

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 751 702**

51 Int. Cl.:

C07D 207/48 (2006.01)

C07D 403/04 (2006.01)

C07D 405/04 (2006.01)

A61K 31/454 (2006.01)

A61K 31/404 (2006.01)

A61K 31/4025 (2006.01)

A61K 31/402 (2006.01)

A61P 1/04 (2006.01)

A61P 1/14 (2006.01)

A61P 31/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **11.11.2015 PCT/CN2015/094255**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.08.2016 WO16119505**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **11.11.2015 E 15879703 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **17.07.2019 EP 3248963**

54 Título: **Derivado pirrolsulfonilo, y procedimiento de preparación y uso médico del mismo**

30 Prioridad:

27.01.2015 CN 201510040549

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

01.04.2020

73 Titular/es:

JIANGSU CAREPHAR PHARMACEUTICAL CO., LTD (50.0%)
1-F1 12 Qianbanshan Garden, 323-2 Zhongshan East Road, Xuanwu District Nanjing, Jiangsu 210016, CN y NANJING CAREPHAR SHENGHUI PHARMACEUTICAL CO., LTD (50.0%)

72 Inventor/es:

QIN, YINLIN;
SU, MEI;
JIN, QIU;
CHEN, TAO y
JIANG, JIANHUA

74 Agente/Representante:

SALVÀ FERRER, Joan

ES 2 751 702 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

Derivado pirroisulfonilo, y procedimiento de preparación y uso médico del mismo

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere a un nuevo derivado pirroisulfonilo y sus procedimientos de preparación, a una composición farmacéutica que comprende el derivado y sus usos como agentes terapéuticos, en particular como un inhibidor de la secreción de ácido gástrico y como bloqueadores de ácidos competitivos con potasio (P-CAB).

10

Técnica anterior

Los inhibidores de la bomba de protones, representados por omeprazol, han sido ampliamente utilizados en aplicaciones clínicas para el tratamiento de enfermedades, tales como úlcera péptica, esofagitis de reflujo y síndrome de Zollinger-Ellison (ZES) desde 1988. Se encuentra a partir de aplicaciones clínicas a largo plazo que los inhibidores de la bomba de protones existentes tienen limitaciones en la farmacocinética y la farmacodinámica, tal como el efecto del tiempo de administración sobre la eficacia de la medicina, el lento efecto de la diseminación ácida nocturna, la inestabilidad en condiciones ácidas (más probable que sea una preparación con recubrimiento entérico) y la dependencia de la enzima CYP450 (lo que da lugar a importantes diferencias individuales), etc.

20

Los bloqueadores de ácidos competitivos con potasio (P-CAB) pueden controlar el K^+ en la enzima H^+/K^+ -ATP competitivamente a través de un proceso directo y reversible. En comparación con inhibidores tradicionales de la bomba de protones, los P-CAB se caracterizan por lipotropía, alcalescencia, alta constante de disociación y estabilidad a condiciones de pH bajo. En medio ácido, los P-CAB pueden combinarse con la enzima H^+/K^+ -ATP en una forma ionizada, evitando que se libere la secreción de H^+ y ácido en la cavidad gástrica y aumentando el valor de pH en el estómago rápidamente. Se encuentra a partir de experimentos en animales y estudios clínicos que los P-CAB tienen efectos rápidamente y pueden alcanzar el máximo efecto terapéutico en 1h; la concentración en sangre y la dosificación de la administración oral son linealmente dependientes, de este modo el efecto de supresión de ácido óptimo se puede alcanzar fácilmente.

30

A pesar de que hasta ahora se ha descrito una serie de P-CAB, nuevos compuestos con tipos de estructura más abundantes y mejor farmacobilidad todavía tienen que desarrollarse. A través de esfuerzos continuos, el inventor diseñó un compuesto con una estructura como se muestra en la Fórmula (I) y descubrió el efecto y funciones excepcionales del compuesto con tal estructura.

35

El documento WO 2014/075575 da a conocer pirroles sustituidos que son bloqueadores activos competitivos con potasio (P-CAB) para uso en el tratamiento de trastornos gastrointestinales y relacionados.

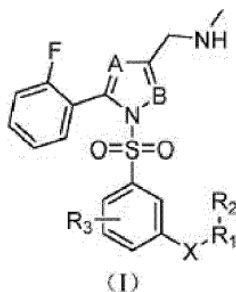
Características de la invención

40

La solicitud proporciona un inhibidor de la secreción de ácido gástrico con una estructura como se muestra en la Fórmula (I); el procedimiento de la aplicación del cual se describe de la siguiente manera:

La solicitud proporciona un compuesto con una estructura como se muestra en la Fórmula (I), o su tautómero, mesómero, racemato, enantiómero, diastereoisómero, o su forma de mezcla o sal farmacéuticamente aceptable:

45



55

en la que A y B se seleccionan independientemente entre N o CR_4 ; R_4 se selecciona entre hidrógeno, halógeno y alquilo;

60

X se selecciona entre O y NR_5 ; R_5 se selecciona entre hidrógeno y alquilo;

R_1 se selecciona entre alquilo y alquilo heterocíclico; en el que dicho alquilo y alquilo heterocíclico están sustituidos adicionalmente por uno o más sustituyentes seleccionados entre hidrógeno, halógeno y alquilo; alquilo puede estar no sustituido o sustituido por halógeno, alqueno C_2-C_6 , arilo C_6-C_{10} , heteroarilo C_5-C_{10} , alquilo C_1-C_6 halogenado, heteroalquilo de 4-8 elementos, hidroxilo, alcoxi C_1-C_6 y ariloxi C_6-C_{10} ;

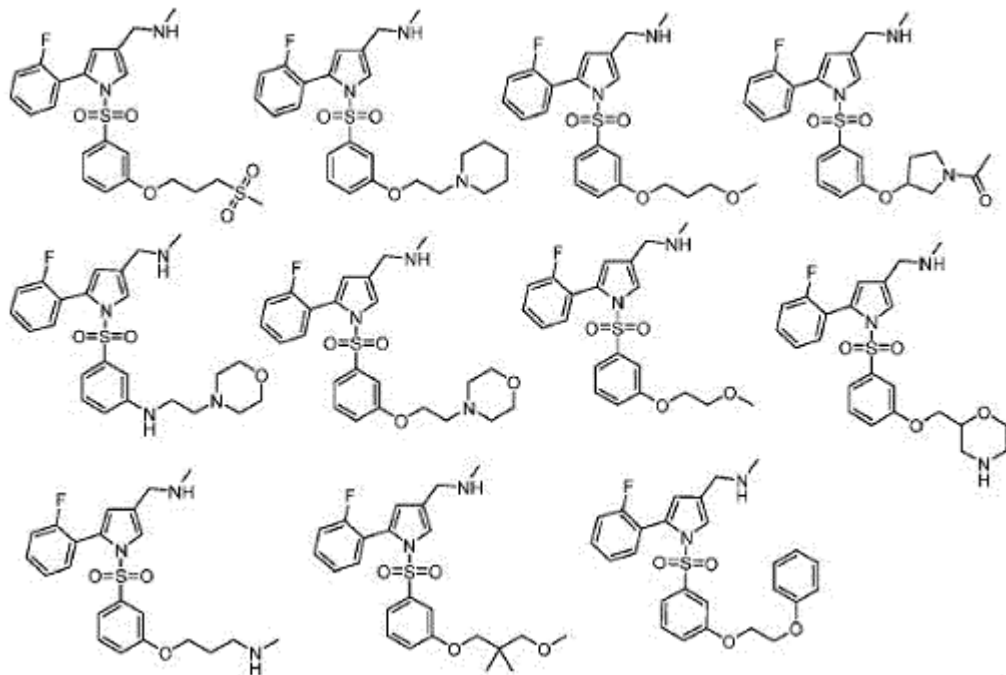
65

R₂ se selecciona entre alquil sulfonilo, alquilo heterocíclico, alcoxi, alquil acilo, fenoxi y alquil amino; en el que dicho alquil sulfonilo, alquilo heterocíclico, alcoxi, alquil acilo, fenoxi y alquil amino están sustituidos adicionalmente por uno o más sustituyentes seleccionados entre hidrógeno, halógeno y alquilo;

R₃ se selecciona entre hidrógeno, halógeno y alquilo;

Además, A y B se seleccionan entre CR₄ y R₄ se selecciona entre hidrógeno.

Además, dicho compuesto se selecciona entre:



La presente invención se refiere además a una composición farmacéutica; dicha composición farmacéutica contiene una dosis eficaz del compuesto de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-3, o su tautómero, mesomer, racemato, enantiómero, diastereoisómero, o su forma de mezcla o una sal farmacéuticamente aceptable y portadores, excipientes, o diluyentes aceptables para la medicina.

