

53180

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

E S D

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicacion: 02013030 00000003 Folios 202
Fecha (RMD): 2002-06-04 15:15:45
Tramite: 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 444 RESPUESTA
Removiendo: 5000 ATENCION DE NUEVAS CREACIONES

Re Expediente No 02013030

Solicitud de patente

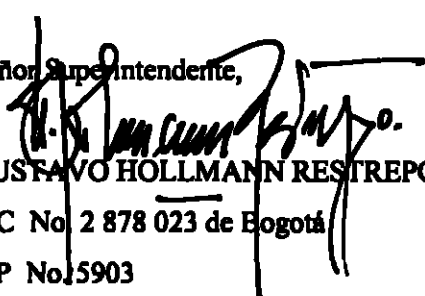
Solicitante AVENTIS PHARMACEUTICALS INC

Yo, GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO, vecino de Bogota D.C., portador de la tarjeta profesional No 5903, obrando como apoderado en este negocio, digo a usted que doy respuesta parcial al auto No 9640 notificado por estado el 21 de marzo de 2002, en los siguientes términos

- 1 El lugar de constitución de la sociedad es Somerset Corporate Boulevard, Bridgewater, New Jersey, Estados Unidos de América
- 2 Acompaño el documento de poder de la sociedad AVENTIS PHARMACEUTICALS INC, domiciliada en Somerset Corporate Boulevard, Bridgewater, New Jersey, Estados Unidos de América, en el que consta la existencia, constitución y representación legal de la sociedad y el cual me faculta para obrar en este caso, debidamente traducido y legalizado, en fotocopia autenticada
- 3 Acompaño la traducción al castellano de la memoria descriptiva y reivindicaciones

El termino para presentar la documentación faltante vence el próximo 19 de julio, lo cual haremos antes de esta fecha

Señor Superintendente,


GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO

C C No 2 878 023 de Bogotá

T P No 5903

291

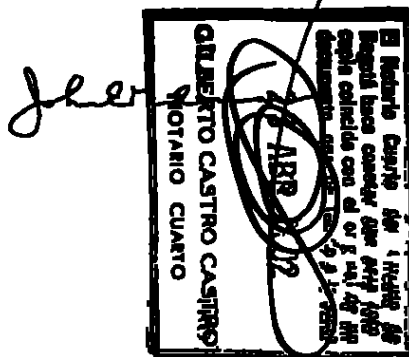
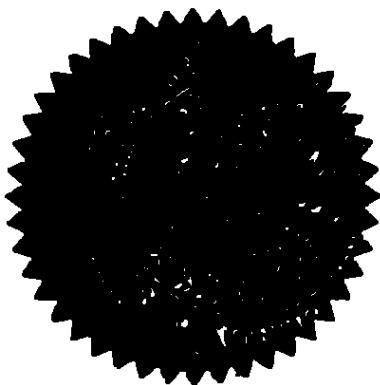
APOSTILLE

(CONVENTION DE LA HAYE DU 5 OCTOBRE 1961)

- 1 COUNTRY UNITED STATES OF AMERICA
- 2 THIS PUBLIC DOCUMENT HAS BEEN SIGNED BY
R PETER WIDIN
- 3 ACTING IN THE CAPACITY OF
COUNTY CLERK
- 4 BEARS THE SEAL/STAMP OF
COUNTY OF SOMERSET

CERTIFIED

- 5 AT TRENTON, NEW JERSEY
- 6 THE 9TH DAY OF APRIL 2002
- 7 BY John E McCormac, CPA, NEW JERSEY TREASURER
- 8 NO A149012
- 9 SEAL/STAMP
- 10 SIGNATURE



**G HOLLMANN RESTREPO
ABOGADOS LTDA**

The undersigned, acting on behalf of and representing of AVENTIS PHARMACEUTICALS INC, domiciled in 300 Somerset Corporate Boulevard, Bridgewater, New Jersey, USA, hereby appoint(s) GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO and/or LUIS PATIÑO LEYVA, domiciled in Bogotá D.C., Republic of Colombia as our true and legal attorney with the necessary powers

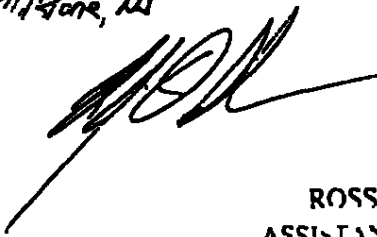
1) To apply to the administrative, judicial and police authorities of the Republic of Colombia, in any instance or appeal, for obtaining registration of patents, utility models, industrial designs and models, commercial emblems and names, trademarks, slogans, health licenses, copyrights and domain names as well as their assignments, extensions, renewals and changes of name, 2) To prepare, apply for, obtain, execute and register contracts, licenses, authorizations and registrations of any kind 3) To intervene as plaintiff or defendant, in any instance or appeal, before any judge, court, tribunal, corporation, public officer or authority in any judicial, administrative or police action, such as action dealing with commercial emblems and names, oppositions against trademark registrations, caducity and nullity actions, recovery actions, actions arising from obtainment and working of license agreements, actions dealing with unfair competition, criminal actions, actions claiming indemnity for damages, complaints or remarks on all sort of industrial property matters, the performance of precautionary measures, and in any other similar action measure or appeal related to intellectual property matters

To this effect, I (we) hereby authorize him to file applications, make descriptions protests, amendments, declarations oppositions, cancellations, appeals and claims, to pay taxes, quotas and fees as provided by Law, to waive or abandon granted rights or rights in process of being granted to receive all kind of documents and securities to issue the respective releases and, in general, to take, before said authorities, pertinent steps to the above mentioned purposes and take all measures they may deem advisable to protect my (our) interests with all other necessary legal faculties and I (we) hereby declare as good and valid whatever the attorneys should do to my (our) benefit

This power comprises the authority to ratify or confirm on my (our) behalf any action as well as the faculty of receiving, desisting, transacting, compromising, substituting and revoking substitutions taking notifications, and appointing judicial or extra-judicial attorneys

Signed in on this 1st day of March of 2002

East M. H. G. R.



ROSS J OFILI FR
ASSISTANT SECRETARY

**G. HOLLMANN RESTREPO
ABOGADOS LTDA**

Yo (nosotros)

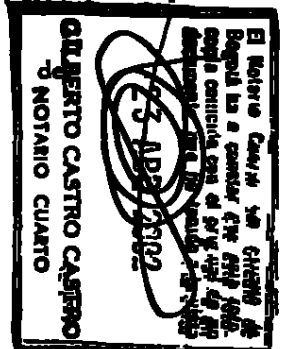
, obrando en nombre propio y representación de AVENTIS PHARMACEUTICALS INC, con domicilio en 300 Somerset Corporate Boulevard, Bridgewater, New Jersey, Estados Unidos de América, nombro(amos) a GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO y/o LUIS PATIÑO LEYVA, con domicilio en Bogotá D.C., Republica de Colombia, Cra 11^a No 94-76, Oficina 308, apoderado verdadero y legal, con poder especial, amplio y suficiente

1) Para recabar de las oficinas y autoridades colombianas administrativas judiciales y de policía en cualquier instancia o recurso, la obtención de patentes de invención modelos de utilidad, dibujos y modelos industriales, registro de marcas, registro de lemas comerciales, depósito de nombres y enseñanzas comerciales, registros sanitarios, derechos de autor y nombres de dominio así como sus traslados, prórrogas renovaciones y cambios de nombre; 2) Elaborar tramitar solicitar, obtener, realizar, ejecutar y registrar contratos, licencias autorizaciones y registros de cualesquiera clases 3) Intervenir como demandante o como demandado en cualquier instancia y recurso y ante cualquier juez, entidad, corporación, funcionario público o autoridad en acciones judiciales, administrativas y de policía, tales como acciones derivadas de nombre o enseña comerciales, acciones reivindicatorias, acciones derivadas de la obtención o explotación de licencias, acciones de competencia desleal, demandas penales y civiles acciones de indemnización de perjuicios, reclamos, u observaciones a cualquier asunto sobre propiedad intelectual, al ejercicio de medidas cautelares y cualesquiera otras acciones, medidas o recursos similares relacionados con la propiedad intelectual

A este efecto lo facultamos para elevar solicitudes, formular descripciones, enmiendas, protestas, declaraciones oposiciones, cancelaciones apelaciones y reclamos, pagar impuestos cuotas y gravámenes prescintos por la Ley, renunciar o desistir a derechos concedidos o en curso de concesión, recibir toda clase de documentos y valores dando al descargo respectivo, y en general, para dar ante dichas autoridades todos los pasos necesarios al efecto indicado y tomar todas las medidas que creyeren conducentes al resguardo de sus (nuestros) intereses, con todas las facultades necesarias, y por este documento desde ahora declaro(amos) valido y bueno todo cuanto los apoderados hicieren en mi (nuestro) beneficio

Este poder comprende la facultad de ratificar, o confirmar en mi (nuestro) nombre lo actuado, así como la facultad de recibir, desistir transigir comprometer, sustituir y revocar sustituciones, recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales

Firmado en el de



NOTARIAL CERTIFICATE (Corporation)

UNITED STATES OF AMERICA)
STATE OF NEW JERSEY) ss
COUNTY OF SOMERSET)

On this 1st day of March, 2002, personally appeared before me Ross J Oehler, Assistant Secretary known or identified to me to be the individual described in and who executed the foregoing document Power of Attorney, and acknowledged the same as a free act and deed for uses and purposes therein expressed by authority of the said Corporation incorporated under the laws of the State of Delaware United States of America

I further certify that said authority dated November 29, 2000 is based on a Resolution of the Board of Directors of said Corporation, which I have seen, appointing the said individual Attorney-in-fact with full power to sign the foregoing document on behalf of the said Corporation and that the purposes for which said document is granted are within the scope of the objects or activities of said Corporation,

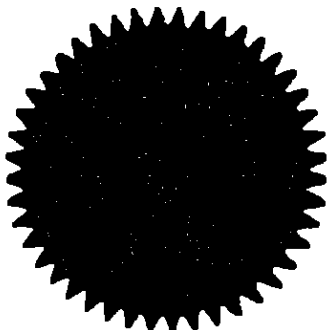
SEAL

Nancy J Ingram
Notary Public

Nancy J Ingram
Notary Public, State of New Jersey
My Commission Expires August 2, 2004

Notary Signature
Print or Type Name
of Notary Commission

STATE OF NEW JERSEY }
COUNTY OF SOMERSET }



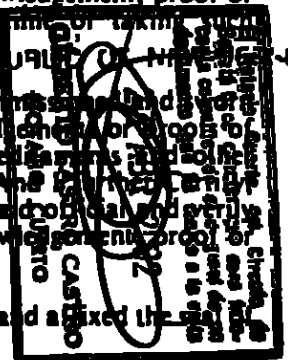
I, PETER R WIDIN Clerk of the County of Somerset and also Deputy Clerk of the Superior Court in and for said County the same being a Court of Record, Do Hereby Certify, that

Nancy J Ingram
whose name is subscribed to the certificate of acknowledgement, proof or affidavit of the annexed instrument was at the time of taking such acknowledgement proof or affidavit a

NOTARY PUBLIC OF NEW JERSEY
in and for said State, duly appointed, qualified, commissioned and authorized by law to take affidavits, acknowledgements or proofs of deeds or conveyances for lands tenements or hereditaments and other instruments in writing in said State of New Jersey And I further certify that I am well acquainted with the handwriting of said individual and do hereby believe the signature to the said certificate of acknowledgement proof or affidavit is genuine

In Testimony Whereof, I have hereunto set my hand and affixed the seal of said County on

APR - 5 2002 R PETER WIDIN Clerk
by *Deborah K Anderson* Special Deputy Clerk

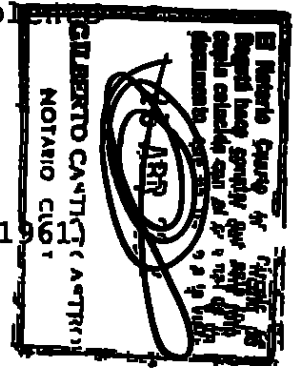


ESTADO DE NEW JERSEY,,CONDADO DE SOMERSET "

Yo, Peter S Widin, Secretario del Condado de Somerset y Secretario Suplente de la Corte Superior de dicho Condado, la cual es una Corte de Registro, certifico que Nancy J Ingram, cuyo nombre aparece suscrito al certificado de reconocimiento, prueba o declaración del instrumento adjunto, era en el momento de tomar tal reconocimiento, prueba o declaración Notaria Pública en y para el Estado de New Jersey, debidamente nombrada, calificada, comisionada y juramentada y autorizada por la ley para tomar declaraciones, reconocimientos o pruebas de escrituras o trasposos de tierras, tenencias o herencias y otros instrumentos escritos en el mencionado Estado Y certifico además que conozco bien la firma de dicha funcionaria y estoy convencido de que la firma que aparece en el mencionado certificado de reconocimiento, prueba o declaración es genuina

En testimonio de lo cual coloco mi firma y el sello del Condado el día de hoy 5 de Abril del 2002

R Peter Widin, Secretario
Deborah L Anderson, Secretaria Especial Suplente
(Firma y Sello Oficial)



APOSTILLA

(Convención de La Haya del 5 de Octubre de 1961)

- 1 País Estados Unidos de América
- Este documento público
- 2 Ha sido firmado por R Peter Widin
- 3 En su calidad de Secretario del Condado
- 4 Y lleva el sello del Condado de Somerset

Confirmado

- 5 En Trenton, New Jersey
- 6 El día Abril 9/2002
- 7 Por John E McCormac, CPA, Tesorero de New Jersey
- 8 Bajo el No A149012
- 9 Sello Secretaria de Estado de New Jersey
- 10 Firma (ilegible)

M Méndez S

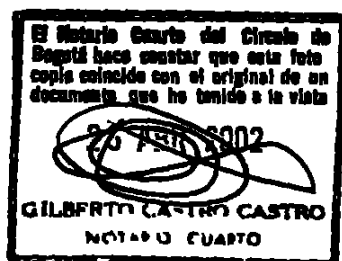
MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

223893
JTA Mendez
CUYA FIRMA APARECE EN EL
DOCUMENTO QUE SE EMPLEA
LAS FUNCIONES INDICADAS

NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

2002 APR 22 P 12 19

JEFE DE DELEGACIONES
SANTAFE DE BOGOTA D.C.



