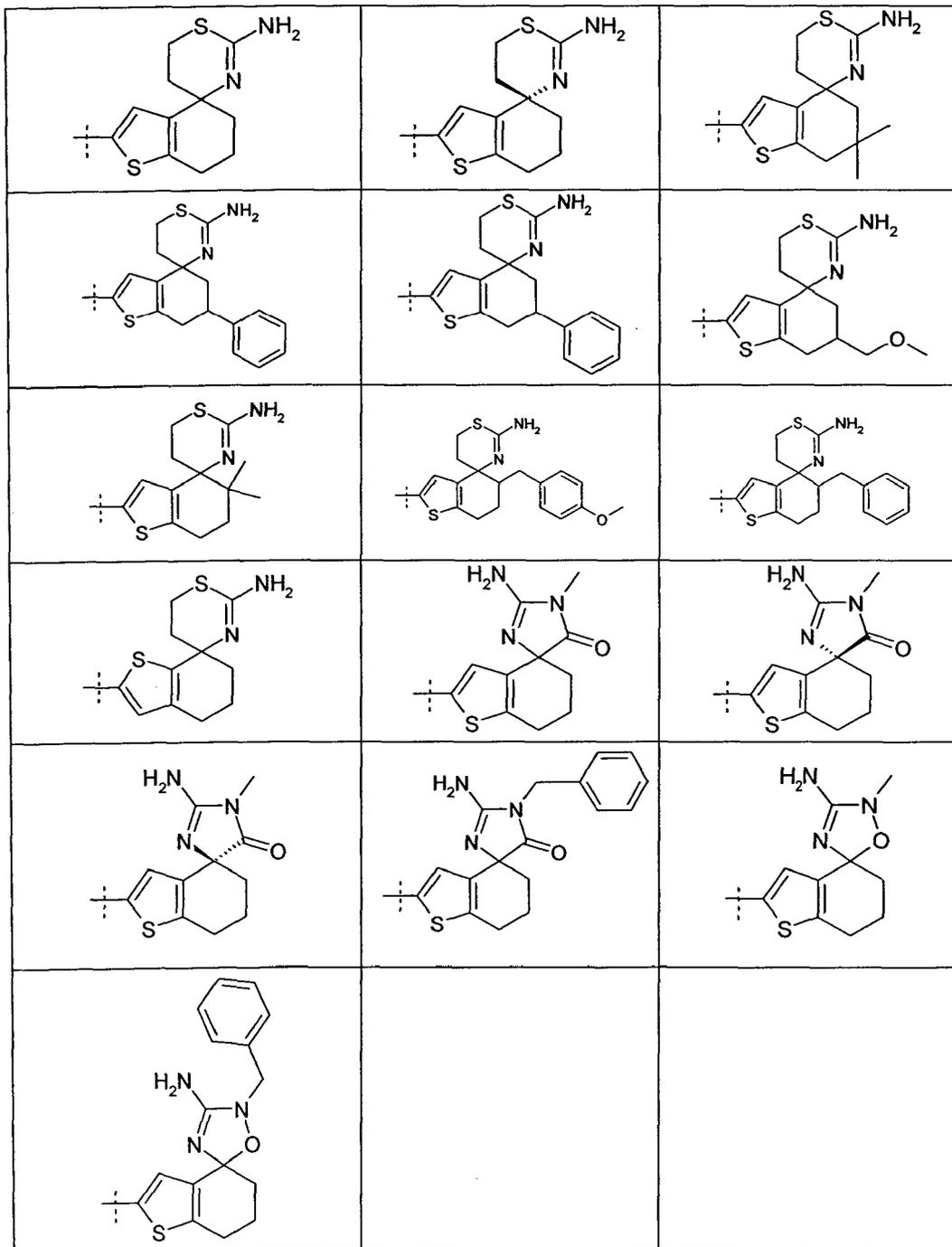
en las que R¹, R², R³, R^a, R^b, R⁵, Q, L, n y U son tal como se definen en la reivindicación 1.