La composición farmacéutica se puede utilizar como un inhibidor de la secreción de ácido gástrico.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un procedimiento para inhibir la secreción de ácido gástrico; el procedimiento comprende una dosis eficaz del compuesto, como se muestra en la Fórmula (I) o su tautómero, mesomer, racemato, enantiómero, diastereoisómero, o su forma de mezcla o una sal farmacéuticamente aceptable, o la composición farmacéutica que contiene el compuesto se administra al paciente que necesita tratamiento.

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso del compuesto como se muestra en la Fórmula (I) o su tautómero, mesomer, racemato, enantiómero, diastereoisómero, o su forma de mezcla o una sal farmacéuticamente aceptable, o la composición farmacéutica que contiene el compuesto en la preparación del inhibidor H⁺/K⁺-adenosina trifosfatasa (H⁺/K⁺-ATPasa).

En otro aspecto, la presente invención se refiere al uso del compuesto como se muestra en la Fórmula (I) o su tautómero, mesomer, racemato, enantiómero, diastereoisómero, o su forma de mezcla o una sal farmacéuticamente aceptable, o la composición farmacéutica que contiene el compuesto en la preparación de bloqueadores de ácidos competitivos con potasio (P-CAB).

La composición farmacéutica según la presente invención puede usarse en el tratamiento o la prevención de la úlcera péptica, síndrome de Zollinger-Ellison, gastritis, esofagitis erosiva, esofagitis por reflujo, enfermedad por reflujo gastroesofágico sintomático, esofagitis de Barrett, dispepsia funcional, infección por helicobacter pylori, cáncer gástrico, linfoma gástrico MALT, anabrosis causada por fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (NSAID), o hiperacidez o anabrosis debido al estrés postoperatorio. La invención proporciona el uso de la medicina para tratar o prevenir la úlcera péptica, síndrome de Zollinger-Ellison, gastritis, esofagitis erosiva, esofagitis por reflujo, enfermedad por reflujo gastroesofágico sintomático, esofagitis de Barrett, dispepsia funcional, infección por Helicobacter pylori, cáncer gástrico, linfoma gástrico MALT, anabrosis causada por fármacos anti-inflamatorios no esteroideos (NSAID), o hiperacidez o anabrosis debido al estrés postoperatorio; o el procedimiento para preparar el medicamento para inhibir el sangrado gastrointestinal causado por la úlcera péptica, úlcera de estrés agudo, gastritis hemorrágica o estrés invasivo; en el que, la úlcera péptica se selecciona de úlcera gástrica, úlcera duodenal y úlcera marginal; dicha

enfermedad de reflujo gastroesofágico sintomático se selecciona entre enfermedad por reflujo no erosivo y enfermedad por reflujo gastroesofágico sin esofagitis.

Descripción detallada

A menos que se indique lo contrario, los siguientes términos utilizados en la descripción y las reivindicaciones tienen la siguiente implicación.

"Alquilo" se refiere a un grupo hidrocarburo alifático saturado, que comprende el grupo de cadena lineal o cadena ramificada con 1-20 átomos de carbono, preferiblemente el alquilo de tamaño medio con 1-6 átomos de carbono, tales como metilo, etilo, propilo, 2-propilo, n-butilo, isobutilo, terc-butilo y amilo, y más preferentemente el alquilo inferior con 1-4 átomos de carbono, tales como metilo, etilo, propilo, 2-propilo, n-butilo, isobutilo y terc-butilo. Alquilo puede estar sustituido o no sustituido; cuando está sustituido, los grupos preferidos son halógeno, alquenilo C₂-C₆, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo C₅-C₁₀, alquilo C₁-C₆ halogenado, heteroalquilo de 4-8 elementos, hidroxilo, alcoxi C₁-C₆ y ariloxi C₆-C₁₀. "Grupo Hetero-nafténico" se refiere a grupo monocíclico o grupo de anillo condensado; hay 5-9 átomos anulares en el anillo, en donde, uno o dos átomos anulares son heteroátomos seleccionados entre N, O y S(O)_p (en el que p es un número entero de 0-2) y el resto de átomos anulares son C. Estos anillos pueden tener uno o más dobles enlaces, pero no hay un sistema electrónico π que esté totalmente conjugado. El ejemplo no restrictivo del hetero-alquilo no sustituido comprende pirrolidinilo, piperidina (sólo posición 1), piperazina (sólo posición 1), grupo sustituido con morfolina, grupo sustituido con tiomorfolina, homopiperazina (sólo posición 1), etc. Heteroalquilo puede ser sustituido o no sustituido; cuando está sustituido, el sustituyente es preferiblemente uno o más; más preferiblemente uno, dos o tres y aún más preferiblemente uno o dos; dicho sustituyente se selecciona entre hidrógeno, hidroxilo, sulfhidrilo, oxo, alquilo inferior, alcoxi inferior, base nafténica inferior, hetero-alquilo inferior, alcoxi halogenado inferior, alquil sulfanilo, halógeno, alquilo halogenado inferior, hidroxialquilo inferior, alquilideno de base nafténica inferior, hetero-alquilalquilideno inferior, arilo, ceteroari, alcoxi carbonilo, amino, alquil amino, alquil sulfonilo, aril sulfonilo, alquil amino sulfonilo, aril amino sulfonilo, alquil sulfonil amino, aril sulfonilo amino, alquil amino carbonilo, aril amino carbonilo, alquil carbonil amino y aril carbonil amino. A menos que se indique lo contrario, el ejemplo de la base alicíclica diversa comprende, pero no se limita a, morfolinilo, piperazinilo, piperidilo, azaciclo-butilo, pirrolidilo, grupo hexahidro-azotropilio, oxaciclo-butilo, tetrahidrofuranilo, tetrahidrotiofenilo, oxazolidinilo, tiazolidinilo, isoxazolidinilo, tetrahidropiranilo, sulfomorfolinilo, quinuclidinilo y imidazolinilo; cada grupo es como se mencionó anteriormente; el ejemplo puede ser bicíclico, tal como 3,8-biaza-dicíclico [3.2.1] octano, 2,5-biaza-dicíclico [2.2.2] octano o octahidropirazina [2,1-c] [1,4 oxazina]; en donde, el hetero-alquilo (y sus derivados) incluyen las formas de iones. "Alcoxi" representa -O- (alquilo no sustituido) y -O (base nafténica sustituida). El ejemplo representativo comprende, pero no se limita a, metoxilo, etioilo, propoxi, butoxi, ciclopropoxi, ciclobutoxi, ciclopentiloxi y ciclohexiloxi, etc. "Alquil sulfonilo" representa -S(O₂) -alquilo.

"Alquil amino" representa -NH-alquilo.

"Alquil acilo" representa



R es alquilo inferior.

"Hidroxi" representa un grupo -OH.

"Halógeno" representa flúor, cloro, bromo o yodo; se prefiere flúor o cloro.

El llamado "opcionalmente" significa que los eventos o circunstancias descritas posteriormente pueden o no producirse; la descripción incluye los eventos o circunstancias pueden o no producirse y la descripción incluye dos posibilidades de producción y no producción de los eventos o circunstancias.

En algunas realizaciones, "sustituido por uno o más grupos" se refiere a que uno, dos, tres o cuatro átomos de hidrógeno en un átomo o grupo específico están sustituidos por el mismo o diferente grupo seleccionado de los grupos en un ámbito especificado.

La "sal farmacéuticamente aceptable" se refiere a las sales que mantienen las biodisponibilidades y propiedades del compuesto original. Dichas sales comprenden:

(1) Sal de adición ácida, que se obtiene a través de la reacción del álcali libre del compuesto original con un ácido inorgánico o un ácido orgánico; el ácido inorgánico comprende ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido nítrico, ácido fosfórico, ácido metafosfórico, ácido sulfúrico, ácido sulfuroso, ácido perclórico, etc.; el ácido orgánico comprende ácido acético, ácido propiónico, ácido crílico, ácido oxálico, ácido (D) o (L) málico, ácido fumárico, ácido maleico, ácido

hidroxibenzoico, ácido γ -hidroxibutírico, ácido metoxibenzoico, ácido ftálico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, naftaleno-1-sulfoácido, naftaleno-2-sulfoácido, ácido p-toluenosulfónico, ácido salicílico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido láctico, ácido mandélico, ácido succínico, ácido malónico, etc.

(2) la sal generada a partir del protón ácido en el compuesto original que está sustituido por un ion metálico o de la combinación de complejos con un álcali orgánico; el ión metálico se selecciona de iones de metal alcalino, ion de metal alcalinotérreo e ión de aluminio; el álcali orgánico se selecciona colamina, dietanolamina, trietanolamina, trometamina y N-metilglucosamina, etc.