295
326

TRADUCCION OFICIAL DEL INGLES de las certificaciones y la
Apostilla adjuntas al poder que la compañía AVENTIS PHARMACEU-
TICALS INC domiciliada en Bridgewater, New Jersey, E U A ,
otorga a Gustavo Hollmann Restrepo y/o Luis Patiño Leyva

CERTIFICADO NOTARIAL (Sociedad)

ESTADOS UNIDOS DE AMERICA

ESTADO DE NEW JERSEY

CONDADO DE SOMERSET

El día 1° de Marzo del año 2002 ante la suscrita Notaria com-
pareció personalmente Ross J Oehler, Secretario Suplente,
quien yo sé o quien comprobó ante mí que es la persona mencio-
nada en el adjunto poder y quien lo ejecutó, y él reconoció
haber ejecutado dicho instrumento como un acto libre y volun-
tario destinado para los usos y propósitos allí expresados en
virtud a la autoridad que le concede la mencionada sociedad,
la cual está incorporada de conformidad con las leyes del Es-
tado de Delaware, Estados Unidos de América

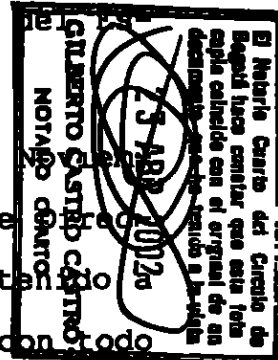
Certifico además que dicha autoridad, fechada el 29 de
bre del 2000, se basa en una resolución de la Junta de
tores de la mencionada sociedad, documento que yo he tenido
la vista, nombrando a la mencionada persona apoderado con todo
poder para firmar el instrumento adjunto en nombre de dicha
sociedad, y que los propósitos para los cuales se otorga dicho
instrumento se encuentran dentro del alcance de los objetivos
o actividades de la mencionada corporación

Nancy J Ingram

Notaria Pública del Estado de New Jersey

Mi comisión expira Agosto 2 del 2004

(Firma y Sello Oficial)



NUEVOS DERIVADOS HETEROCICLICOS DE UREA Y SU USO COMO LIGANTES DEL RECEPTOR D₃ DE DOPAMINA

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

La invención expuesta se relaciona con derivados heterociclicos que selectivamente se enlazan al receptor D₃ de dopamina. Generalmente se considera que los efectos terapéuticos de los agentes antipsicóticos disponibles en la actualidad (neurolepticos) se ejercen mediante el bloqueo de receptores D₂, sin embargo, se cree que este mecanismo también es responsable de efectos secundarios extra-piramidales (eps) asociados con muchos agentes neurolepticos. Sin querer estar limitado por la teoria, se ha sugerido que el bloqueo del receptor D₃ de Dopamina puede dar lugar a actividad antipsicótica beneficiosa sin eps significativos (ver por ejemplo Sokoloff et al, *Nature*, 1990, 347: 146-151, y Schwartz et al, *Clinical Neuropharmacology*, vol 16, No 4, 295-314, 1993). Este receptor se encuentra en gran abundancia en regiones del cerebro asociadas con funciones emocionales y cognitivas. Los compuestos que se enlazan al receptor D₃ de dopamina son utiles en el tratamiento de ciertos trastornos del sistema nervioso central. Estos trastornos del sistema nervioso central incluyen los siguientes indicios:

1) Psicosis (incluyendo la esquizofrenia) – Ver, por ejemplo, *Biochem Pharmacol*, 1992, 3(4), 659-66, *Clin Neuropharmacol*, 1993, 16(4), 295-314,

Neuropsychopharmacology, 1997, 16(6), 375-84, *Am J Psychiatry*, 1999, 156(4), 610-616, *Psychopharmacology (Berl)*, 1995, 120(1), 67-74

2) Dependencia de sustancias y abuso de sustancias- Ver, por ejemplo, *Neuroreport*, 1997, 8(9-10), 2373-2377, *J Pharmacol Exp Ther*, 1996, 278(3), 1128-37, *Brain Res Mol Brain Res*, 1997, 45(2), 335-9

3) Trastornos del Estado de Animo (incluyendo mania, Trastornos depresivos y Trastornos bipolares)- Ver, por ejemplo, *Clin Neuropharmacol*, 1998, 21(3), 176-80, *Am J Med Genet*, 1998, 81(2), 192-4, *J Clin Psychiatry*, 1995, 56(11), 514-518, *J Clin Psychiatry*, 1995, 56(9), 423-429, *Am J Med Genet*, 1995, 60(3), 234-237, *Pharmacopsychiatry*, 1999, 32(4), 127-135, *J Affect Disord*, 1999, 52(1-3), 275-290, *Am J Psychiatry*, 1999, 156(4), 610-616

4) Trastornos disquinéticos (incluyendo la enfermedad de Parkinson, el Parkinsonismo, la Disquinesia Tardia Inducida Neurolépticamente y el Síndrome de Gilles de la Tourette- Ver, por ejemplo, *Clin Neuropharmacol*, 2000, 23(1), 34-44, *Eur J Pharmacol*, 1999, 385(1), 39-46

5) Trastornos del sueño (incluyendo la narcolepsia)- El agonista D₃ pramipexol causa narcolepsia Un D₃ antagonista sería útil para revertir este efecto secundario no deseable Ver *Aust Fam Physician*, 1999, 28(7), 737, *Neurology*, 1999, 52(9), 1908-1910

6) Trastornos de ansiedad (incluyendo Trastornos obsesivo compulsivos)- Ver, por ejemplo, *Physiol Behav*, 1997, 63(1), 137-141, *J Clin Psychiatry*, 1995, 56(9), 423-429, *J Psychiatry Neurosci*, 2000, 25(2), 185, *J Affect Disord*, 1999, 56(2-3), 219-226

7) Nausea – Los antagonistas de dopamina se usan solos y en combinación con antagonistas 5HT₃ Ver, por ejemplo, *Support Care Center*, 1998, 6(1), 8-12, *Support Care Center*, 2000, 8(3), 233-237, *Eur J Anaesthesiol*, 1999, 16(5), 304-307

8) Demencia- Ver, por ejemplo, *Behav Brain Res*, 2000, 109(1), 99-111, *Neuroscience*, 1999, 89(3), 743-749

Los ligantes del receptor D₃ de dopamina son también útiles para el tratamiento de la disfunción renal (Ver WO 200067847)

RESUMEN DE LA INVENCION

Esta invención se relaciona con una clase de compuestos y sales farmacéuticamente aceptables de ellos que son moduladores selectivos del receptor D₃ de dopamina. Los compuestos pueden actuar como agonistas, agonistas parciales, antagonistas o moduladores alostéricos de los receptores D₃ de dopamina, y son útiles para una variedad de aplicaciones terapéuticas.

En otro aspecto, la invención se relaciona con un método para tratar trastornos del sistema nervioso central asociados con la actividad del receptor D₃ de dopamina en un paciente con necesidad de tal tratamiento, que comprende administrar al sujeto una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto descrito aquí para aliviar tal desorden. Las condiciones o trastornos del sistema nervioso central que se pueden tratar con estos compuestos incluyen Trastornos Psicóticos, Dependencia de Sustancias, Abuso de Sustancias, Trastornos Disquinéticos (por ejemplo, Enfermedad de Parkinson, Parkinsonismo, la Disquinesia Tardía Inducida Neurolepticamente, el Síndrome de Gilles de la Tourette y la Enfermedad de Huntington), Náusea, Demencia, Trastornos de Ansiedad, Trastornos del Sueño, Trastornos del Ritmo Circadiano y Trastornos del Estado de Ánimo.

En otro aspecto adicional, el invento expuesto está dirigido hacia una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto descrito aquí con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable en conjunción con uno o más antagonistas de receptor D₁ D₂, D₄, D₅ de dopamina o 5HT

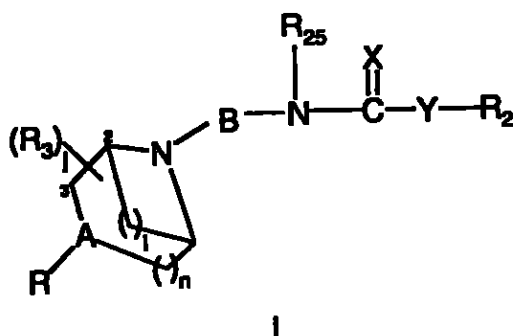
En otro aspecto adicional, el invento expuesto está dirigido a procesos para la preparación de la clase de compuestos descritos aquí

También dentro del alcance de esta invención están métodos para usar estos novedosos compuestos como agentes que reproducen la imagen de los receptores D₃ de dopamina. Se presentan métodos para usar estos compuestos como agentes que reproducen la imagen, así como intermedios y métodos para hacer los agentes que reproducen la imagen

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

De acuerdo con la presente invención, se suministran compuestos de la fórmula I

Un compuesto de la fórmula (I)



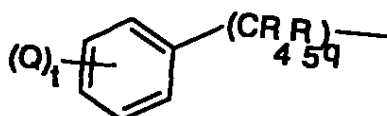
en donde

A es CH ó N,

Y es O ó NR,

en donde R_1 es

- a) hidrógeno,
- b) C_1 - C_6 alquilo, ó
- c)



en donde

cada Q es independientemente hidrógeno, C_1 - C_6 alquilo, halógeno ó trifluorometil,

cada R_4 , y R_5 es independientemente hidrogeno ó C_1 - C_6 alquilo,

t es 0 o 1, y

q es 0 ó 1,

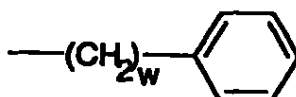
j es 0, 1 ó 2,

n es 1 ó 2,

cuando n es 1, i es 0 ó 2,

cuando n es 2, i es 0,

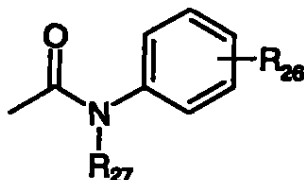
R_3 es hidrógeno, C_1 - C_6 alquilo ó



en donde w es 1, 2 ó 3,

X es O ó S,

R₂₆ es hidrógeno ó

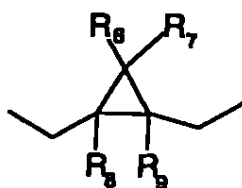


en donde R₂₇ es hidrógeno o C₁-C₆alquilo y R₂₈ es hidrógeno, C₁-C₆alcoxi, halógeno o C₁-C₆alquilo que es saturado o no saturado,

-B- es un grupo seleccionado entre (a) – (e)

(a) $-(C R_{21} R_{22})_m-$

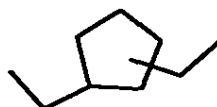
(b)



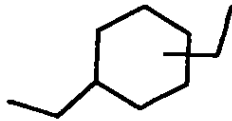
(c)



(d)



(e)



en donde

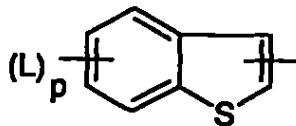
m es 3, 4, 5 ó 6

cada R_{21} y R_{22} es independientemente hidrógeno, C_1-C_6 alquilo o $(CH_2)_aOH$ en donde a es 0, 1 ó 2,

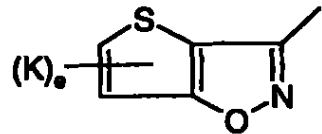
R_6 , R_7 , R_8 , y R_9 son cada uno independientemente hidrógeno, halógeno ó C_1-C_3 alquilo con la condición de que cuando R_8 es C_1-C_3 alquilo, R_9 no es C_1-C_3 alquilo,

R es un grupo seleccionado de (a) – (c)

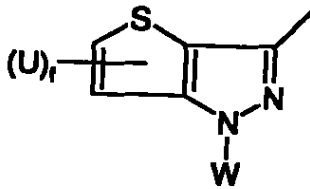
a)



b)



c)



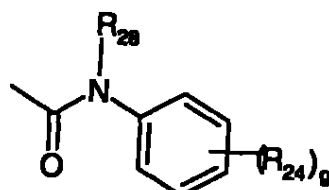
en donde

cada L es independientemente hidrógeno, C_1-C_6 alquilo, halógeno o trifluorometil,

cada U es independientemente hidrógeno, C₁-C₈ alquilo, CHO, halógeno, -(CH₂)_bOH, ó -(CH₂)_bOC₁-C₈ alquilo en donde b es 1 ó 2,

cada K es independientemente hidrógeno, C₁-C₈ alquilo, CHO, halógeno, -(CH₂)_bOH, ó -(CH₂)_bOC₁-C₈ alquilo en donde b es como se definió anteriormente,

W es hidrógeno ó



en donde R₂₈ es hidrógeno o C₁-C₈ alquilo,

cada R₂₄ es independientemente trifluorometil, trifluorometoxi, C₁-C₈ alcoxi ó halógeno, y

g es 0, 1 ó 2,

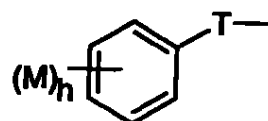
p es 0, 1 ó 2,

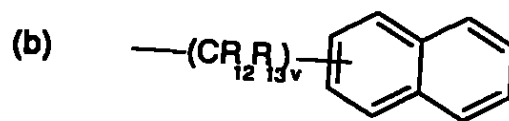
e es 0, 1 ó 2,

f es 0, 1 ó 2,

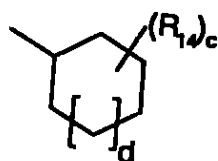
R₂ es un grupo seleccionado de (a) – (t)

(a)

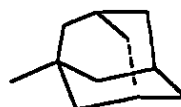




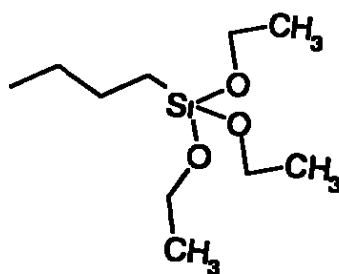
(c)



(d)



(e)