3. Compuesto de fórmula (I) según las reivindicaciones 1 ó 2, en la que el grupo

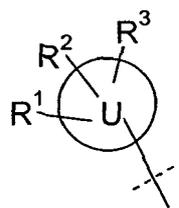


5

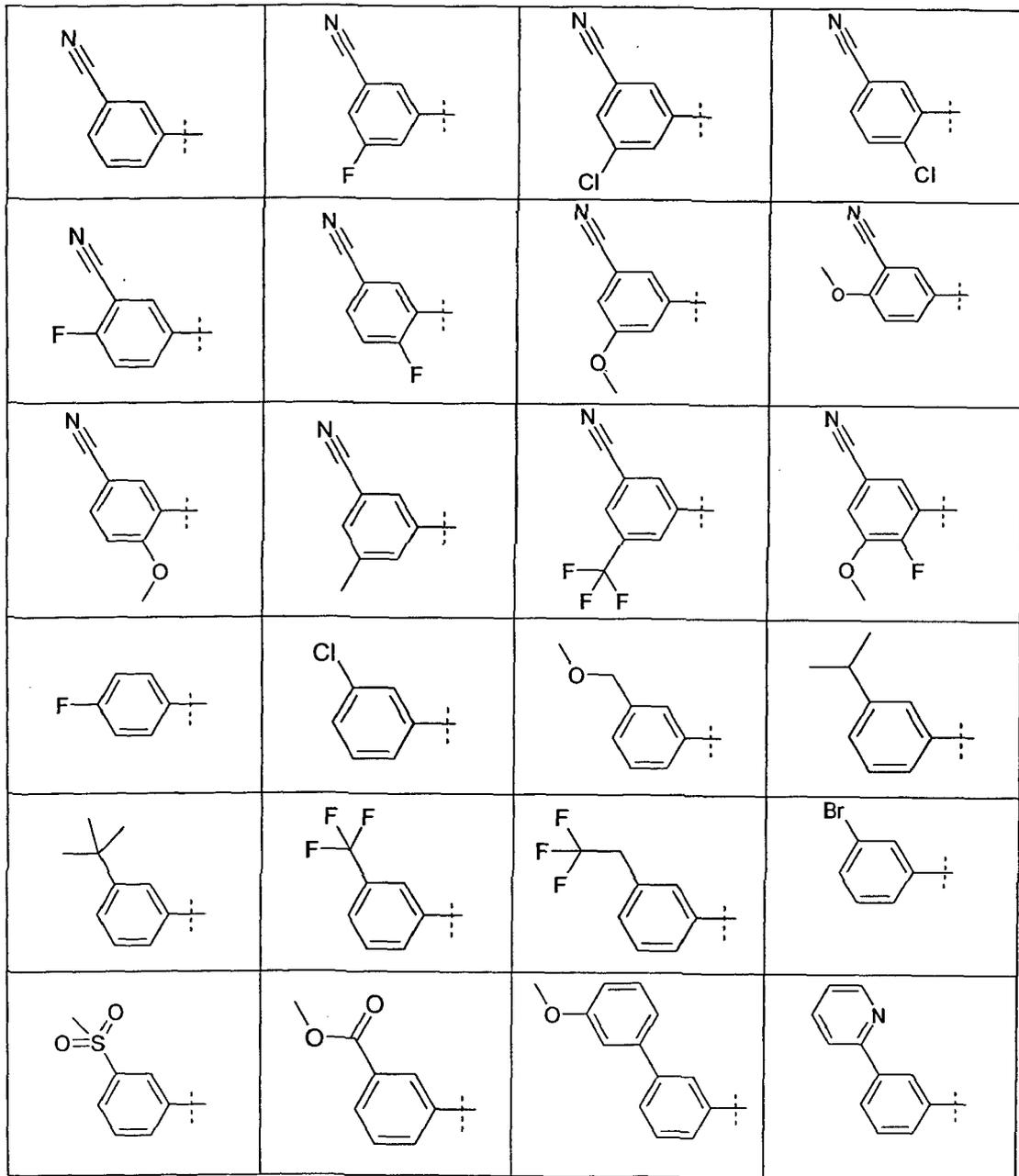
indica uno de los siguientes grupos:



4. Compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 en la que el grupo



indica uno de los siguientes grupos:



5. Compuesto de fórmula (I) según las reivindicaciones 1 a 4, en el que el compuesto se selecciona del siguiente grupo

Ej.	Compuesto	Ej.	Compuesto
1		2	
3		4	

Ej.	Compuesto	Ej.	Compuesto
5		6	
7		8	
9		10	
11		12	
13		14	
15		16	
17		18	
19		20	

Ej.	Compuesto	Ej.	Compuesto
21		22	
23		24	
25		26	
27		28	
29		30	
31		32	
33		34	
35		36	

Ej.	Compuesto	Ej.	Compuesto
37		38	
39		40	
41		42	
43		44	
45		46	
47		48	
49		50	
51		52	

Ej.	Compuesto	Ej.	Compuesto
53		54	
55		56	
57		58	
59		60	
61		62	

6. Compuesto de fórmula (I) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso como medicamento.

7. Compuesto de fórmula (I) según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, para su uso en el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas o un trastorno del sistema nervioso central.

8. Compuesto para su uso según la reivindicación 7, en el que la enfermedad neurodegenerativa se selecciona de enfermedad de Alzheimer, demencia, síndrome de Down, trastornos de la memoria, dolor crónico y neuropático.

9. Compuesto según la reivindicación 7, en el que el trastorno del sistema nervioso central es enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esquizofrenia, trastornos del movimiento y trastornos de la memoria, dolor crónico y neuropático, trastornos del sueño, epilepsia.

10. Composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) según una o más de las reivindicaciones 1 a 5 y/o derivados farmacéuticamente útiles, tautómeros, sales, solvatos y estereoisómeros de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas las razones, y opcionalmente excipientes y/o adyuvantes.

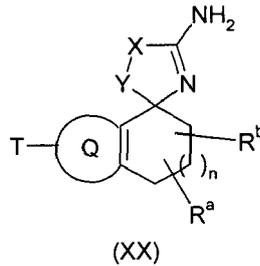
11. Composición farmacéutica que comprende al menos un compuesto de fórmula (I) según una o más de las reivindicaciones 1 a 5 y/o derivados farmacéuticamente útiles, tautómeros, sales, solvatos y estereoisómeros de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas las razones, y al menos un principio activo adicional.

12. Conjunto (kit) que consiste en envases separados de

(a) una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) según una o más de las reivindicaciones 1 a 5 y/o derivados farmacéuticamente útiles, tautómeros, sales, solvatos y estereoisómeros de los mismos, incluyendo mezclas de los mismos en todas las razones, y

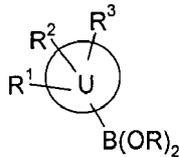
5 (b) una cantidad eficaz de un principio activo medicamentoso adicional.

13. Procedimiento para fabricar los compuestos de fórmula (I) tal como se define en las reivindicaciones 1 a 5 en la que L es un enlace sencillo que comprende la etapa de hacer reaccionar un compuesto de fórmula (XX)



10 en la que Q, X, Y, R^a, R^b, y n son tal como se definen en la reivindicación 1, y en la que T se selecciona de halógeno, nitro, carboxilo, ácido borónico o éster de boronato,

con el siguiente derivado de boronato



en la que U, R¹, R² y R³ son tal como se definen en la reivindicación 1, y en la que R es grupo alquilo o hidrógeno.