La "composición farmacéutica" se refiere a la mezcla de uno o más de los compuestos o su sal farmacéuticamente aceptable, solvato, complejo acuoso o profármaco y otros componentes químicos como portadores farmacéuticamente aceptables. La composición farmacéutica es para facilitar el proceso de administración de fármacos a los animales.

El "portador farmacéutico" se refiere a los ingredientes inactivos en la composición farmacéutica que ni causan un efecto irritante obvio para el organismo, ni interfieren en las bioactividades y propiedades proporcionadas al compuesto, que comprenden, pero no limitan a, carbonato de calcio, fosfato de calcio, diversos sacáridos (tales como lactosa y manitol), almidón, ciclodextrina, estearato de magnesio, celulosa, carbonato de magnesio, polímeros acrílicos o polímeros de metacrilato, gel, agua, polietilenglicol, propilenglicol, etilenglicol, aceite de ricino o aceite de ricino hidrogenado o aceite de ricino polietoxi hidrogenado, aceite de sésamo, aceite de maíz y aceite de cacahuete, etc.

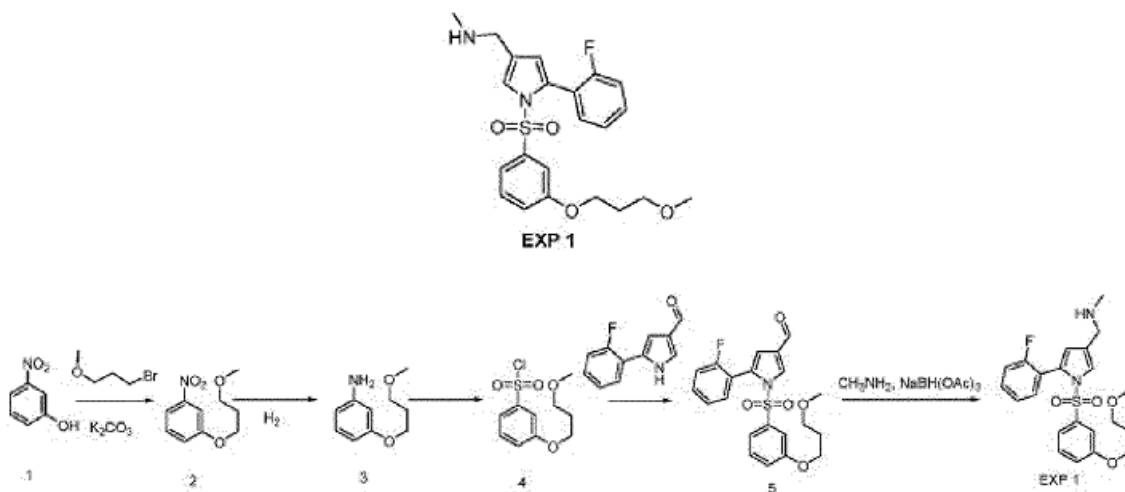
En la composición farmacéutica anterior, además de los portadores farmacéuticamente aceptables, también pueden comprender adyuvantes utilizados habitualmente en farmacia, tales como agente antibacteriano, agente antifúngico, agente antimicrobiano, agente de conservación de la calidad, agente para emparejar el color, agente solubilizante, agente espesante, agente activo de superficie, agente complejante, proteínas, aminoácidos, grasas, sacáridos, vitaminas, sustancias minerales, microelementos, agente edulcorante, pigmento, esencia o sus combinaciones.

Descripción detallada de las realizaciones preferidas

La invención se describe adicionalmente en combinación con las siguientes realizaciones que no son limitaciones del alcance de la invención.

Realización 1:

Preparación de 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(3-metoxipropoxi)fenil)sulfonyl)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 1)



1) Preparación de 1-(3-metoxi propoxi)-nitrobenzeno (Compuesto 2)

La disolución de 3-nitrofenol (compuesto 1, 1,0 g, 7,19 mmol), carbonato de potasio (2,9 g, 21,6 mmol) y 1-bromo-3-metoxi propano (1,65 g, 10,79) en DMF anhidra (20 ml) y la agitación a 90 °C durante la noche; la adición de agua (50 ml) y extracción con acetato de etilo (50 mL x 3); la combinación de fases orgánicas para el secado y la concentración, de este modo, se obtiene el sólido 1-(3-metoxi propoxi)nitrobenzeno amarillo (Compuesto 2, 1,5 g, rendimiento del 100%).

2) Preparación de 1-(3-metoxipropoxi)-fenilamina (Compuesto 3)

La disolución de 1-(3-metoxipropoxi) nitrobenzeno (Compuesto 2, 1 g, 4,74 mmol), RaneyNi (100 mg) en metanol anhidro (20 ml) y agitación bajo atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante la noche; filtración para obtener licor de filtro para secado por rotación, de este modo, se obtiene el sólido 1-(3-metoxi propoxi)-fenilamina (Compuesto 3, 0,80 g, 91% de rendimiento).

3) Preparación de cloruro de 1-(3-metoxi propoxi)-benceno sulfonilo (Compuesto 4)

La adición de nitrito de sodio (571 mg, 8,29 mmol) en lotes en el ácido acético (10 ml) y solución acuosa de ácido clorhídrico (2 N, 10 ml) de 1-(3-metoxi propoxi)-fenilamina (Compuesto 3, 1,0 g, 5,52 mmol) a 0 °C; agitación durante 25 min a 0 °C después de la alimentación para obtener la Solución I; adición de cloruro cuproso (190 mg, 1,1 mmol) en la solución de ácido acético (10 ml, 2 N) de dióxido de azufre a 0 °C para obtener una Solución II; adición de la Solución I en la Solución II en gotas a 0 °C; aumento de la temperatura de hasta temperatura ambiente de forma natural después y agitación de la solución para la reacción durante 3 h; su extracción con acetato de etilo (150 mL x 3); combinación de fases orgánicas para secado, concentración y cromatografía en columna (éter de petróleo:acetato de etilo = 20:1), de este modo se obtiene una sustancia oleosa de color amarillo cloruro de 1-(3-metoxi propoxi)benceno sulfonilo (Compuesto 4, 800 mg, 55% de rendimiento).

4) Preparación de 5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(3-metoxi propoxi)fenil)sulfonil)-1H-pirrol-3-formaldehído (compuesto 5)

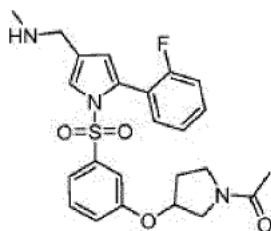
La adición de t-BuOK (233 mg, 2,08 mmol) en el THF anhidro (5 ml) de 5-(2-fluorobenceno)-1H-pirrol-3-formaldehído (200 mg, 1,04 mmol) y la agitación para la reacción durante 30 minutos a 0 °C; la adición de 15-corona-5 (542 mg, 2,08 mmol) y cloruro de 1-(3-metoxi propoxi)benceno sulfonilo (Compuesto 4, 412 mg, 2,08 mmol), respectivamente, después de la reacción; aumento de la temperatura hasta temperatura ambiente de forma natural después de la alimentación y agitación de la solución durante la reacción durante 90 min, la adición de agua con hielo (50 g) para enfriar después de la reacción y la extracción con acetato de etilo (50 mL x 3); la combinación de fases orgánicas para el secado, concentración y cromatografía en columna (éter de petróleo:acetato de etilo = 8:1), se obtiene, de este modo la sustancia oleosa de color amarillo 5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(3-metoxi propoxi) fenil) sulfonil)-1H-pirrol-3-formaldehído (260 mg, rendimiento 60%).

5) Preparación de 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(3-metoxi propoxi)fenil)sulfonil)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 1)

La disolución de 5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(3-metoxi propoxi)fenil)sulfonil)-1H-pirrol-3-formaldehído (Compuesto 5, 500 mg, 1,19 mmol), ácido acético (144 mg , 2,39 mmol) y una solución alcohólica de metilamina (1 ml) en metanol anhidro (3 ml) y agitación durante 4 h a temperatura ambiente; la adición de NaBH₃CN (212 mg, 3,59 mmol) y agitación durante 60 min; la adición de agua con hielo (30 g) para enfriar y extraer con acetato de etilo (50 mL x 3); la combinación de fases orgánicas para el secado, concentración y cromatografía en columna, se obtiene, de este modo, el sólido amarillo 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(3-metoxi propoxi) fenil) sulfonil)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 1, 100 mg, 20%).