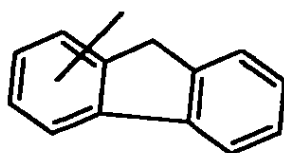


(f) -C₁-C₁₂ alquilo

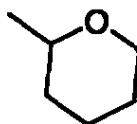
(g) -(CR₁₅R₁₆)₈-CO₂C₁-C₆alquilo

10

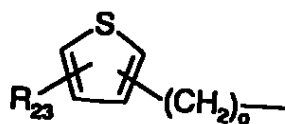
(h)



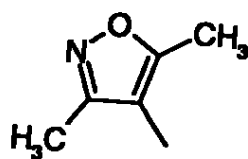
(i)



(j)



(k)



(l) $-CH_2 CH_2SO_2CH_3$

(m) $-(CR_{17} R_{18})_r-OC_1C_2$ alquilo

(n) $-CH_2 CH_2OPh$

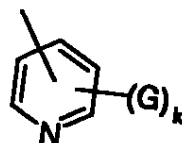
(o) $-(CR_{19} R_{20})_qCZ_3$

(p) CO_2Ph

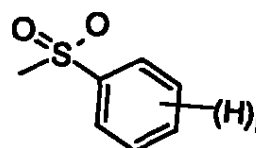
11

(q) $-\text{COCV}_3$

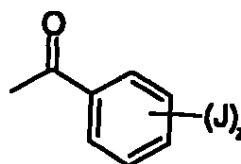
(r)



(s)



(t)



en donde

-T- es seleccionado de (i) o (ii)

(i) $-(\text{CR}_{10} \text{R}_{11})_u-$

en donde

u es 0, 1 ó 2, y

cada R_{10} y R_{11} es

independientemente

hidrógeno o C_1 - C_6 alquilo,

(II)



cada M, G, H y J es seleccionada
independientemente de

- (1) hidrógeno,
- (2) halógeno,
- (3) C₁-C₆alquilo,
- (4) C₁-C₆alcoxi,
- (5) Fenoxi
- (6) fenil,
- (7) trifluorometil,
- (8) trifluorometoxi,
- (9) -CO₂R₁₉ donde R₁₉ es
hidrógeno ó C₁-C₆alquilo,
- (10) -COC₁-C₆alquilo,
- (11) hidroxil,
- (12) -(CH₂)-OR₂₀ en donde R₂₀ es
hidrógeno o C₁-C₆alquilo,
- (13) -C(CH₂)CH₃,
- (14) -NO₂,
- (15) -SCH₃,
- (16) benciloxi, y
- (17) -CN,

cada R₁₂ y R₁₃ es independientemente
hidrógeno ó C₁-C₆alquilo,

v es 0 ó 1,
R₁₄ es hidrógeno o C₁-C₄alquilo,
c es 0, 1 ó 2,
d es 0 ó 1,
cada R₁₅ y R₁₆ es independientemente
hidrógeno ó C₁-C₆alquilo,
s es 0, 1, 2, 3, 4 ó 5,
o es 1 ó 2,
cada R₁₇ y R₁₈ son independientemente
hidrógeno, C₁-C₆alquilo ó CO₂C₁-C₂alquilo,
r es 2 ó 3
cada R₁₉ y R₂₀ es independientemente
hidrógeno ó C₁-C₂ alquilo,
R₂₃ es hidrógeno ó C₁-C₄alquilo,
Z es cloro ó fluor,
q es 0 ó 1,
V es cloro ó fluor, y
h, k, l y z son 0, 1, 2, ó 3

La invención expuesta está dirigida a compuestos o sales farmacéuticamente aceptables de la Fórmula I como se presentó anteriormente en formas estereoisoméricas racémicas o puras

Los términos utilizados aquí tienen los siguientes significados

a) "Sales farmacéuticamente aceptables" significa una sal de adición ácida o una sal de adición básica que es compatible con el tratamiento de pacientes para el uso propuesto

"Sal de adición ácida farmacéuticamente aceptable" es cualquier sal de adición ácida no tóxica orgánica o inorgánica de los compuestos base representados por la Fórmula I o cualquiera de sus intermedias. Los ácidos inorgánicos ilustrativos que forman sales apropiadas incluyen ácido hidrociónico, hidrobromico, sulfúrico y fosfónico y sales metálicas ácidas como sodio monohidrógeno ortofosfato y potasio hidrógeno sulfato. Los ácidos orgánicos ilustrativos que forman sales adecuadas incluyen ácidos mono-, di- y tri- carboxílicos. Ilustrativos de tales ácidos son, por ejemplo, ácidos acético, glicólico, láctico, piruvico, malónico, succínico, glutámico, fumárico, malico, tartárico, cítrico, ascórbico, maleico, hidroximaléico, benzoico, hidroxibenzoico, fenilacético, cinámico, salicílico, 2-fenoxibenzoico, p-toluenosulfónico y sulfónico tales como ácido metanosulfónico y 2-hidroxietanosulfónico. Las sales mono- o di-ácidas se pueden formar, y tales sales pueden existir en forma hidratada, solvatada o sustancialmente anhidras. En general, las sales con adición de ácido de estos compuestos son más solubles en agua y varios solventes orgánicos hidrofílicos y que en comparación con sus formas libres de base, generalmente demuestran puntos de fusión más altos.

"Sales de adición básica farmacéuticamente aceptables" significa sales de adición básica no tóxicas orgánicas o inorgánicas de los compuestos de la Fórmula (I) o cualquiera de sus intermedias. Ejemplos son los hidróxidos de metal alcali o de metal de tierra alcalina tales como hidróxidos de sodio, de potasio, de calcio, de magnesio o de bario, amoníaco, y aminas orgánicas alifáticas, alicíclicas, o aromáticas tales como metilamina, trimetilamina y picolina. Los criterios de selección de la sal apropiada será conocida para el conocedor de la técnica.

b) **"Estereoisómeros"** es un término general para todos los isómeros de las moléculas individuales que se diferencian únicamente en la orientación de sus átomos en el espacio. Incluye isómeros de imagen de espejo (enantiómeros), isómeros geométricos (cis/trans), e isómeros de compuestos con más de un centro quiral que no son imagen de espejo uno de otro (diastereoisómeros).

- c) **"Alquilo"** significa un alquilo de cadena ramificada o lineal o grupo alquileo, como sea apropiado para la fórmula, especificada por la cantidad de carbonos en el alquilo, por ejemplo, C₁-C₆ alquilo significa un alquilo o alquileo de cadena ramificada o lineal de uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis carbonos, como sea el caso, o cualquier rango de ellos, por ejemplo, aunque no limitados a, C₁-2, C₁-3, C₁-4, C₁-5, C₂-3, C₂-4, C₂-5, C₂-C₆, C₃-C₄, C₃-5, C₃-6, C₄-6, C₅-6, etc
- d) **"Paciente"** significa un animal de sangre caliente, tales como ratas, ratones, perros, gatos, cobayos, y primates tales como seres humanos
- e) **"Tratar"** o **"tratamiento"** significa aliviar los síntomas, eliminar la causa de los síntomas ya sea temporal o permanentemente, o prevenir o retardar la aparición de síntomas del trastorno o condición nombrada
- f) **"Cantidad terapéuticamente eficaz"** significa una cantidad del compuesto que es eficaz en el tratamiento de la condición o trastorno nombrado
- g) **"Vehículo farmacéuticamente aceptable"** es un solvente, dispersante, excipiente, adyuvante u otro material no tóxico que se mezcla con el ingrediente activo para permitir la formación de una composición farmacéutica, es decir, una presentación que se puede administrar al paciente. Un ejemplo de tal portador es un aceite farmacéuticamente aceptable típicamente utilizado para administración parenteral
- h) **"Psicosis"** o **"Trastornos Psicóticos"** significa condiciones en las que el paciente experimenta un desorden mental mayor de origen orgánico y/o emocional caracterizado por el trastorno de la personalidad y la pérdida de contacto con la realidad, frecuentemente con delirios, alucinaciones o ilusiones. Incluidos dentro del término psicosis están los trastornos esquizofrenia, desorden

esquizofreniforme, desorden esquizoafectivo, desorden alucinatorio, desorden brevemente psicótico, desorden psicótico compartido, desorden psicótico sin otra especificación, y desorden psicótico inducido por sustancias, como se definen en el Manual Estadístico y de Diagnóstico de Trastornos Mentales, 4ª ed Publicado en 1994 por la Asociación Siquiátrica Norteamericana, Washington D C , EUA, incorporado aquí por referencia

i) "Dependencia de Sustancia" significa una condición en la que el paciente exhibe un patrón de inadaptación de uso de sustancias, que lleva a deterioro o necesidad clínicamente significativa. Hay un patrón de auto-administración repetida que generalmente resulta en tolerancia, retiro y consumo compulsivo de drogas

j) "Abuso de Sustancias" significa una condición en la que el paciente exhibe un patrón de inadaptación de uso de sustancias que se manifiesta en consecuencias adversas recurrentes y significativas relacionadas con el uso repetido de las sustancias. Puede haber repetido incumplimiento de importantes obligaciones de su rol, uso repetido en situaciones en que es físicamente riesgoso, múltiples problemas legales, y problemas interpersonales y sociales recurrentes. A diferencia de los criterios para Dependencia de Sustancias, los criterios para el Abuso de Sustancias no incluye tolerancia, retiro o un patrón de uso compulsivo y sólo incluye las consecuencias perjudiciales del uso repetido

k) "Enfermedad de Parkinson" significa una condición neurológica que progresa lento, caracterizada por temblor, rigidez, bradicinesia e inestabilidad de postura. Otras manifestaciones incluyen depresión y demencia

l) "Parkinsonismo" significa una condición en la que el paciente exhibe signos o síntomas parkinsonianos (esto es, temblor, rigidez muscular o aquinesia) que desarrolla en asociación con el uso de medicamentos neurolepticos

m) **"Disquinesia Tardía Inducida Neurolépticamente"** significa un desorden caracterizado por movimientos involuntarios de la lengua, mandíbula, tronco, o extremidades que se han desarrollado en asociación con el uso de medicamentos neurolepticos. Los movimientos involuntarios pueden ser coreiformes, atetoides, o rítmicos.

n) **"Síndrome de Gilles de la Tourette"** significa una condición que se manifiesta con tics motores y vocales (Un tic es un movimiento motor o vocalización repentino, rápido, recurrente, no rítmico, estereotipico). La alteración causa marcada angustia o deterioro significativo en lo social u ocupacional o en otras importantes áreas de funcionamiento. El inicio es antes de los dieciocho años y la alteración no se debe a los efectos fisiológicos de una sustancia o a una condición médica general.

o) **"Demencia"** significa trastornos caracterizados por el desarrollo de múltiples deficiencias cognitivas que incluyen deterioro de la memoria y se deben a los efectos fisiológicos directos de una condición médica general, a los efectos persistentes de una sustancia, o a múltiples etiologías (por ejemplo, los efectos combinados de una enfermedad cerebro-vascular y la enfermedad de Alzheimer). Se necesitan las deficiencias de memoria para hacer el diagnóstico de una demencia y es un síntoma temprano prominente. Los trastornos de la demencia comparten una presentación sintomática común pero se diferencian con base en la etiología. Ver Manual Estadístico y de Diagnóstico de Trastornos Mentales, 4ª ed. Asociación Siquiátrica Norteamericana, para los criterios de diagnóstico.

p) **"Trastornos de Ansiedad"** significa trastornos que incluyen Trastorno Afectivo Estacional, Trastorno de Pánico sin Agorafobia, Trastorno de Pánico con Agorafobia, Agorafobia sin Historial de Desorden de Pánico, Fobia Específica, Fobia Social, Trastorno Obsesivo-Compulsivo, Trastorno de Estrés Post-

Traumático, Trastorno de Estrés Agudo, Trastorno de Ansiedad Generalizada, Trastorno de Ansiedad Debida a una Condición Médica General, Trastorno de Ansiedad Inducida por Sustancias, y Trastorno de Ansiedad sin Otra Especificación, como se define en el Manual Estadístico y de Diagnóstico de Trastornos Mentales, 4ª ed

q) "Trastornos del Sueño" significa Trastornos que incluyen Trastornos Primarios del Sueño, Trastornos del Sueño Relacionados con otro Desorden mental, Trastorno del Sueño Debido a una Condición Médica General, y Trastorno del Sueño Inducido por Sustancias como se define en el Manual Estadístico y de Diagnóstico de Trastornos Mentales, 4ª ed. Los Trastornos Primarios del sueño son aquéllos en los que ninguna de las etiologías mencionadas abajo (esto es, otro desorden mental, una condición médica general o una sustancia) es responsable. Se cree que los Trastornos Primarios del sueño surgen de anomalías endógenas en los mecanismos que generan o controlan el momento de sueño-vigilia, con frecuencia complicados por factores condicionantes. Los Trastornos Primarios del sueño a su vez se subdividen en *Dissomnias* (caracterizadas por anomalías en la cantidad, calidad u oportunidad del sueño) y *Parasomnias* (caracterizadas por eventos anormales psicológicos o de comportamiento que ocurren asociados con el sueño, etapas específicas del sueño o transiciones sueño-vigilia). Un ejemplo representativo de un Trastorno primario del Sueño es la *narcolepsia*. La *Narcolepsia* se caracteriza por repetidos ataques irresistibles de sueño refrescante, *cataplexia*, e intrusiones recurrentes de elementos de sueño REM (movimiento rápido de ojo) en el periodo de transición entre sueño y vigilia.

r) "Trastornos de Estado de ánimo" son trastornos que tienen una alteración del estado de ánimo como característica predominante. Como lo define el Manual Estadístico y de Diagnóstico de Trastornos Mentales, 4ª ed, los Trastornos de Estado de Animo se dividen en Trastornos Depresivos ("depresión unipolar"),

Trastornos Bipolares, y dos Trastornos basados en la etiología – Trastorno de Estado de Animo Debido a una Condición Médica General y Trastorno de Estado de Animo Inducido por Sustancias. Los Trastornos Depresivos (esto es, Trastorno Depresivo Mayor, Trastorno Distímico, y Trastorno Depresivo sin Otra Especificación) se distinguen de los Trastornos Bipolares en que no hay historial de haber tenido alguna vez un Episodio Maníaco, Mezclado o Hipomaniaco. Los Trastornos Bipolares (esto es, Trastorno Bipolar I, Trastorno Bipolar II, Trastorno Ciclotímico, y Trastorno Bipolar sin Otra Especificación) involucran la presencia (o historial) de Episodio Maníacos, Episodios Mezclado, o Episodios Hipomaniacos, usualmente acompañados por la presencia (o historial) de Episodio Depresivos Mayores.

s) "Trastorno de Ritmo Circadiano" significa un patrón persistente o recurrente de interrupción del sueño que lleva a somnolencia o insomnio excesivos que se debe a una descoordinación entre el horario sueño-vigilia requerido por el ambiente de una persona y su patrón circadiano sueño-vigilia. La alteración del sueño causa angustia o deterioro clínicamente significativo en las áreas social, ocupacional u otra área importante de funcionamiento. La alteración no ocurre exclusivamente durante el curso de otro Trastorno del Sueño u otro desorden mental. La alteración no se debe a los efectos fisiológicos directos de una sustancia (por ejemplo, abuso de una droga o una medicina) o una condición médica general.

Los compuestos preferidos son aquellos en los que X es O, Y es NH y –B– es grupo a) o grupo (b). Cuando B es grupo (a), m se prefiere más que sea 4. Cuando –B– es grupo (b), entonces R₆, R₇, R₈ o R₉ se prefiere más que sea hidrógeno. Se prefiere que R₂ sea grupo (a) o grupo (c). Cuando R₂ es grupo (a), se prefiere más que M sea hidrógeno, C₁–C₆alquilo, C₁–C₃₀alkoxi o fenil y se prefiere que T sea (i) en donde u es 0 ó 1. Cuando R₂ es grupo (c), se prefiere que d sea 1 y se prefiere que R₁₄ sea C₁–C₆alquilo.

Las organizaciones específicas de la invención incluyen los compuestos expuestos en la Tabla III

Las organizaciones preferidas de la invención son aquellos compuestos de la Fórmula I expuestos en la Tabla III que muestran potencia intensificada D3. Los compuestos especialmente preferidos incluyen los siguientes

1-(4-Methoxy-fenil)-3-{4-[4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazin-1-il]-butil}-urea

1-p-Tolil-3-{4-[6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazin-1-il]-butil}-urea

1-{4-[4-(2,6-Difluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazin-1-il]-butil}-3-p-tolil-urea

1-{4-[4-(2-Cloro-6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazin-1-il]-butil}-3-(cloro-fenil)-urea

1-(4-Acetil-fenil)-3[4-(4-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il-piperidin-1-il)-butil]-urea

1-(4-Etoxi-fenil)-3-{4-(4-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il-piperidin-1-il)-butil}-urea

1-(4-Etoxi-fenil)-3-[4-{4-(6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-[1,4]diazepan-1-il]-butil}-urea

1-{4-[4-(6-Fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-[1,4]diazepan-1-il]-butil}-3-(2-fluoro-fenil)-urea

1-{4-[4-(6-Fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-[1,4]diazepan-1-il]-butil}-3-(3-trifluorometil-fenil)-urea

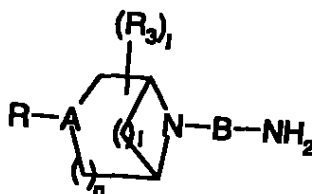
1-[4-[4-(6-Fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-[1,4]diazepan-1-il]-butil]-3-(4-metoxi-fenil)-urea

1-(3-Imidazol-1-il-propil)-3-((1R, 2R)-2-[4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazin-1-ilmetil]-ciclopropilmetil)-urea(MDL 833306)

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar por varios métodos. Los Esquemas I a VI muestran diferentes formas de preparar los compuestos de la Fórmula I.

Los compuestos de la fórmula (I) de esta invención se pueden sintetizar siguiendo o combinando uno o más de los pasos descritos más adelante, no necesariamente en el orden que se presentan. A través de la descripción de los pasos sintéticos, las definiciones de R, R₂, R₃, n, j, i, X, Y, B y A son como se presentaron anteriormente a menos que se diga o indique algo diferente, y otras nomenclaturas que aparecen más adelante tendrán los mismos significados definidos en su respectiva primera aparición a menos que se diga o indique otra cosa.

Compuestos de la fórmula I donde Y y N se pueden preparar de acuerdo con un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (II)



en donde R₃, R, n, i, B, j, A y R como se definen en la fórmula I,

con un compuesto de la fórmula (III)

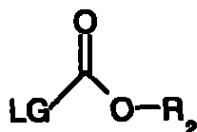


(III)

en donde R_2 es como se define en la fórmula I,

Típicamente, esta reacción se realiza en un solvente orgánico como por ejemplo, cloroformo o tetrahidrofuran a una temperatura de cerca de 20°C a cerca de 25°C por cerca de 6 a 18 horas

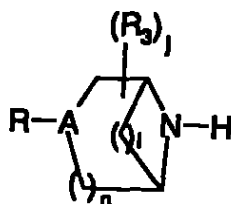
Se pueden preparar compuestos de la fórmula I en donde Y es O de acuerdo en un proceso en comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (II) con un compuesto de la fórmula (IV) en donde "LG" es un grupo residual adecuado seleccionado de bromo, cloro, yodo o $-OR_2$ en el caso en que la fórmula (IV) está disponible como un anhídrido



en donde R_2 es como se define en la fórmula I,

Típicamente, esta reacción se realiza en un solvente orgánico como por ejemplo, cloroformo o tetrahidrofuran en presencia de una base débil como por ejemplo amberlita-IRA-67 o trietilamina La reacción se conduce típicamente a una temperatura de cerca de 20°C a cerca de 25°C por cerca de 6 a 18 horas

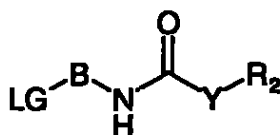
Alternativamente, los compuestos de la fórmula I se pueden preparar de acuerdo con un proceso que comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (V)



(V)

en donde R, A, n, R_3 y J son como se definieron anteriormente,

con un compuesto de la fórmula (IV) en donde R_2 , B y Y son como se definieron anteriormente y "LG" es un residuo adecuado seleccionado de cloro, bromo, yodo, mesil, tosil, brosil, trifil, nosil, nonafil o tresil

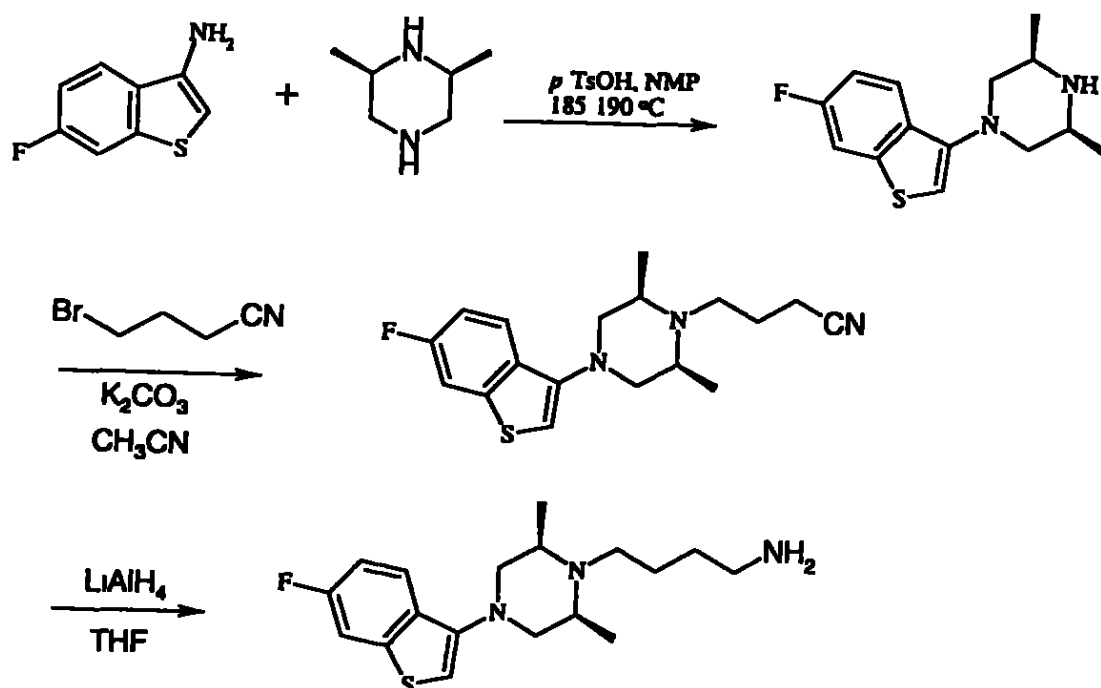


(VI)

Típicamente, esta reacción se realiza en un solvente acuoso miscible, como por ejemplo, tetrahidrofuran o acetonitrilo, en presencia de agua y una base como por ejemplo, carbonato de potasio, carbonato de cesio, o trietilamina, a una temperatura de entre aproximadamente 50°C y aproximadamente 75°C por entre unas 12 y 24 horas

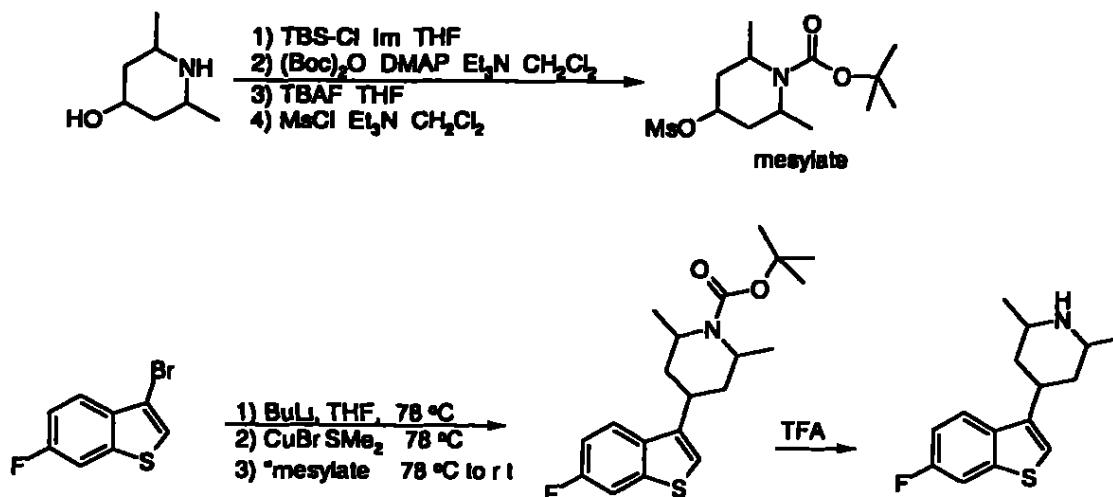
El compuesto de la fórmula (II) se puede preparar mediante métodos sintéticos bien conocidos por la técnica. Los materiales de partida se consiguen comercialmente o se pueden sintetizar mediante métodos conocidos a través de la literatura. Por ejemplo, el esquema I describe el acoplamiento de un benzotiofano amino sustituido con una piperazina sustituida disponible comercialmente. La síntesis es análoga para los análogos de piperazina insustituida. La piperazina nitrógeno que es menos impedida estericamente es más reactiva y limpiamente da un producto individual en el acoplamiento de benzo[b]tiofeno. El nitrógeno más impedido estericamente puede alquilarse con el agente alquilizante apropiado.

ESQUEMA I

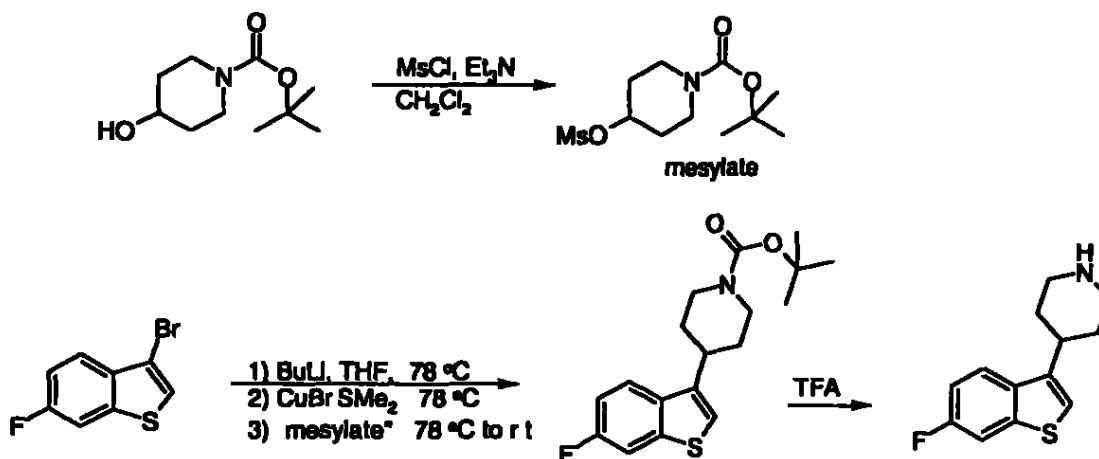


Los compuestos sustituidos con pindina se pueden preparar mediante síntesis análoga a las mostradas en los siguientes esquemas de reacción II y III