HPLC: 99,4%; MS (ESI) m/z: [M + H]⁺ = 433,0; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8,72 (s, 1H), 7,78 (d, 1H), 7,46-7,55 (m, 2H), 7,21-7,32 (m, 3H), 6,85-7,11 (m, 2H), 6,83-6,85 (m, 1H), 6,44 (d, 1H), 3,95-4,02 (m, 4H), 3,47 (t, 2H), 3,32 (s, 3H), 2,52 (m, 3H) , 1,94 (t, 2H) ppm.

Realización 2: Preparación de 1-(3-(3-((2-(2-fluorobenceno)-4-((metilamino)metil)-1H-il)sulfonil) fenoxi)pirrolidina-1-il)etil-1 cetona (EXP 2)

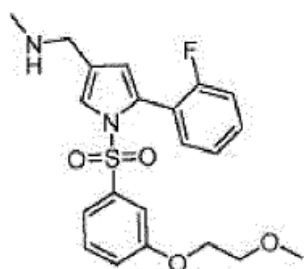


EXP 2

Obtención del compuesto sólido blanco 1-(3-(3-((2-(2-fluorobenceno)-4-((metilamino) metil)-1H-il)sulfonil) fenoxi)pirrolidin-1-il)etil-1-cetona (EXP 2, 65% de rendimiento) por referencia al procedimiento de preparación en la realización 1.

HPLC: 94,8%; MS (ESI) m/z: [M + H]⁺ = 472; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 8,75 (s, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,48-7,53 (m, 2H), 7,35 (t, 1H), 7,22-7,25 (m, 2H), 7,4-7,9 (m, 2H), 6,86-6,88 (m, 1H), 6,45 (d, 1H), 4,77-4,79 (m, 1H), 4,01 (s, 2H), 3,39-3,64 (m, 4H), 2,55 (d, 3H), 1,86-2,09 (m, 4H) ppm.

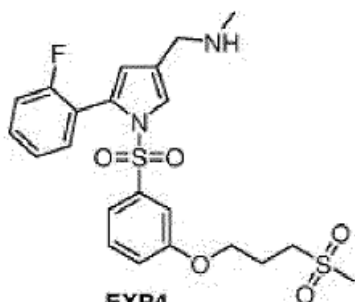
Realización 3: Preparación de 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(2-metoxi etioxil)fenil) sulfonil)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 3)



EXP3

Obtención del compuesto 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(2-metoxi etioxilo) fenil) sulfonil)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 3, 80 mg, 10% de rendimiento) por referencia al procedimiento de preparación en la realización 1. HPLC: 96,5%; MS (ESI) m/z: $[M + H]^+ = 419,2$; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, MeOD) δ : 7,44 (d, 1H), 7,42 (m, 1H), 7,37 (t, 1H), 7,4-7,19 (m, 5H), 6,89 (t, 1H), 6,28 (d, 1H), 4,03 (t, 2H), 3,72 (t, 2H), 3,63 (s, 2H), 3,42 (d, 3H), 2,38 (s, 3H) ppm.

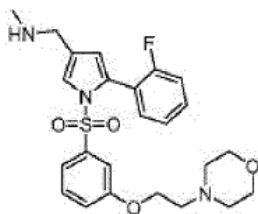
Realización 4: Preparación de 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(3-metil sulfonilpropoxi)fenil)sulfonil)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 4)



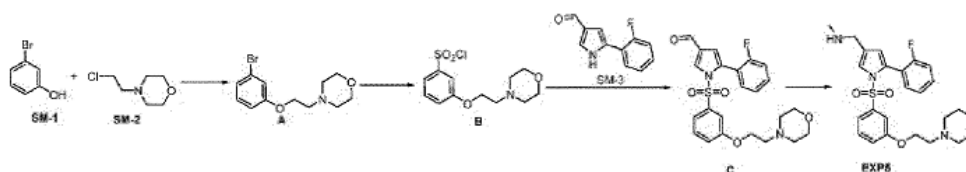
EXP4

Obtención del compuesto 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(3-metilsulfonilpropoxi) fenil) sulfonil)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 4, 70 mg, 20% de rendimiento) por referencia al procedimiento de preparación en la realización 1. HPLC: 94,28%; MS (ESI) m/z: $[M + H]^+ = 481,2$; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, MeOD) δ : 7,45 (m, 2H), 7,34 (t, 1H), 7,6-7,19 (m, 5H), 6,89 (t, ^1H), 6,28 (d, 1H), 4,06 (t, 2H), 3,59 (s, 2H), 3,34 (m, 2H), 3,42 (d, 3H), 3,01 (s, 3H), 2,36 (s, 3H), 2,27 (m, 2H) ppm.

Realización 5: Preparación de 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(2-morfolinil etioxil)fenil)sulfonil)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 5)



EXP5



1) Preparación de 4-(2-(3-bromo fenoxi)etil) morfolina (Compuesto A)

La disolución de 3-bromofenol (SM-1, 5 g, 29 mmol, 1 eq), N-(2-cloroetil) morfolina (SM-2, 4,3 g, 29 mmol, 1 eq) y carbonato de potasio (8 g, 58 mmol, 2 eq) en DMF anhidra (50 ml) y agitación a temperatura ambiente durante la noche; realización de la prueba CLT para completar la reacción; adición de agua y extracción con EA; evaporación de la capa orgánica para el aislamiento por cromatografía en columna, de este modo se obtiene el compuesto A (9 g, 90% de rendimiento).

2) Preparación de cloruro de 3-(2-morfolinil etioxil) benceno sulfonilo (Compuesto B)

La disolución del Compuesto A (4 g, 14 mmol, 1 eq) en THF anhidro (50 ml) y su enfriamiento a -78 °C; la adición de n-BuLi (13 ml, 21 mmol, 1,5 eq) y agitación durante 1 hora a -78 °C; introducción de dióxido de azufre gaseoso en la mezcla de reacción durante 20 min y calentamiento de -78 °C a 0 °C en 2 horas; concentración y evaporación de la mezcla de reacción a sequedad y la adición de DCM (50 ml) y N-clorosuccinimida (NCS 2,8 g, 21 mmol, 1,5 eq) y agitación durante 12 h; realización de aislamiento por columna de cromatografía a la mezcla de reacción directamente, de este modo se obtiene el compuesto B (2 g, 50% de rendimiento).

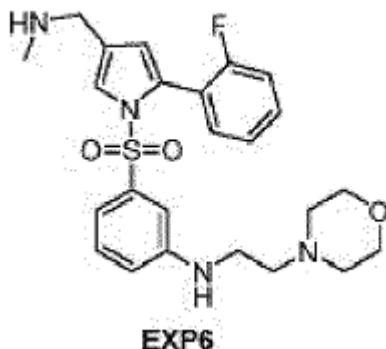
3) Preparación de 5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(2-morfolinil etioxil) fenil) sulfonil)-1H-pirrol-3-formaldehído (compuesto C)

La disolución del compuesto SM-3 (1,2 g, 6,5 mmol, 1 eq) en THF (15 ml) y su enfriamiento a 0 °C; la adición de NaH (0,4 g, 9,8 mmoles, 1,5 eq) y agitación durante 0,5 h a 0 °C; adición del Compuesto B (2 g, 6,5 mmol, 1 eq) y 15-corona-5 (2 g) en la mezcla de reacción agitando durante 0,5 h a temperatura ambiente; adición de agua; extracción con EA; evaporación de la capa orgánica para el aislamiento por cromatografía en columna, se obtiene de este modo el compuesto C (700 mg, 30% de rendimiento).

4) Preparación de 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(2-morfolinil etioxil)fenil)sulfonil)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 5)

La disolución del Compuesto C (0,7 g, 1,53 mmol, 1 eq) en alcohol metílico (5 ml); adición de solución alcohólica de metilamina (4 ml) y adición de ácido acético (2 ml) a 0 °C durante agitación durante 2 h; adición de cianoborohidruro de sodio (0,9 g, 15,3 mmol, 10 eq) y agitación durante 14 h; realización de la prueba de LC-MS para completar la reacción; adición de solución de bicarbonato sódico y su extracción con EA; evaporación de la capa orgánica, se obtiene de este modo el compuesto (EXP 5) (100 mg, 15% de rendimiento).