ESQUEMA II

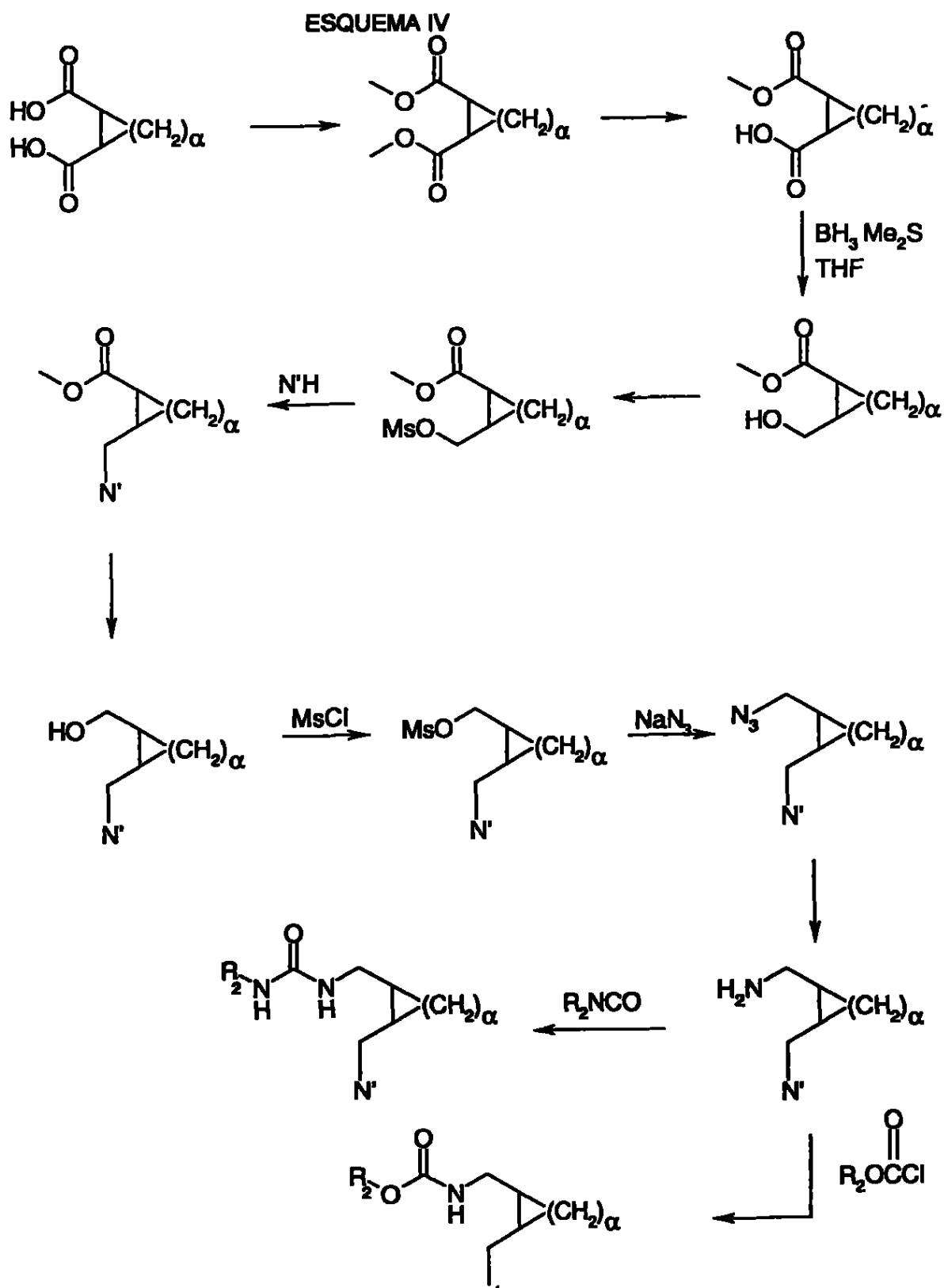


ESQUEMA III



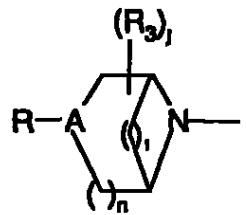
La preparación de varios azacicloheptanos y diazacicloheptanos la describen Treiber et al En WO 9725324

Los compuestos de la fórmula I en donde B contiene un carbociclo se pueden preparar como se muestra en el Esquema IV



en donde R_2 se definen como se hizo anteriormente,

α es 1, 2, 3 o 4, y N' - es



en donde R, A, R_3 , J, l y n se definen como se hizo anteriormente

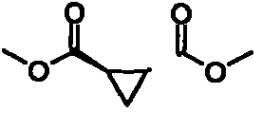
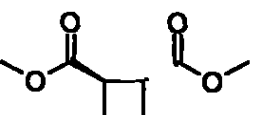
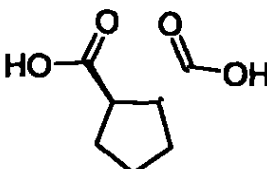
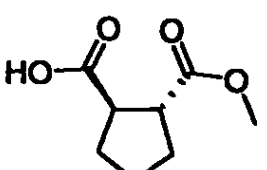
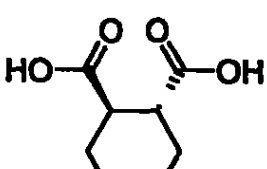
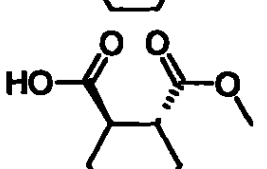
Muchos de los dicarboxilatos o de los productos intermedios más avanzados que se describen genéricamente en el Esquema IV se encuentran disponibles comercialmente. Varios de estos se presentan en la Tabla 1. Esta tabla se usa sólo con propósitos ilustrativos y no pretende limitar el alcance de esta invención de ninguna manera.

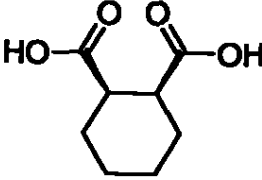
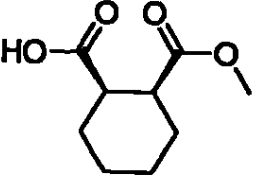
34

28

323

Tabla 1- Materiales de partida

Estructura	Nombre	# CAS	Proveedor
	Dimethyl cis-1,2-cyclopropane dicarboxylate	826 34-6	Acros
	Dimethyl trans-1,2-cyclopropane dicarboxylate	826-35-7	Acros
	Dimethyl 1-methyl-trans-1,2-cyclopropane dicarboxylate	702 92-1	Acros
	Dimethyl 3-methyl-trans-1,2-cyclopropane dicarboxylate	28363-79-3	Acros
	trans-Cyclobutane-1,2-dicarboxylic acid dimethylester		Syntec
	trans-D, L-1,2-Cyclopentane-dicarboxylic acid	1461-97-8	Aldrich
	trans-2-Carbomethoxy cyclopentane-1-carboxylic acid		Rieke
	trans-1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid	2305-32-0	Aldrich Acros
	trans-2-Carbomethoxy cyclohexane-1-carboxylic acid		Rieke

	cis-1,2-Cyclohexane dicarboxylic acid	610-09 3	Acros
	cis-2-Carbomethoxy cyclohexane-1-carboxylic acid		Rieke

Cuando los materiales de partida apropiados no estén disponibles comercialmente, se pueden obtener mediante los métodos de estándar de síntesis

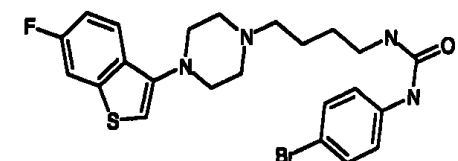
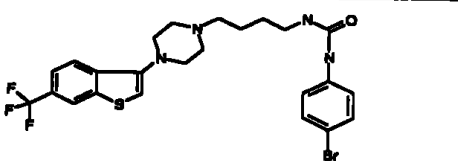
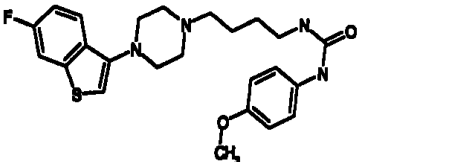
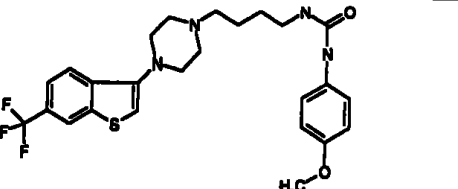
Cuando un compuesto de la fórmula (I) se obtiene como una mezcla de enantiómeros, éstos se pueden separar mediante métodos convencionales tales como cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía, por ejemplo usando una columna quiral líquida de alta presión

Se ha encontrado que los compuestos de la fórmula (I) muestran afinidad por los receptores de dopamina, en particular por los receptores D₃, y se espera que sean útiles en el tratamiento de estados de enfermedad que requieren la modulación de dichos receptores, tales como los estados sicóticos. Los compuestos preferidos de la presente invención son aquéllos que tienen mayor afinidad por los receptores D₃ de dopamina que por los receptores D₂ de dopamina

Un reto importante en la investigación antipsicótica es producir agentes que presenten efectos secundarios reducidos. La hipertensión ortostática es un efecto secundario común de los antipsicóticos y está asociada con la alta potencia que

estos agentes tienen en el receptor adrenérgico α -1 (en adelante llamado " α -1") Un objetivo importante de este trabajo era encontrar agentes con potencia α -1 reducida

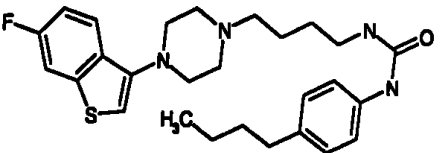
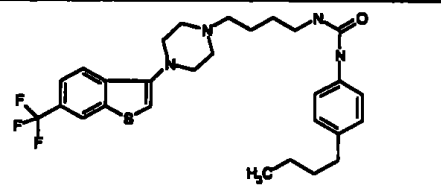
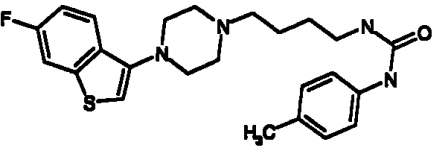
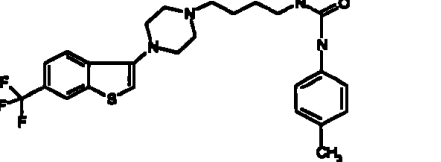
Los 6-trifluorometil benzo[b]tiofenos descritos aquí tienen una clara y en cierta forma sorprendente ventaja sobre los 6-fluoro benzo[b]tiofenos Los 6-fluoro benzo[b]tiofenos son claramente más potentes en el receptor adrenérgico α -1 que los los 6-trifluorometil benzo[b]tiofenos Esto demuestra comparando pares de análogos que sólo se diferencian en la sustitución en la posición 6 del benzo[b]tiofeno (ver Tabla II) En todo caso, el 6-fluoro benzo[b]tiofeno es más potente que el correspondiente análogo 6-trifluorometilo En algunos casos esta pequeña diferencia estructural en la posición 6 produce un cambio dramático en la potencia α -1 Hay varios ejemplos en los que los análogos -fluoro mostraron potencia nanomolar mientras que los correspondientes análogos 6-trifluorometilo mostraron potencia micromolar

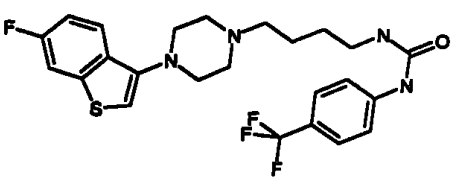
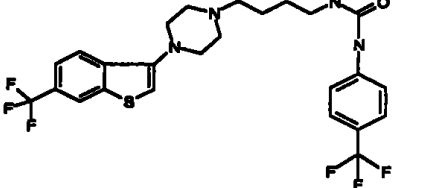
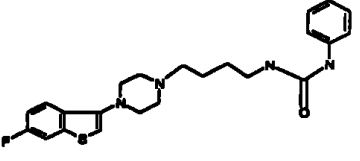
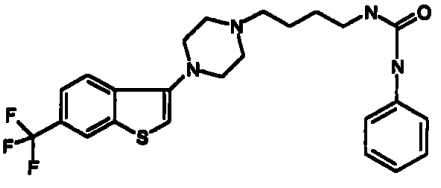
MDL NUM	MOLSTRUCTURE	halpha1Ki (nM)	halpha1 % I
814949		182	
816000		234	
814933		18	
815984		1220	11.9% Inh @ 1 uM

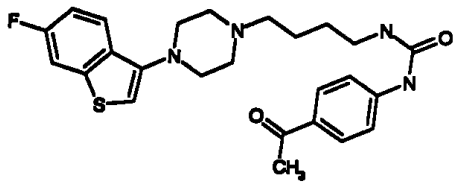
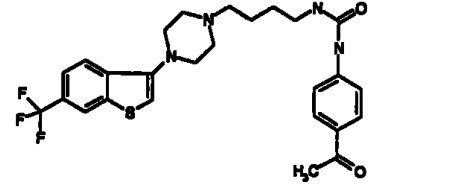
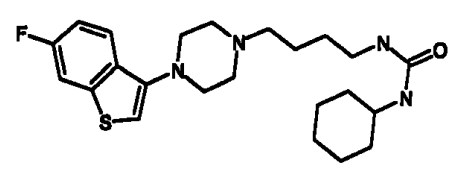
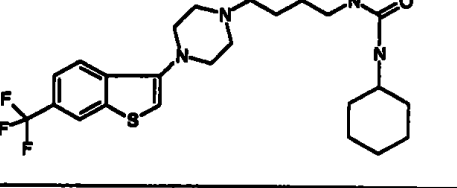
31

3

34
151

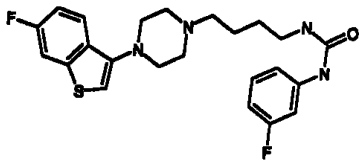
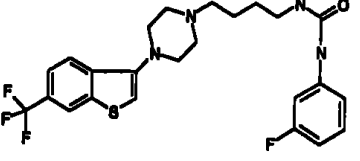
814937		532	
815995			42.4% inh @ 10 uM
814941		135	
815997		936	23.5% inh @ 1 uM

814952		44.8	
816002		435	30.2% Inh @ 1 uM
813581		15	
816005		56.8	

814932		22	
815993		749	
814945		45	
816001		836	

34

28

814953		35	
816003		56.7	

35

47

Compuestos especialmente preferidos de la presente invención son aquéllos con una tendencia reducida al enlace del receptor α -1 mientras que al mismo tiempo tiene una afinidad más alta por los receptores D₃ de dopamina que por los receptores D₂ de dopamina

La finidad de los receptores puede medirse usando una metodología estándar tal como la que se describe más adelante

Enlace de [N-Metil-3H]Espiroperidol a Receptores D₃ humanos clonados de Dopamina

Propósito

Este ensayo mide la actividad *in vitro* de los compuestos sobre los Receptores D₃ humanos clonados de Dopamina y predice las propiedades directas bloqueantes de los agentes neurosiquiátricos putativos en los receptores humanos D₃ de dopamina

Métodos

A. Clonación

El gen D₃ se aisló de una librería cDNA estriatal humana (Stratagene) Se secuenció el gen y se sub-clonó para obtener el vector de expresión RC/RSV (Invitrogen) Células de Ovario de Hámster Chino (CHO) se transfectaron establemente con 10 µg de plasmida D₃/RSV usando el método DOTAP de Boehringer Mannheim y se aislaron 72 clones que eran resistentes a la genticina G418 Usando mRNA y datos de desplazamiento de enlace se identificó un clon individual altamente expresivo Después se cultivó este clon en grandes lotes con el propósito de desarrollar un ensayo de formato receptáculo 96

B Cultivo Celular

- 1 Se incuba una lámina (10 cm) que contiene aproximadamente 2-3 millones de células D₃ por lámina con 1 ml de Tripsina-EDTA a temperatura ambiente por aproximadamente 2 minutos o hasta que las células se hayan despegado de las láminas. Se añaden 4 ml de F12 de Ham + 10% de Suero Fetal Bovino + 1% de Penicilina/Estreptomicina + medio G418 (400 µg/ml) a las células resuspendidas y 1 ml de esto se agrega a cada lámina grande (15 cm) que contiene 19 ml del mismo medio como se mencionó arriba.
- 2 Las 5 láminas grandes se incuban a 37°C + 5% CO₂ por aproximadamente 3 días o hasta que las células sean confluentes.
- 3 Después de que estas láminas sean confluentes, se dividen en 10 grandes láminas. Se aspira el medio, se añaden 2 ml de Tripsina-EDTA a cada lámina y se incuban las láminas a temperatura ambiente por 2 minutos o hasta que las células se hayan despegado de la lámina. Se añaden ocho ml del medio F12 (el mismo medio del #1 arriba) a cada lámina (10 ml en total) para resuspender las células y se transfieren 5 ml a las 2 nuevas láminas que contienen 15 ml del medio F12.
- 4 Las 10 láminas grandes se incuban a 37°C + 5% CO₂ por aproximadamente 2 días o hasta que las células sean confluentes.
- 5 Las 10 láminas grandes se dividen en 60 láminas grandes (usando Tripsina-EDTA como en el #3 excepto que se añaden 4 ml de medio F12 para resuspender las células y 1 ml se alícuota a 6 láminas nuevas que contienen 19 ml de medio F12 cada una).
- 6 Las láminas se incuban a 37°C + 5% CO₂ por aproximadamente 3 días o hasta que las células sean confluentes.

7 Las 60 láminas grandes se dividen entonces en 60 botellas rotatorias (100-500 millones de células/botella). Se aspira el medio, se añaden 2 ml de Tripsina-EDTA a cada lámina y se incuban a temperatura ambiente por aproximadamente 2 minutos o hasta que las células se hayan despegado de las láminas. Se añaden 8 ml de medio F12 a cada lámina para resuspender las células y todos los 10 ml se añaden a 1 botella rotatoria que contiene 90 ml del medio F12.

8 Las 60 botellas rotatorias se colocan inmediatamente sobre sus lados y se transfieren al incubador de botellas rotatorias. Se incuban a $37^{\circ}\text{C} + 5\% \text{CO}_2$ por aproximadamente 3-5 días. Las células se hacen girar a 30-40% de la velocidad del motor en el incubador Forma.

9 Se retira el medio y las células se lavan 2 veces en PBS.

10 Después se raspan las células en 20 ml de PBS y las botellas se enjuagan de nuevo con 5 ml de PBS para quitar cualquier célula restante. Las células se almacenan en hielo antes de la preparación de la membrana.

11 La producción para 60 botellas rotatorias de D_3 ha variado de aproximadamente 260-500 mg.

D Preparación de Membranas

Las células se cosechan en tubos centrífugos de 250 ml con 100 volúmenes de salina amortiguada con fosfato (PBS) fría y se hacen girar ($1200\times g$ por 10 minutos a 4°C). Se retira el medio y se añaden 100 ml de PBS a cada tubo centrífugo, se resuspenden las células y se hacen girar de nuevo. Se retira el PBS y se homogeniza la bolita obtenida en un volumen apropiado de 10% DMSO con un politrón sobre hielo en un ajuste medio.

E Ensayo de Proteína de Lowry

Una muestra de homogenato de membrana de 200 μ l se añade a a 200 μ l de 1% de SDS, se somete a torbellino y se deja reposar durante 5 minutos. Alícuotas (de 25, 50 y 100 μ l) de esta mezcla se ensayan en duplicado siguiendo el protocolo estándar de ensayo de proteína DC Bio-Rad (catálogo de kit número 500-0112) y utilizando reactivos S. Se hacen lecturas de absorción a 50 mm (nota: las lecturas OD de proteína más exactas son entre 0.1 y 0.5 unidades). La concentración de proteína se calcula utilizando una curva estándar generada concurrentemente con albumina de suero bovino como estándar.

E Condiciones de almacenamiento/congelación

Después de la determinación de la concentración de proteína y del análisis Scatchard, se diluye la proteína en agua destilada con 10% DMSO al volumen apropiado con base en los niveles de expresión (B_{max}). Después, la proteína concentrada se alícuota en tubos Eppendorf de 1.5 ml de tapa superior de rosca y se coloca en un congelador a -80°C .

F Reactivos de Ensayo de Enlace**1 0.5M de Tns Buffer, pH 7.7**

a) 44.4 g Tns HCl

26.5 g de Tns Base

c.s. hasta 1 Litro (0.5 M de Tns buffer, pH 7.7 a 37°C)

b) hacer una dilución 1:10 en H_2O destilada (0.05 M de Tns buffer, pH 7.7)

2 Tris Buffer que contiene sales fisiológicas

a) Buffer estándar

NaCl	7 014 g
KCl	0 372 g
CaCl ₂	0 222 g
MgCl ₂	0 204 g
c.s hasta 100 ml con 0 5 M Tris Buffer	

b) Diluir 1 10 en H₂O destilada

Esto produce 0 05 M Tris HCl, pH 7 7 que contiene NaCl (120 nM), KCl (5 nM), CaCl₂ (2 nM) y MgCl₂ (1nM)

Opcional agregar 0 1% de ácido ascórbico y revisar el pH (en ensayos con compuestos que pueden oxidarse)

3 a) 1 0% polietilenoimina estándar en 0 5 M Tris (reactivo 1 a)

b) Diluir 1 10 en H₂O destilada

4 Se obtiene [N-metil-³H]-Espiropendol (60-90Ci/mmol) de New England Nuclear, # Catálogo NET-856

Para determinaciones K_i [³H]NMSP se prepara a una concentración de 2 5 nM en buffer 2b, de manera que cuando se agregan 150 µl a cada tubo se logra una concentración final de 0 4 nM en el ensayo de 1 ml Las muestras de CPM total añadido se toman para cada experimento para calcular la concentración total de ligante

5 Se obtiene S(-)-Eticloprida de Research Biochemicals International (Numero de catálogo de RBI E-101) Se prepara una solución estándar refrigerada(buena hasta por un mes) de S(-)-eticloprida a una concentración de 30 μ M en buffer 2b Se agregan 100 microlitros a 3 receptáculos para la determinación de enlace no específico (esto produce una concentración final de 3 μ M en el ensayo de 1 ml)

6 Compuestos de Prueba

Para la mayoría de ensayos, se prepara una solución estándar de 10 μ M del compuesto de prueba en un solvente apropiado (usualmente <0 1% ácido acético) y se diluye serialmente con buffer 2b, de manera que cuando se combinan 100 μ l de droga con el ensayo total de 1 ml, entonces se logra una concentración final de 10⁻⁵-10⁻⁸M Caracteristicamente se estudian ocho concentraciones para cada ensayo, sin embargo, se pueden usar concentraciones menores o mayores dependiendo de la potencia de la droga

G Ensayo de Enlace

750 μ l Tejido

150 μ l [³H]NMSP

100 μ l vehículo (para enlace total) o 30 μ M (-) eticloprida (para enlace no específico) o concentración apropiada de droga

Los Unifiltros Receptáculos 96 Packard GF/B se incuban por >1 hora a 25°C en 0 1% de polietilamina (de 3,b) El tejido frío se añade en ultimo lugar y se mezcla en un agitador orbital durante unos pocos segundos, y luego se incuba a 37 °C durante 30 minutos en un baño de agua en agitación El ensayo se detiene mediante filtración rápida a través de láminas Packar Unifilter Luego las membranas del filtro se lavan con 15 ml de Tris buffer de 0 05 M a temperatura de

hielo. Luego los filtros se secan (aproximadamente 15 minutos bajo una lámpara de calor o incubados por 15 minutos en un horno de 60 °C) y se aplica un sello inferior. Después se añaden 40 µl de coctel chispeante Packard Microscint 20 y se aplica un sello superior permanente (Tipo P) y se sella con calor. Después las láminas se agitan en un agitador orbital durante 1 hora y se colocan en el contador Packard Topcount y se cuentan durante al menos 5 minutos respecto a cada punto.

El enlace específico se define como la diferencia entre el enlace total y el enlace en presencia de 3 µM S(-)-eticloprida. El enlace total es aproximadamente 10% del total de ligante añadido. La determinación Cheng-Prusoff (de K_i) se efectúa usando software Prism utilizando un análisis de curva de competición de un sitio donde la regresión no lineal superior o inferior se mantienen constantes a 0% y 100% de inhibición porcentual. La inhibición porcentual de cada concentración de droga es la media de las determinaciones duplicadas.

Enlace de [N-Metil-³H]Espiropéridol a Receptores Humanos Clonados Largos D₂ de Dopamina

Propósito

Este ensayo mide la actividad *in vitro* de drogas sobre receptores humanos clonados D₂ largos de dopamina (D₂L) y predice las propiedades directas de desplazamiento de dopamina de los agentes neurosiquiátricos, cardiovasculares y renales en los receptores D₂ de dopamina.

Métodos

A. Clonación

Se aisló el gen D₂L de una librería de cDNA estriatal humano (caudato/putamen). Se secuenció el gen y se sub-clonó para obtener el vector de expresión RC/RSV (Invitrogen). Células de Ovario de Hámster Chino (CHO) se transfectaron establemente con 10 µg de plasmida D₂/RSV usando el método DOTAP de Boehringer Mannheim y se aislaron 72 clones que eran resistentes a la geneticina G418. Usando mRNA y datos de desplazamiento de enlace se identificó un clon individual altamente expresivo. Después se cultivó este clon en grandes lotes con el propósito de desarrollar un ensayo de formato receptáculo 96.

B Condiciones de Cultivo Celular

1 Medio para los cultivos adherentes de CHO

F12 de Ham + 10% de suero bovino fetal (FBS) + 400 µg de geneticina (G418) + 10 ml/L de penicilina-estreptomicina (pen-strep)

2 Las células se transfieren luego a un cultivo de suspensión cuando están disponibles al menos 1.5 millones de células (esto permite 300 000 células en una botella giratoria de 50 ml, esta es la densidad de suspensión ideal). Las células se retiran de los frascos con tripsina, se precipitan mediante rotación (1000xG) y se resuspenden en medio fresco.

50% CHO-SFM II + 50% de F12 de Ham con 10% FBS (concentración final de FBS 5%) + 400 µg/ml de G418 + pen-strep (10ml/L)

3 Después de la transferencia a un cultivo de suspensión, se monitorea el crecimiento y se evalúa la viabilidad celular usando exclusión azul de tripano. Se registra el conteo celular total y viable en 5 sectores del hemocitómetro. Cuando la densidad celular viable alcanza 600 000 células/ml, se dobla el volumen.

4 Después de una semana de crecimiento en el medio 50/50, las células se precipitan por rotación y se transfieren a una nueva botella giratoria donde se colocan en 75% CHO-SFM II /25% F12 de Ham + 10% FBS mas la penicilina-estreptomicina y G418 Posteriormente, cada 3 dias el medio se remplaza con un nuevo medio que contiene una cantidad decreciente de FBS de la siguiente manera

ml de CHO SFM	ml de F12 de Ham	% final de concentración de FBS
87 50	12 5	1 25
93 75	6 25	0 625
99 00	1 00	0 1

5 El medio cultivante de mantenimiento final está constituido de la siguiente manera

Una mezcla estándar de 10 ml de penicilina-estreptomicina, 0 5 ml de 400 mg/ml de G418 (activo, concentración final 200 mg/ml) y 1 ml de FBS se mezclan y filtran y se refrigeran Se añade un volumen (11 5 ml) de esta mezcla a una botella de 1 litro de CHO-SFM II recién abierta

C Preparación de Membranas

Las células se cosechan entre tubos centrífugos de 250 ml con 100 volúmenes de salina amortiguada con fosfato (PBS) fría y se someten a precipitación haciéndolas girar (1200xG durante 10 minutos a 4°C) Se retira el medio y se añaden 100 ml de PBS a cada tubo centrífugo, se resuspenden las células y se someten nuevamente a precipitación haciéndolas girar Se retira la PBS y la bolita obtenida finalmente se homogeniza en un volumen apropiado de 10% DMSO con un politron sobre hielo en un ajuste medio

D Ensayo de Proteína de Lowry

Una muestra de homogenato de membrana de 200 μ l se añade a a 200 μ l de 1% de SDS, se somete a torbellino y se deja reposar durante 5 minutos. Alícuotas (de 25, 50 y 100 μ l) de esta mezcla se ensayan en duplicado siguiendo el protocolo estándar de ensayo de proteína DC Bio-Rad (catálogo de kit número 500-0112) y utilizando reactivos S. Se hacen lecturas de absorción a 50 nm (nota: las lecturas OD de proteína más exactas son entre 0.1 y 0.5 unidades). La concentración de proteína se calcula utilizando una curva estándar generada concurrentemente con albumina de suero bovino como estándar.

E Condiciones de Almacenamiento/Congelación

Después de la determinación de la concentración de proteína y del análisis Scatchard, se diluye la proteína en agua destilada con 10% DMSO al volumen apropiado con base en los niveles de expresión (B_{max}). Después, la proteína concentrada se alícuota en tubos Eppendorf de 1.5 ml de tapa superior de rosca y se coloca en un congelador a -80°C .