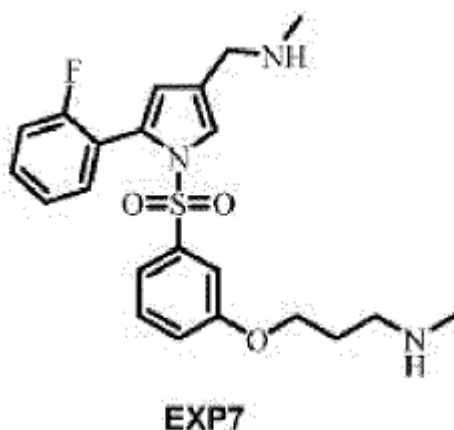
HPLC: 96,06%; MS (ESI) m/z: $[M + H]^+ = 474,6$; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, DMSO-d6) δ : 7,42-7,51 (m, 3H), 7,17-7,27 (m, 3H), 7,8-7,12 (m, 1H), 7,02 (d, 1H), 6,87 (s, 1H), 6,32 (s, 1H), 4,03 (t, 2H), 3,57 (t, 4H), 3,50 (s, 2H), 2,66 (t, 2H), 2,45-2,50 (m, 4H), 2,24 (s, 3H) ppm.

Realización 6: Preparación de 3-((2-(2-fluorobenceno)-4-((metilamino) metilen)-1H-pirrol-1-il)sulfonil)-N-(2-morfolinil etil) fenilamina (EXP 6)

Obtención del compuesto 3-((2-(2-fluorobenceno)-4-((metilamino) metilen)-1H-pirrol-1-il) sulfonil)-N-(2-morfolinil etil) fenilamina (EXP 6, 100 mg, 20% de rendimiento) por referencia al procedimiento de preparación en la realización 5.

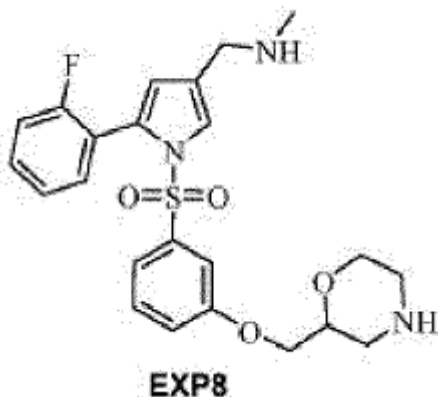
HPLC: 96,99%; MS (ESI) m/z: $[M + H]^+ = 473,6$; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, DMSO-d6) δ : 7,57 (d, 1H), 7,48 (q, 1H), 7,17-7,24 (m, 3H), 7,8-7,12 (m, 1H), 6,85 (d, 1H), 6,55-6,58 (m, 1H), 6,38 (s, 1H), 6,11 (t, 1H), 3,83 (s, 2H), 3,59 (s, 4H), 3,03 (q, 2H), 2,39-2,44 (m, 9H) ppm.

Realización 7: Preparación de 3-((2-(2-fluorobenceno)-4-((metilamino) metilen)-1H-pirrol-1-il)sulfonil) fenoxi)-N-metil-n-propilamina (EXP 7)



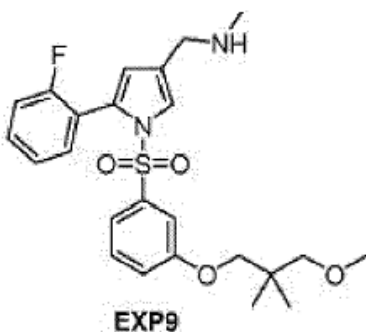
Obtención del compuesto 3-((2-(2-fluorobenceno)-4-((metilamino) metilen)-1H-pirrol-1-il) sulfonil)fenoxi)-N-metil-n-propilamina (EXP 7, 80 mg, 40% de rendimiento) por referencia al procedimiento de preparación en la realización 5. HPLC: 95,84%; MS (ESI) m/z: $[M + H]^+ = 432,2$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ : 7,40-7,51 (m, 3H), 7,18-7,25 (m, 3H), 7,3-7,13 (m, 1H), 6,83 (s, 1H), 6,31 (s, 1H), 3,39 (t, 2H), 3,46 (s, 2H), 2,59 (t, 2H), 2,29 (s, 3H), 1,81 (m, 2H) ppm.

Realización 8: Preparación de 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(morfolinil-2-il-metoxil)fenil)sulfonil)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 8)



Obtención del compuesto 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(morfolinil-2-il-metoxil)fenil)sulfonil)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 8, 100 mg, 20% de rendimiento) por referencia al procedimiento de preparación en la realización 5. HPLC: 95,75%; MS (ESI) m/z: $[M + H]^+ = 460,2$, $[M + Na]^+ = 482,2$; 1H -RMN (400 MHz, DMSO-d6) δ : 7,44-7,47 (m, 3H), 7,18-7,28 (m, 3H), 7,4-7,13 (m, 1H), 7,02 (d, 1H), 6,86 (s, 1H), 6,31 (d, 1H), 3,86 (d, 2H), 3,65-3,75 (m, 2H), 3,44-3,48 (m, 3H), 2,82-2,85 (m, 1H), 2,64-2,67 (m, 3H), 2,45-2,51 (m, 1H), 2,23 (s, 3H) ppm.

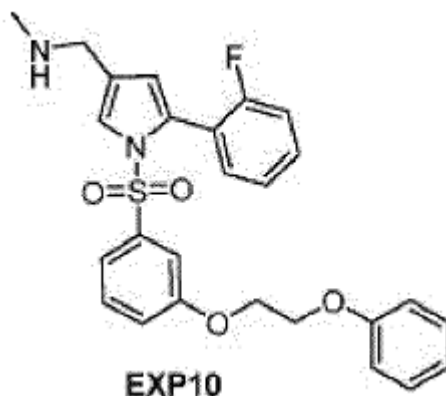
Realización 9: Preparación de 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(3-metoxi-2,2-dimetil propoxi)fenil)sulfonil)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 9)



Obtención del compuesto 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(3-metoxi-2,2-dimetil propoxi)fenil)sulfonyl)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 9, 59 mg, 15% de rendimiento) por referencia al procedimiento de preparación en la realización 1.

HPLC: 96,4%; MS (ESI) m/z: $[M + H]^+ = 461,5$; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7,85 (t, 1H), 7,68-7,75 (m, 3H), 7,46-7,49 (m, 2H), 7,27-7,35 (m, 2H), 6,80-6,83 (m, 1H), 6,34 (s, 1H), 3,79-3,85 (m, 4H), 3,61 (t, 2H), 3,26 (s, 3H), 2,38 (m, 3H), 0,89 (s, 6H) ppm.

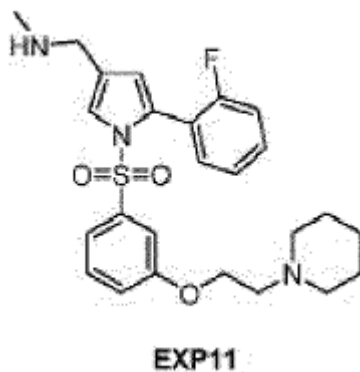
Realización 10: Preparación de 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(2-fenoxi etioxil)fenil)sulfonyl)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 10)



Obtención del compuesto 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(2-fenoxi etioxil)fenil)sulfonyl)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 10, 74 mg, 25% de rendimiento) por referencia al procedimiento de preparación en la realización 1.

HPLC: 98,4%; MS (ESI) m/z: $[M + H]^+ = 481,5$; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7,65-7,81 (m, 4H), 7,46-7,50 (m, 2H), 7,25-7,33 (m, 4H), 6,89-6,93 (m, 4H), 6,13 (s, 1H), 4,51 (s, 4H), 3,61 (s, 2H), 3,21 (s, 3H) ppm.

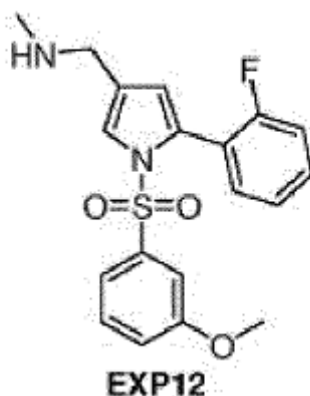
Realización 11: Preparación de 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(2-piperidin-1-il) etioxil)fenil)sulfonyl)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 11)



Obtención del compuesto 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(2-piperidin-1-il)etioxil) fenil) sulfonyl)-1H-pirrol-3-il)- N-metil metilamina (EXP 11, 174 mg, 35% de rendimiento) por referencia al procedimiento de preparación en la realización 1.