F Reactivos de Ensayo de Enlace**1 0.5M de Tris Buffer, pH 7.7**

- a) 44.4 g Tris HCl
 26.5 g de Tris Base
 c.s. hasta 1 Litro (0.5 M de Tris buffer, pH 7.7 a 37°C)
- c) hacer una dilución 1:10 en H_2O destilada (0.05 M de Tris buffer, pH 7.7)

2 Tris Buffer que contiene sales fisiológicas

a) Buffer estándar

NaCl	7 014 g
KCl	0 372 g
CaCl ₂	0 222 g
MgCl ₂	0 204 g
c.s	hasta 100 ml con 0 5 M Tris Buffer

c) Diluir 1 10 en H₂O destilada

Esto produce 0 05 M Tris HCl, pH 7 7 que contiene NaCl (120 nM), KCl (5 nM), CaCl₂ (2 nM) y MgCl₂ (1nM)

Opcional agregar 0 1% de ácido ascórbico y revisar el pH (en ensayos con compuestos que pueden oxidarse)

3 a) 1 0% polietilenoimina estándar en 0 5 M Tris (reactivo 1 a)

c) Diluir 1 10 en H₂O destilada

4 Se obtiene [N-metil-³H]-Espiropendol (60-90Ci/mmol) de New England Nuclear, # Catálogo NET-856

Para determinaciones K_i [³H]NMSP se prepara a una concentración de 2 5 nM en buffer 2b, de manera que cuando se agregan 150 µl a cada tubo se logra una concentración final de 0 4 nM en el ensayo de 1 ml Las muestras de CPM total añadido se toman para cada experimento para calcular la concentración total de ligante

5 Se obtiene S(-)-Eticloprida de Research Biochemicals International (Numero de catálogo de RBI E-101) Se prepara una solución estándar refrigerada(buena hasta por un mes) de S(-)-eticloprida a una concentración de 30 μ M en buffer 2b Se agregan 100 microlitros a 3 receptáculos para la determinación de enlace no específico (esto produce una concentración final de 3 μ M en el ensayo de 1 ml)

6 Compuestos de Prueba

Para la mayoría de ensayos, se prepara una solución estándar de 10 μ M del compuesto de prueba en un solvente apropiado (usualmente <0 1% ácido acético) y se diluye serialmente con buffer 2b, de manera que cuando se combinan 100 μ l de droga con el ensayo total de 1 ml, entonces se logra una concentración final de 10^{-5} - 10^{-8} M Caracteristicamente se estudian ocho concentraciones para cada ensayo, sin embargo, se pueden usar concentraciones menores o mayores dependiendo de la potencia de la droga

G Ensayo de Enlace

750 μ l Tejido

150 μ l [^{3} H]NMSP

100 μ l vehiculo (para enlace total) o 30 μ M (-) eticloprida (para enlace no específico) o concentración apropiada de droga

Los Unifiltros Receptáculos 96 Packard GF/B se incuban por >1 hora a 25°C en 0 1% de polietilamina (de 3,b) El tejido frio se añade en ultimo lugar y se mezcla en un agitador orbital durante unos pocos segundos, y luego se incuba a 37 °C durante 30 minutos en un baño de agua en agitación El ensayo se detiene mediante filtración rápida a través de láminas Packar Unifilter Luego las membranas del filtro se lavan con 15 ml de Tris buffer de 0 05 M a temperatura de

hielo. Luego los filtros se secan (aproximadamente 15 minutos bajo una lámpara de calor o incubados por 15 minutos en un horno de 60 °C) y se aplica un sello inferior. Después se añaden 40 µl de coctel chispeante Packard Microscint 20 y se aplica un sello superior permanente (Tipo P) y se sella con calor. Después las láminas se agitan en un agitador orbital durante 1 hora y se colocan en el contador Packard Topcount y se cuentan durante al menos 5 minutos respecto a cada punto.

El enlace específico se define como la diferencia entre el enlace total y el enlace en presencia de 3 µM S(-)-eticlopnida. El enlace total es aproximadamente 10% del total de ligante añadido. La determinación Cheng-Prusoff (de K_i) se efectúa usando software Prism utilizando un análisis de curva de competición de un sitio donde la regresión no lineal superior o inferior se mantienen constantes a 0% y 100% de inhibición porcentual. La inhibición porcentual de cada concentración de droga es la media de las determinaciones duplicadas.

ENLACE DE [³H]PRAZOSINA A RECEPTORES ADRENERGICOS ALFA –1A (α_{1a}) HUMANOS CLONADOS EXPRESADOS EN CELULAS DE OVARIO DE HAMSTER CHINO (CHO)

Propósito

Este ensayo *in vitro* está diseñado como una exploración para identificar compuestos que muestran una afinidad para el sub-tipo de adrenorceptor α_{1a} expresado en fragmentos de membrana de células de CHO. Este ensayo mide la capacidad de los compuestos de prueba para desplazar la [³H]prazosina de los sitios α_{1a} .

La identificación de múltiples adrenoreceptores α_{1a} ($\alpha_{1a}, \alpha_{1b}, \alpha_{1d}$) *in vitro* ha proporcionado impulso para definir

los roles de estos subtipos en la regulación cardiovascular *in vivo* (Vargas y Gorman, 1995) Estudios hemodinámicos en ratas no anestesiadas sugieren que los receptores vasculares α_{1a} son el subtipo principal involucrado en la regulación simpática de resistencia periférica y presión arterial sistémica (Piascik et al, 1989) Evidencia adicional de la participación de los receptores α_{1a} periféricos en el mantenimiento de la presión arterial fue demostrada por los hallazgos de que la dosis del antagonista α_{1a} selectivo 5-MU reducía dependientemente la presión arterial en reposo en perros conscientes despiertos (Piascik et al, 1989) Una demostrada incapacidad del antagonista irreversible, cloroetilclonidina, para reducir la presión arterial en ratas al ser administrada intravenosamente, es una firme evidencia contra el papel de los receptores α_{1b} y α_{1d} en la regulación aguda de la presión arterial (Vargas et al, 1993)

Por consiguiente, se cree que el enlace de compuestos a los receptores adrenérgicos α_{1a} es una buena medida del potencial de un compuesto para causar hipotensión ortostática y sedación como efectos secundarios La prazosina es una potente antagonista del subtipo de adrenoreceptor α_{1a} humano, el cual ha sido clonado y está expresado en fragmentos de membrana de células de CHO

Receptor $h\alpha_{1a}$

La clonación del cDNA α_{1a} humano se logró por primera vez explorando una librería de cDNA de próstata humana (Clontech), de la cual se obtuvo la región de codificación Este fragmento de DNA se usó luego para explorar la librería

genómica de leucocitos humanos (clontech), obteniéndose el resto de la secuencia codificante. Posteriormente, estos fragmentos fueron empalmados entre sí. Entonces se secuenció totalmente toda la secuencia codificante incluyendo el emparejamiento de la secuencia PRC con la secuencia codificante genómica original, asegurándose así que los sitios de empalme fueron empalmados correctamente (Schwinn et al, 1995). Una vez secuenciado, el gen se clonó en el vector de expresión pcDNA3 (Invitrogen). Luego DNA plásmida se usó para la transfección en células de CHO y se aislaron clones resistentes G418. Se escogió y se caracterizó farmacológicamente un clon que expresa altos niveles del receptor α_{1a} humano (según determinación mediante mRNA y datos de enlace de receptores).

Medios de Cultivo Ingredientes del medio para el cultivo de CHO adherente que expresa α_{1a}

- A F12 de Ham (Cellgro)
- B 10% Suero Fetal Bovino (FBS) filtrado a 2 micrones (Cellgro)
- C 1% Penicilina-Estreptomicina filtrada a 2 micrones (Cellgro)
- D G418 filtrado a 0.2 micrones (Geneticina 400 $\mu\text{g/ml}$) (Cellgro)

Utilizando métodos y procedimientos establecidos, las células se cultivan ya sea en láminas de cultivo de 150x25 mm (en escala de hasta 100 láminas) o bien combinando estas láminas con 70 botellas rotatorias. Un ciclo de cultivo/cosecha típicamente requiere 2 semanas y produce

entre 100 y 400 gr de proteína Las láminas o las botellas se incuban a 37°C + 5% CO₂

Almacenamiento

Las células se cosechan mediante raspado mecánico, se lavan usando PBS, se recolectan en tubos centrifugos de polipropileno, se precipitan mediante rotación (1500 RPM) y son resuspendidas en H₂O destilada DMSO (el volumen final por cosecha es aproximadamente 50 ml) La determinación de proteína se hace utilizando el kit de ensayo Biora DC Por ultimo, el volumen apropiado se alicuoa en un criotubo (10mg/1-1.5 ml) que se almacena a -80°C

Datos de Lote

Corrientes

α_{1a} (clon #7)

Lote 1/14/98

Concentración de receptor 2418 fmoles/mg proteína

K_d 0.18nM

Volumen 1.5 ml/criotubo

Concentración de Proteína Aprox 10 mg/1.5ml

Requerimiento

Del Ensayo

0.5 criotubos por lámina receptáculo 96 (volumen del ensayo= 200µl/receptáculo)

Ligante [³H]

[7-metoxi-³H]-Prazosina 1.0nM (NEN, NET-823)

70-87 Ci/mmol

Materiales

Fentolamina mesilato (Research Biochemical Int. #P-131)

Láminas fondo plano receptáculo 96 (Beckman)

Lámina Unifilter GF/B (Packard)

Polietilenimina (Sigma #P-3134)

Cosechadores Celulares Tom Tec o Packard Filtermate 196

Contador Chispeante Packard TopCount

Amortiguadores

A 50 mM Tris HCl, 0.1% ascorbato, pH 7.7 (amortiguadores de incubación)

B 50 mM Tris HCl, pH 7.7 (amortiguador de lavado)

Procedimiento

Las adiciones de ensayo son como sigue (en ese orden)

Enlace Total 50 μ l amortiguador A + 50 μ l [^{3} H]prazosina + 100 μ l membrana

Enlace no específico 50 μ l 10 μ M fentolamina + 50 μ l [^{3} H]prazosina + 100 μ l membrana

Compuesto de prueba 50 μ l compuesto + 50 μ l [^{3} H]prazosina + 100 μ l membrana

Los compuestos que se van a evaluar se pesan para que den una solución estándar de 10 mM en DMSO en una lámina de poliestireno receptáculo 24. Esta se diluye a 0.5 mM estándar en H₂O destilada. Se hacen diluciones seriadas en amortiguador A, de las cuales se efectúan adiciones de 50 μ l a la lámina en duplicado con el fin de alcanzar las concentraciones deseadas. Típicamente se usa una lámina receptáculo 96 para evaluar 11 compuestos a 4 concentraciones (10^{-6} - 10^{-9} M) en duplicado. El enlace total y el enlace no específico se determinan en cuadruplicado. Usualmente se ejecuta un estándar con cada ensayo.

La [^3H]prazosina se prepara en amortiguador A de tal manera que cuando se añaden 50 μl por receptáculo, la concentración final es de 10 nM en un volumen final de ensayo de 200 μl . La concentración final debe ser verificada pasando una muestra por un contador chispeante antes de añadir la [^3H]prazosina a la lámina receptáculo 96.

Nota La radioactividad debe prepararse justo antes de hacer las adiciones, de manera que no se permite reposo en el banco por mucho tiempo.

Pretratamiento de la lámina Packard GB/F Las láminas filtro se prehumedecen al menos 30 minutos sobre Amortiguador B congelado que contiene 0.05% polietilenoimina (200 μl /200 μl) para maximizar la eficiencia y minimizar el enlace vacío del filtro.

Incubación y Filtración Una vez se han añadido (y mezclado) el amortiguador, los compuestos, la [^3H]prazosina y la membrana, las láminas receptáculo 96 se incuban durante 40 minutos a 37°C y se separan 3-5 minutos. A los 40 minutos, las láminas se filtran usando un Cosechador Celular Automático Tomtec. La filtración es seguida inmediatamente por lavados en Amortiguador B congelado (volumen total aprox 7 ml).

Secado y Conteo Cada lámina filtro se seca bajo una lámpara de calor durante 15 minutos. Se sella el dorso de la lámina y se añaden 40 μl de líquido Microscint Packard por receptáculo. Usando película Packard, cada lámina se sella.

al calor antes de ser sometida a conteo en un contador chispeante Packard Topcount. Se ha diseñado un programa que cuenta cada lámina dos veces, enviando datos DPM, CPM y TSIS al disco y a la impresora

Análisis de Resultados Los datos DPM y CPM brutos son capturados en el disco e importados a uno de varios paquetes de software (Graphard Prism Ver 2.0, Excel) residentes en el LAN. Se define el enlace específico como la diferencia entre el enlace total y el enlace en presencia de 10 μ M fentolamina. El enlace total es menos de 10% del ligante añadido total. Se emplea software que utiliza análisis de curva de competición de un sitio para el cálculo de IC_{50} y K_i (ecuación Cheng-Prusoff, 1973). El tope y el fondo de la regresión no lineal se mantienen constantes a una inhibición 0% y 100%. La inhibición porcentual de cada concentración de droga es la media de las determinaciones duplicadas.

Referencias

- Vargas, H M y A.J Gorman *Life Sciences* Vol 57, No 25, pp 2291-2308, 1995
- Morrow, A.L y I Creese *Mol Pharmacol* 29 321-330, 1986
- Piascik, M.T, J.W Kusiak, y K.W Barron *Eur J Pharmacol* 11 101-107, 1989
- Vargas, H M, D Cunningham, L. Zhou, H B Hartman y A.J Gorman *J Pharmacol Exp Ther* 267 264-272, 1993

La actividad funcional de los compuestos (es decir, si son antagonistas, agonistas o agonistas parciales) se puede determinar fácilmente usando el método de prueba del microfisiómetro que se presenta a continuación

Células de Ovario de Hámster Chino (CHO), que expresan el receptor D₃ de dopamina humana, se cultivaron sobre la superficie de un vaso encapsulado. Los vasos se ensamblan y se colocan en el microfisiómetro, y se añade amortiguador (Medio Eagle Modificado de Dulbecco sin bicarbonato de sodio y sin suero) mediante perfusión a través del ensamblaje del vaso hasta que se alcanza una línea de base estable (4 horas). La velocidad de perfusión de amortiguador y los cambios de la solución se controlaron mediante computador. La velocidad de acidificación intracelular se midió en cada uno de los 8 ensamblajes de vaso y se registró mediante computador. El compuesto de prueba que contenía amortiguador (10 nM, 100 nM y 1 uM) se perfusionó a través del ensamblaje durante 20 minutos, luego se perfusionó durante 1 minuto adicional quinpirol (10 nM) y el compuesto de prueba (mismas concentraciones). Esto fue seguido por un periodo de recuperación de 10-60 minutos durante los cuales se perfusionó únicamente amortiguador a través de los vasos. El quinpirol incrementó la velocidad de acidificación. Un antagonista D₃ inhibirá esta velocidad de acidificación dependientemente de la concentración.