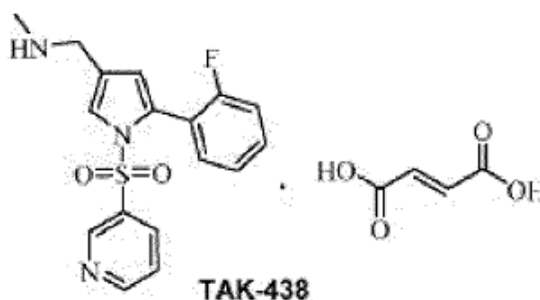
HPLC: 98,1%; MS (ESI) m/z: $[M + H]^+ = 472,6$; $^1\text{H-RMN}$ (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 7,48-7,72 (m, 3H), 7,18-7,32 (m, 3H), 7,10-7,15 (m, 2H), 6,87 (s, 1H), 6,23 (s, 1H), 4,03 (t, 2H), 3,50 (s, 2H), 2,66 (t, 2H), 2,41-2,52 (m, 4H), 2,28 (s, 3H), 1,37-1,51 (m, 6H) ppm.

Realización 12: Preparación de 1-(5-(2-fluorobenceno)-1-((3-(2-metoxi fenil) sulfonyl)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 12)



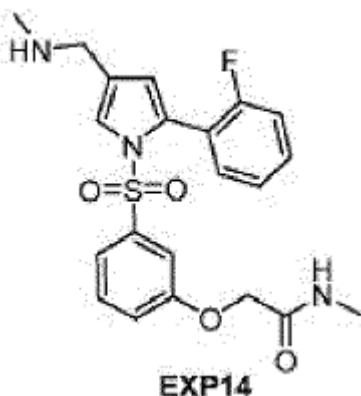
Obtención del compuesto 1-(5-(2-fluorobenzene)-1-((3-(2-metoxi fenil)sulfonyl)-1H-pirrol-3-il)-N-metil metilamina (EXP 12, 105 mg, 20% de rendimiento) por referencia al procedimiento de preparación descrito en la literatura WO 2006036024, Journal of Medicinal Chemistry (2012), 55 (9), 4.446-4.456.
HPLC: 95,4%; MS (ESI) m/z: [M + H]⁺ = 375,5.

Realización 13: Preparación de 5-(2-fluorofenil)-N-metil-1-(3-piridil sulfonyl)-1H-pirrol-3-metamina fumarato (TAK-438)



Obtención del compuesto 5-(2-fluorofenil)-N-metil-1-(3-piridil sulfonyl)-1H-pirrol-3-metamina fumarato (TAK-438, 5,0 g, 40% de rendimiento) por referencia al procedimiento de preparación descrito en la literatura WO 2006036024, Journal of Medicinal Chemistry (2012), 55 (9), 4.446-4.456.
HPLC: 99,8%; MS (ESI) m/z: [M + H]⁺ = 347,1; ¹H-RMN (500 MHz, DMSO-d₆) δ: 10,71 (s, 3H), 8,86 (dd, 1H), 8,55 (d, 1H), 7,83-7,85 (m, 1H), 7,78 (s, 1H), 7,55-7,60 (m, 1H), 7,46-7,50 (m, 1H), 7,13-7,19 (m, 1H), 7,7-7,10 (m, 1H), 6,49-6,51 (m, 3H), 3,94 (s, 2H), 2,50 (s, 3H) ppm.

Realización 14: Preparación de 2-(3-((2-(2-fluorofenil)-4-((metilamina)metil)-1H-pirrol-1-il)sulfonyl)fenoxi)-N-metilacetamida (EXP 14)



Obtención del compuesto 2-(3-((2-(2-fluorofenil)-4-((metilamina) metil)-1H-pirrol-1-il)sulfonyl)fenoxi)-N-metilacetamida (EXP 14, 50 mg, 40% de rendimiento) por referencia al procedimiento de preparación descrito en la literatura WO 2014075575.

HPLC: 96,4%; MS (ESI) m/z: [m + H]⁺ = 432,3; ¹H-RMN (400 MHz, DMSO-d₆) δ: 7,75 (s, 1H), 7,39-7,49 (m, 2H), 7,27-7,29 (m, 1H), 7,5-7,17 (m, 4H), 6,96 (s, 1H), 6,39 (d, 1H), 4,45 (s, 2H), 4,09 (s, 2H), 3,31 (s, 3H), 2,79 (s, 3H), 2,68 (s, 3H) ppm.

Caso de ensayo 1:

10 Evaluación biológica en H⁺/K⁺-ATPasa

Los siguientes ensayos de cribado in vitro se usan para evaluar el efecto inhibitor del compuesto de la invención sobre la actividad enzimática de H⁺/K⁺-ATPasa. Los materiales e instrumentos experimentales son los siguientes:

1) Microsomas de mucosa gástrica de conejo (H⁺/K⁺-ATPasa enriquecida; extraída por el solicitante)

15 2) 5-trisadenina ATP (Sigma-Aldrich: Art. No.: A2383)

3 Verde malaquita (Bailingwei Chemical Technology Co, Ltd.; Art. No.: 913120)

4) Molibdato de amonio (Bailingwei Chemical Technology Co., Ltd.; Art. No.: 128321)

5) Valinomicina (Bailingwei Chemical Technology Co., Ltd.; Art. No.: 227304)

20 Etapas experimentales:

Preparación de los reactivos:

1) Disolver el compuesto con DMSO hasta una concentración adecuada;

25 2) Solución tampón: HEPES-Tris 50 mmol/l, pH = 6,5, cloruro de magnesio 5 mmol/l, valinomicina 10 μmol/l;

3) Solución tampón: HEPES-Tris 50 mmol/l, pH = 6,5, cloruro de magnesio 5 mmol/l, valinomicina 10 μmol/l, cloruro de potasio 5 mmol/l

4) ATP: dilución de ATP a 5 mM con la solución tampón 1;

30 5) Solución de verde malaquita: disolución 0,12% de verde de malaquita en 2,5 mol/l de ácido sulfúrico; mezcla del 7,5% (v/v) de molibdato de amonio y 11% de Tween 20 (v/v) en una proporción de 100:25:2;

6) El procedimiento para la extracción de microsomas de la mucosa gástrica de conejo (H⁺/K⁺-ATPasa enriquecida) es la centrifugación en gradiente de sacarosa, es decir, lavado del estómago de conejo con agua del grifo y una solución de NaCl 3 M, respectivamente, y la eliminación de la humedad de la superficie con papel de filtro; adición de la solución tampón preenfriada (4 ml/g de tejido) para la homogeneización en un homogeneizador de tejidos durante

35 2-5 minutos; extracción de las partículas de tejido grandes en un modo de centrifugación (600 g, 10 mM), si lo hay, después de homogeneización; transferencia del sobrenadante a un tubo de centrífuga limpio para la centrifugación durante 30 min a 2000 g; a continuación, transferencia del sobrenadante a un tubo de centrífuga limpio para centrifugación adicional durante 90 min a 100.000 g; recogida del sedimento; suspensión del sedimento en el homogeneizado y su soplado para que sea uniforme; medición de la concentración de proteína con el procedimiento

40 de Bradford; ajuste de la concentración a 10 mg/ml; adición de fluido Ficoll demixing al 7,5% en una proporción igual para centrifugación durante 60 minutos a 100.000 g; recogida de la capa media (membranas gástricas enriquecidas con H⁺/K⁺-ATPasa) en un tubo de centrífuga limpio; su dilución con 4-5 veces de homogeneizado para su posterior centrifugación durante 90 min a 100.000 g; recogida del sedimento; suspensión del sedimento en el homogeneizado

45 para homogeneización con un homogeneizador de vidrio; medición de la concentración de proteínas con el procedimiento de Bradford y ajuste de la concentración a 22,5 mg/ml; su congelación bajo -80 °C para el reposo.

Proceso experimental:

50 La adición de 5 μL de microsomas de la mucosa gástrica (H⁺/K⁺-ATPasa) en 45 μL de solución tampón 2; la adición de 5 μL de la solución del compuesto; la adición de 5 μL de ATP 5 mM para iniciar la reacción para la prereacción a 37 °C durante 30 minutos; la adición de 15 μL de solución de verde de malaquita para terminar la reacción; equilibrio a temperatura ambiente durante 20 minutos; lectura del valor de la luz absorbida a 620 nm.

55 Mientras tanto, realización de otra reacción con el mismo volumen sin cloruro de potasio para el ruido de fondo, que se restará en el cálculo de la actividad enzimática.

El valor de IC₅₀ del compuesto se calcula a través de las proporciones de inhibición a diferentes concentraciones.

Resultado: el valor de IC₅₀ del compuesto

60 La mediana de la concentración inhibitoria (IC₅₀) del compuesto proporcionado por la invención, tal como se muestra en la Fórmula I con respecto a la actividad de la H⁺/K⁺-ATPasa

Tabla 1 La mediana de la concentración inhibitoria (IC₅₀) del compuesto con respecto a la actividad de H⁺/K⁺-ATPasa

65

TAK-438	EXP1	EXP2	EXP3	EXP4	EXP5	EXP6	EXP7	EXP8
+++	+++	++	++	+++	++	++	++	++
EXP9	EXP10	EXP11	EXP12	EXP13				
++	+++	+	+++	++				
+++ significa IC ₅₀ < 100 nM; ++ significa un alcance de 0,1-1 µM; + significa un alcance de 1-5 µM								

Caso de ensayo 2:

Estudios sobre el efecto de los compuestos EXP1, TAK-438 y EXP12 en el canal de potasio hERG

Sistema de prueba

1) Cultivo de células: la célula hERG se cultiva de una manera rutinaria, que se subcultivaron en un DMEM que contenía 10% de suero de ternera fetal y 250 µg/ml de G418.

2) Preparación de fluido: la composición del fluido extracelular utilizado en el experimento de "patch clamp" de células completas comprende (mM): NaCl 145, MgCl 21, KCl 4, glucosa 10, HEPES 10 y CaCl₂ 2; ajuste del valor de pH de NaOH a 7,4 y ajuste del valor de la presión osmótica a 300 mOsm con sacarosa. La composición del fluido intracelular comprende (mM): KCl 140; MgCl 21; EGTA 5; HEPES 10 y Na₂ATP 4; ajuste del valor de pH de KOH a 7,2 y ajuste del valor de la presión osmótica a 290 mOsm con sacarosa.

Composición principal del fluido extracelular e intracelular

Reactivo	Fluido extracelular (mM)	Fluido intracelular (mM)
CaCl ₂	2	-
MgCl ₂	1	1
KCl	4	140
NaCl	145	-
Glucosa	10	-
HEPES	10	10
EGTA	-	5
Na ₂ ATP	-	4
pH	7,4 (ajustado con NaOH), osmolaridad -300 mOsm	7,2 (ajustado con KOH), osmolaridad -290 mOsm

Procedimiento de prueba

1) Registro electrofisiológico: sacar una placa de cultivo para cada ensayo; lavarla con el fluido extracelular dos veces y colocarla sobre la platina del microscopio invertido. El experimento de "patch clamp" de células completas se lleva a cabo a temperatura ambiente; la resistencia en la punta del microelectrodo del vidrio de borosilicato utilizado es 3 - 5 MQ.

2) Plan de estímulo de tensión y registro de corriente: restringir el potencial de membrana a -80 mV en el modo de registro de célula completa; proporcionar + 50mV de estímulo de tensión despolarizada a la célula cada 30 s y duración de 2s, a continuación repolarizarla a -50 mV y una duración de 3 segundos, de este modo, la corriente de cola de hERG se puede extraer. Proporcionar 50 ms, -50 mV de tensión repolarizada a la célula antes de un estímulo de tensión despolarizada; la corriente registrada en dicha tensión es como la línea de base para el cálculo de la corriente de cola de hERG. Sólo las células que cumplen con el estándar de registro pueden ser utilizadas en la prueba de los compuestos a ensayar. La corriente de cola de hERG debe ser registrada de forma estable durante al menos 3 min en el fluido extracelular antes de añadir el compuesto. Después de la perfusión de los medicamentos, se puede considerar que el efecto del fármaco alcanza un estado estacionario si el cambio de la amplitud de corriente de cola de hERG es menor que 5%. Si la corriente no llega a un estado estacionario en 6 min, la prueba también debe terminarse.

3) Prueba estándar: la resistencia de la membrana en el experimento debe ser más de 1.000 MQ. La corriente inicial debe ser más que 300 pA. La resistencia en serie debe ser inferior a 12 MQ después de construir el modo de registro de células completas. La corriente de fuga es de menos del 10% de la corriente de canal iónico (tomando -80 pA como el valor de pico).

Análisis de los datos

Utilización de Clampex 10.2 para registrar los datos originales y guardar los datos en el formato * abf. Utilización de pCLAMP 10.1 para llevar a cabo la recogida y análisis de datos. Selección de 4-5 barridos cuando la corriente se encuentra en un estado estacionario antes de añadir el compuesto; cálculo del valor máximo promedio para servir como amplitud de corriente contrastada. Selección de 4-5 barridos cuando la corriente se encuentra en un estado

estacionario después se añadir el compuesto; cálculo del valor máximo promedio para servir como la amplitud residual de la corriente inhibida. La relación de inhibición del compuesto a ensayar con respecto a la corriente de hERG se calcula según la ecuación:

$$5 \quad \% \text{ relación de inhibición} = \{1 - (\text{amplitud de corriente residual}) / (\text{amplitud de corriente contrastada})\} * 100$$

Después de obtener la relación de inhibición (valor promedio $\pm$ desviación estándar) del compuesto a ensayar con respecto a la corriente de hERG de diferentes concentraciones mediante el procedimiento de computación anteriormente, los datos con la ecuación logística deben ajustarse para obtener el valor de IC₅₀.

10

Resultados del experimento

Tabla 2 Resultados de inhibición de EXP 1, TAK-438 y EXP 12 con respecto a la corriente de hERG

Nombre del compuesto	Concentración de ensayo máxima	Relación de inhibición de la concentración de ensayo máxima	Valor de IC ₅₀
EXP1	100 μ M	86,21 $\pm$ 1,67%	18,69 M
TAK-438	100 μ M	88,23 $\pm$ 3,18%	15,93 M
EXP12	30 μ M	90,33 $\pm$ 2,16%	3,95 M

15 Caso de ensayo 3:

Estudios sobre el efecto de EXP 1, TAK-438 y EXP 14 sobre la secreción de ácido gástrico inducida por histamina

20 Materiales experimentales

1) Animales

25 Rata SD, clase SPF, macho, 180-220 g; proporcionada por Zhejiang Experimental Animal Center; permiso de producción No. SCXK (Z) 2014-0001.

2) Fármacos y reactivos

30 Compuesto EXP 1, disuelto con una pequeña cantidad de ácido acético (aproximadamente 1,10 N de EXP 1), solución al 0,9% de cloruro de sodio hasta un líquido claro con concentración necesaria antes de su uso.

Compuesto TAK-438, disuelto con una solución de cloruro sódico al 0,9% hasta un líquido claro con concentración necesaria antes de su uso.

35 Compuesto EXP14, disuelto con una pequeña cantidad de ácido acético (aproximadamente 1,10 N de EXP 14), solución de cloruro sódico al 0,9% hasta un líquido claro con concentración necesaria antes de su uso.

Solución de cloruro de sodio al 0,9%, proporcionada por Anhui Double-Crane Pharmaceutical Co., Ltd.; lote n°: 131202. diclorhidrato de histamina: Aladdin; lote n°: H110868.

40

Hidrato de cloral: proporcionado por Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd.; lote n°: 20130314; preparado en una solución de hidrato de cloral al 3% con solución de cloruro sódico al 0,9%.

45 Fenoltaleína: proporcionada por Sinopharm Chemical Reagent Co., Ltd.; lote n°: F20110125; preparada en solución de fenoltaleína al 3% con alcohol etílico al 95%.

3) Instrumento

Balanza electrónica: producida por Beijing Sartorius Scientific Instruments Co., Ltd.

50

Centrífuga: producida por Medical Equipment Factory of Shanghai Medical Instruments Co., Ltd.

Bureta álcali: proporcionada por Analysis & Research Office of China Medicine University

55 Procedimiento y resultados

Obtención de 60 ratas SD de clase SPF con un peso de 180-220 g; división de las ratas en 5 grupos por peso al azar, incluyendo el grupo EXP 1 (2 mg/kg), Grupo TAK-438 (2 mg/kg, por álcali libre), Grupo EXP 14 (2 mg/kg), Grupo de control negativo (solución salina normal de igual volumen) y Grupo control modelo (solución salina normal de igual

volumen); 12 ratas por grupo. Dieta absoluta durante 24 horas, se permite agua. Después de 24 h, administración de medicamentos a los grupos de compuestos ensayados A, B y C por medio de una sonda con un volumen de 1 ml/100 g; cada grupo se administra una vez; los grupos de control negativo y de control negativo modelo son administrados mediante sonda con solución salina normal de igual volumen. Narcotización de la rata con 300 mg/kg de hidrato de cloral (1 ml/100 g) y su fijación sobre el tablero para ratas; corte para abrir la pared abdominal a lo largo de la línea medioventral del cartílago mucronate con una incisión de 2-3 cm; empuje ligeramente del margen costal izquierdo hacia arriba para exponer el estómago en la incisión. Ligadura del píloro bajo el mismo (dejar solo los vasos sanguíneos adyacentes) y a continuación sutura de la incisión abdominal. Proporción de dihidrocloruro de histamina (30 mg/10 m/kg) hipodérmicamente a la rata 1 hora después de administrar el compuesto ensayado o solución salina normal. Asfixia de la rata hasta la muerte con CO₂ en exceso 3 h después de proporcionar histamina; extracción del estómago y recogida de los contenidos gástricos para centrifugación a 3000 rpm/min; ajuste del valor de pH del fluido ácido a 7,0 con 0,1 mol/litro de valoración con NaOH y cálculo a continuación del contenido de ácido total de las 3 h. Se hace referencia a la Tabla 3 para los resultados.

Tabla 3 El efecto del compuesto ensayado sobre la secreción de ácido gástrico inducida por histamina

Grupos	Dosis (mg/kg)	Contenido de ácido total (10 ⁻⁴ mol)	Tasa % de inhibición del ácido
Control negativo	/	0,33 ± 0,12	/
Control modelo	/	1,09 ± 0,18	/
EXP1	2	0,49 ± 0,12**	55,4
TAK-438	2	0,52 ± 0,10**	52,3
EXP14	2	0,65 ± 0,20**	40,4

Nota: * p<0,05, **p<0,01; en comparación con grupos modelo

Caso de ensayo 4:

Informes del ensayo de toxicidad aguda para sonda en ratas con compuestos EXP 1 y TAK-438

Fármacos: Compuesto EXP 1 (aproximadamente 1,10N de EXP 1), TAK-438 (la dosis de administración proporciona por álcali libre)

Contenido del ensayo: dosis de administración individual: 2000 mg/kg, 600 mg/kg; administración por sonda: una vez; volumen: 10 ml/kg; observación durante 14 días para el comportamiento de la rata y peso cada día.

Animales: ratas SD, clase SPF, 180-220 g; proporcionadas por Zhejiang Experimental Animal Center; certificado animal no.: SCXK (Z) 2014-0001.

Agrupación Experimental: grupo negro, Grupo de 600 mg/kg, Grupo de 2000 mg/kg; 4 ratas cada grupo; la mitad machos y la mitad hembras. Resultados del experimento:

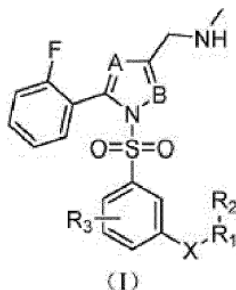
EXP 1, dosis oral única de 600 mg/kg o 2000 mg/Kg; sin muerte. En cuanto a la dosis oral única de 600 mg/Kg, el impacto en el peso de la rata no es obvio.

TAK-438: 2000 mg/kg: todas murieron; 600 mg/kg: inhibición de la ganancia de peso.

Para los fines de elaboración y comprensión, la invención anterior se describe en detalle en combinación con ejemplos y realizaciones. Es obvio para una persona experta en la técnica que se pueden realizar modificaciones y mejoras dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas. Por lo tanto, debe entenderse que la descripción anterior es para ilustración en lugar de limitación. De este modo, el alcance de la invención debe determinarse por referencia al alcance completo de las reivindicaciones adjuntas y el equivalente autorizado por las reivindicaciones, pero no a la memoria anterior.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto con una estructura tal como se muestra en la Fórmula (I), o su tautómero, mesómero, racemato, enantiómero, diastereoisómero, o su forma de mezcla o sal farmacéuticamente aceptable:



en la que

A y B se seleccionan independientemente entre N o CR₄; R₄ se selecciona entre hidrógeno, halógeno y alquilo;

X se selecciona entre O y NR₅; R₅ se selecciona entre hidrógeno y alquilo;

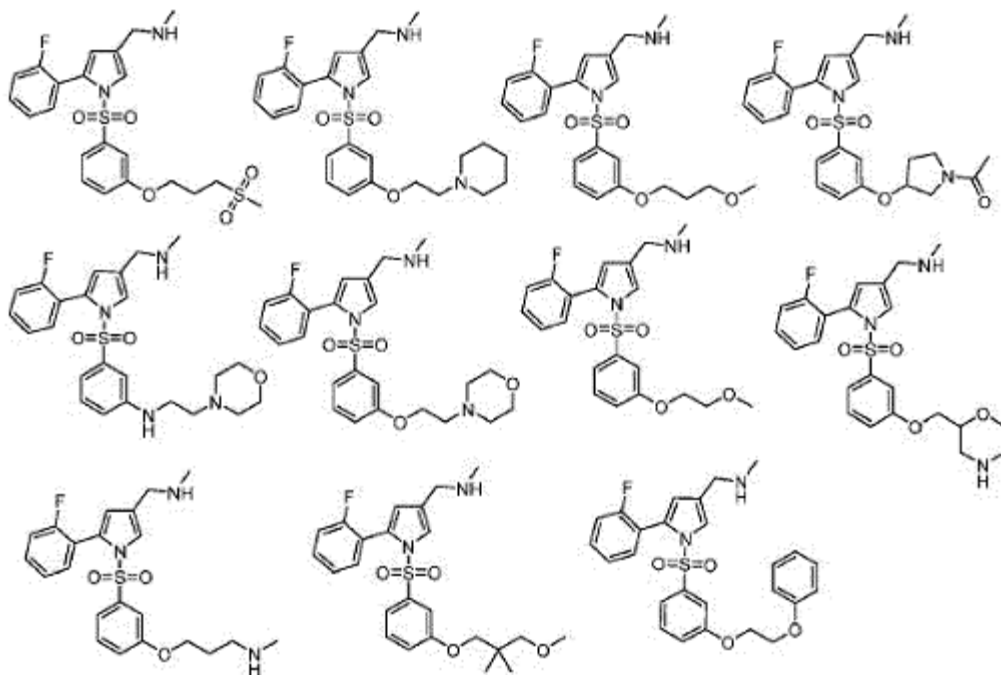
R₁ se selecciona entre alquilo y alquilo heterocíclico; en el que dicho alquilo y alquilo heterocíclico están sustituidos adicionalmente por uno o más sustituyentes seleccionados entre hidrógeno, halógeno y alquilo; alquilo puede estar no sustituido o sustituido por halógeno, alqueno C₂-C₆, arilo C₆-C₁₀, heteroarilo C₅-C₁₀, alquilo C₁-C₆ halogenado, heteroalquilo de 4-8 elementos, hidroxilo, alcoxi C₁-C₆ y arilo C₆-C₁₀;

R₂ se selecciona entre alquil sulfonilo, alquilo heterocíclico, alcoxi, alquil acilo, fenoxi y alquil amino; en el que dicho alquil sulfonilo, alquilo heterocíclico, alcoxi, alquil acilo, fenoxi y alquil amino están sustituidos adicionalmente por uno o más sustituyentes seleccionados entre hidrógeno, halógeno y alquilo; y

R₃ se selecciona entre hidrógeno, halógeno y alquilo.

2. Compuesto, según la reivindicación 1, en el que A y B se selecciona entre CR₄; R₄ se selecciona entre hidrógeno.

3. Compuesto, según la reivindicación 1 o 2, en el que dicho compuesto se selecciona entre cualquiera de los siguientes compuestos:



4. Composición farmacéutica; dicha composición farmacéutica contiene una dosis eficaz del compuesto, según cualquiera de las reivindicaciones 1-3, o su tautómero, mesómero, racemato, enantiómero, diastereoisómero, o su forma de mezcla o sal farmacéuticamente aceptable y portadores, excipientes o diluyentes aceptables para la medicina.

5. Composición farmacéutica, según la reivindicación 4, para usar como un inhibidor de la secreción de ácido gástrico.

5 6. Composición farmacéutica para usar, según la reivindicación 5, mediante la cual el uso es en el tratamiento o la
prevención de la úlcera péptica, síndrome de Zollinger-Ellison, gastritis, esofagitis erosiva, esofagitis por reflujo,
enfermedad por reflujo gastroesofágico sintomático, esofagitis de Barrett, dispepsia funcional, infección por
10 helicobacter pylori, cáncer gástrico, linfoma gástrico MALT, anabrosis causada por fármacos anti-inflamatorios no
esteroideos (NSAID), o hiperacidez o anabrosis debida al estrés postoperatorio; o el procedimiento para preparar el
medicamento para inhibir el sangrado gastrointestinal causado por úlcera péptica, úlcera de estrés agudo, gastritis
hemorrágica o estrés invasivo.

15 7. Composición farmacéutica para usar, según la reivindicación 6, en la que dicha úlcera péptica comprende úlcera
gástrica, úlcera duodenal o úlcera marginal; dicha enfermedad por reflujo gastroesofágico sintomático comprende la
enfermedad por reflujo no erosivo o enfermedad por reflujo gastroesofágico sin esofagitis.