Los antagonistas D₃ son de uso potencial como agentes antipsicóticos, por ejemplo en el tratamiento de la esquizofrenia, los trastornos esquizo-afectivos, la depresión psicótica y las manías. Los estados que se pueden tratar mediante agonistas D₃ incluyen los trastornos disquinéticos tales como la enfermedad de Parkinson, el parkinsonismo inducido neuroquímicamente y las disquinesias tardías, la depresión, la ansiedad, la demencia, los trastornos del ritmo circadiano y la dependencia de las drogas (por ejemplo, la cocaína).

De acuerdo con otra forma adicional de realización de la presente invención, se presenta un método de modulación de la actividad de los receptores D₃ de dopamina, método que comprende contactar los receptores D₃ de dopamina asociados celularmente con una concentración de un compuesto de la fórmula I, o

con una sal de éste fisiológicamente aceptable, suficiente para modular la actividad de dicho receptor D₃ de dopamina

Tal como se emplea aquí, la expresión "modulación de la actividad de los receptores D₃ de dopamina" se refiere a una variedad de aplicaciones terapéuticas. Dichas aplicaciones terapéuticas se refieren al tratamiento de estados o trastornos que incluyen los trastornos disquinéticos, psicosis, trastornos de ansiedad, trastornos de estado de ánimo, demencia, trastornos del sueño, dependencia de sustancias, abuso de sustancias y náusea. Los compuestos también son útiles para el tratamiento de la disfunción renal.

La presente invención también proporciona un método para el tratamiento de los estados o desórdenes del sistema nervioso central que comprende administrar al paciente que lo requiere una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula I o una sal de éste farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona un método para el tratamiento de la disfunción renal que comprende administrar a un paciente que lo requiere una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula I o una sal de éste farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona un método para el tratamiento de estados o desórdenes del sistema nervioso central que comprende administrar a un paciente que lo requiere una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la fórmula I o una sal de éste farmacéuticamente aceptable, junto con uno o más antagonistas de los receptores D₁, D₂, D₄, D₅, ó 5HT.

Al tratar a un paciente que padece un estado o trastorno descrito anteriormente, se puede administrar un compuesto de la fórmula I en cualquier forma o manera que haga dicho compuesto biodisponible en cantidades terapéuticamente

eficaces, incluyendo la forma oral, sublingual, bucal, subcutánea, intramuscular, intravenosa, transdermal, intranasal, rectal, tópica y similares. Las personas versadas en la técnica de preparar formulaciones pueden determinar la forma o manera adecuada de administrarlo, dependiendo de las características particulares del compuesto seleccionado para el estado o la enfermedad a tratar, la etapa de la enfermedad, el estado del paciente y otras circunstancias relevantes. Ver, por ejemplo, *Pharmaceutical Sciences* de Remington, 18ª Ed., Mack Publishing Co (1990), que se incorpora aquí a modo de referencia.

Los compuestos de la fórmula I se pueden administrar solos o en forma de una composición farmacéutica en combinación con vehículos farmacéuticamente aceptables, cuya proporción y naturaleza se determinan según la solubilidad y propiedades químicas del compuesto seleccionado, la ruta de administración escogida, la práctica farmacéutica estándar y otros criterios relevantes.

Los compuestos de la fórmula I pueden administrarse oralmente, por ejemplo, en forma de tabletas, pastillas, cápsulas, elixires, suspensiones, soluciones, jarabes, obleas, gomas de mascar y similares y pueden contener uno o varios de los siguientes coadyuvantes: aglutinantes tales como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina, excipientes tales como almidón o lactosa, agentes desintegrantes tales como ácido algínico, primogel, almidón de maíz y similares, lubricantes tales como estearato de magnesio o Sterotex, agentes deslizantes tales como dióxido de sílice coloidal, y se pueden agregar agentes endulzantes tales como sacarosa o sacarina o un agente de sabor tal como menta, metil salicilato o sabor a naranja. Cuando la forma de dosificación es una cápsula, entonces puede contener además de los materiales del tipo mencionado arriba, un vehículo líquido tal como polietileno glicol o un aceite graso. Otras formas de dosificación pueden contener otros varios materiales que modifican la forma física de la unidad de dosificación, por ejemplo como cubiertas. Así, las tabletas o píldoras pueden estar cubiertas con azúcar, goma laca u otros agentes de

recubrimiento entérico Un jarabe puede contener, además de los presentes compuestos, sucrosa como agente endulzante y ciertos preservativos, tintes y colorantes y sabores

Los compuestos de la fórmula I también pueden administrarse tópicamente, y cuando se hace así, el vehículo puede por conveniencia contener una solución, ungüento o base de gel La base, por ejemplo, puede comprender una o varias de las siguientes sustancias petrolato, lanolina, glicoles de polietileno, cera de abeja, aceite mineral, diluyentes como agua y alcohol, y emulsificantes y estabilizadores

Las soluciones o suspensiones pueden incluir también uno o varios de los siguientes coadyuvantes diluyentes esterilizados, tales como agua para inyección, solución salina, aceites fijos, glicoles de polietileno u otros solventes sintéticos, agentes antibacteriales tales como alcohol bencílico o metil parabeno, antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio, agentes quelantes tales como ácido etileno diaminatetraacético, buffers tales como acetatos, citratos o fosfatos, y agentes para el ajuste de la tonicidad tales como cloruro de sodio o dextrosa La preparación parenteral puede envasarse en ampollitas, jeringas desechables o frascos de dosis múltiples

Los altamente lipofílicos ésteres, amidas y carbamatos de los compuestos I son capaces de liberación sostenida en mamíferos durante un periodo de varios días o de aproximadamente una a cuatro semanas al formularse o administrarse como formulaciones depósito, como por ejemplo al ser inyectados en aceite farmacéuticamente aceptable apropiadamente seleccionado Los aceites preferidos son de origen vegetal, tales como aceite de sésamo, aceite de semilla de algodón, aceite de oliva y similares, o bien son ésteres sintéticos o ácidos grasos y alcoholes polifuncionales tales como glicerol o propilenoglicerol

Las composiciones depósito de la fórmula I se preparan disolviendo en condiciones esterilizadas un éster, amida o carbamato altamente lipofílicos de la presente invención en un aceite farmacéuticamente aceptable bajo condiciones estériles

El rango de dosificación en el que los compuestos de la fórmula I muestran su capacidad para actuar terapéuticamente puede variar dependiendo de la enfermedad o condición que se esté tratando y su severidad, el paciente, la formulación, de otros estados de enfermedad subyacentes que sufre el paciente, y de otros medicamentos que se puedan estar administrando simultáneamente al paciente. Generalmente los compuestos de la fórmula I mostrarán sus actividades terapéuticas a niveles de dosificación entre aproximadamente 0.001 mg/kg de peso corporal del paciente/día y aproximadamente 100 mg/kg de peso corporal del paciente/día.

En otro aspecto, la presente invención proporciona nuevos agentes radioetiquetados reproductores de la imagen de la fórmula I, útiles entre otras cosas para reproducir la imagen de los receptores D₃ de dopamina en el sistema nervioso central para diagnosticar anomalías del sistema nervioso central.

Los compuestos de formas radioetiquetados (tritiados y etiquetados C-14) de la fórmula I son útiles como radioligandos para determinar el enlace de compuestos al receptor D₃ de dopamina. Ellos son útiles como compuestos padres etiquetados para determinar el metabolismo del compuesto en animales. Para este propósito se prefieren los compuestos de la fórmula I donde R es grupo (a) con un ¹⁴C radioetiquetado en la 3ª posición del anillo benzo[b]tiofeno, L es trifluorometil, p es 1, R₃ es hidrógeno, n es 1, i es 0, y A es N. Particularmente preferidos para este propósito son los compuestos de la fórmula IA. Como se emplea aquí, un "compuesto de la fórmula IA" se referirá al compuesto de la fórmula I donde R es grupo (a) donde L es trifluorometil sustituido en la 6ª posición del anillo benzotiofeno.

y un ^{14}C radioetiquetado está en la 3 posición del anillo benzo[b]tiofeno, p es 1, A es N, n es 1, i es 0, y R_3 es hidrogeno. Los compuestos de la fórmula IA se pueden preparar de manera análoga a la expuesta en el ejemplo 21

En una variedad de trastornos mentales y siquicos, tales como la enfermedad de Parkinson (PD) se han implicado imbalances en la producción de dopamina. Por lo tanto, es conveniente diagnosticar y monitorear tales imbalances y monitorear la eficacia de las drogas y sustancias que afectan la química cerebral. Actualmente se han desarrollado nuevos y poderosos métodos de reproducción de la imagen que posibilitan la evaluación *in vivo* del cerebro vivo. Métodos tales como la tomografía de emisión de positrones (PET) y la tomografía computarizada de emisión de fotones individuales (SPECT) involucran administrar a un paciente una sustancia rastreable radioactiva que comprende un ligante que se enlaza a los neuroreceptores presinápticos y postsinápticos en el cerebro del paciente. Se miden las emisiones (básicamente se emiten rayos gamma desde los positrones o fotones desde el rastreador radiactivo). Estas emisiones indican el número y grado de ocupación o bloqueo de los neuroreceptores. El número de receptores o el grado de ocupación o bloqueo se calculan utilizando un modelo matemático y efectuando la comparación con un control intra-persona o inter-persona para determinar el grado de respuesta de la droga. El tratamiento adicional del paciente con drogas se basa en las comparaciones hechas. Sin embargo, para que estos métodos sean útiles se requiere un ligante que tenga alta especificidad y afinidad por el receptor deseado.

Se cree que ciertos ligantes radiactivos pueden ser selectivos por los transportadores de dopamina y, por lo tanto, potencialmente útiles para evaluar los cambios en la función de la dopamina *in vivo* o *in vitro*, especialmente para pacientes con enfermedad de Parkinson, la cual se caracteriza por una pérdida selectiva de las neuronas de dopamina en el ganglio basal y en la sustancia nigra.

Otro aspecto de esta invención se refiere a métodos para utilizar los compuestos de la invención como agentes reproductores de la imagen del sistema nervioso central. Las técnicas de reproducción de la imagen son técnicas de diagnóstico no invasivas que generalmente involucran administrar externamente a un mamífero un compuesto con átomos marcadores que pueden ser detectados. Generalmente, estos métodos comprenden administrar a un mamífero el compuesto de la invención disuelto o disperso en un vehículo o diluyente farmacéuticamente apropiado. El compuesto de la invención se enlaza selectivamente al receptor D₂ de dopamina, permitiendo así reproducir la imagen de los receptores del sistema nervioso central y haciendo posible entre otras cosas evaluar la química cerebral, la eficacia de las drogas y las funciones neuronales. Las técnicas de reproducción de la imagen que son adecuadas para poner en práctica la presente invención incluyen-aunque sin limitarse a ellas- la tomografía computarizada de emisión de fotones individuales (SPECT) y tomografía de emisión de positrones (PET).

Entre los radionúclidos ampliamente usados en medicina nuclear diagnóstica están tecnecio [⁹⁹Tc], yodo [¹²³I], carbono [¹¹C], y fluor [¹⁸F]. El agente radioetiquetado reproductor de la imagen que se ejemplifica específicamente aquí contiene el radionúclido ¹¹C. Hay que anotar que las mismas reacciones radioquímicas o reacciones radioquímicas similares se pueden realizar utilizando radionúclidos distintos al ¹¹C.

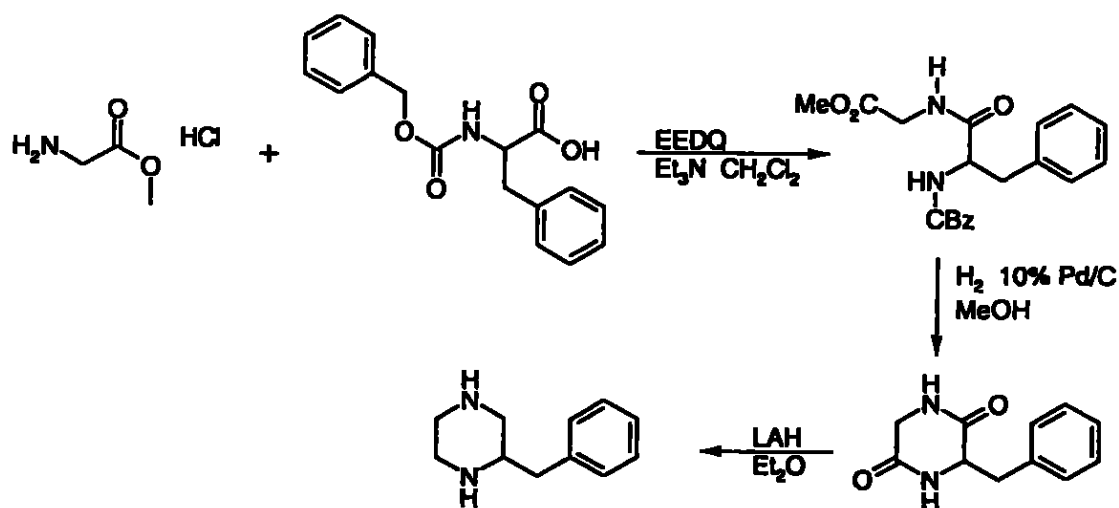
La presente invención se ilustra además con los siguientes ejemplos no limitantes y la siguiente información tabulada. Se entiende que estos ejemplos son ilustrativos solamente y no pretenden de ninguna manera limitar el alcance de la presente invención. Tal como se usan aquí, los siguientes términos tienen los significados indicados: "g" se refiere a gramos, "mmol" se refiere a milimoles, "ml" se refiere a mililitros, "°C" se refiere a grados Celsius, "TLC" se refiere a cromatografía de capa delgada, "LC/MS" se refiere a cromatografía

liquida/espectometría de masa, "APCI" se refiere a ionización química a presión atmosférica, "mp" se refiere a punto de fusión

EJEMPLOS

Ejemplo 1

Síntesis de Piperazinas Sustituidas Intermedias



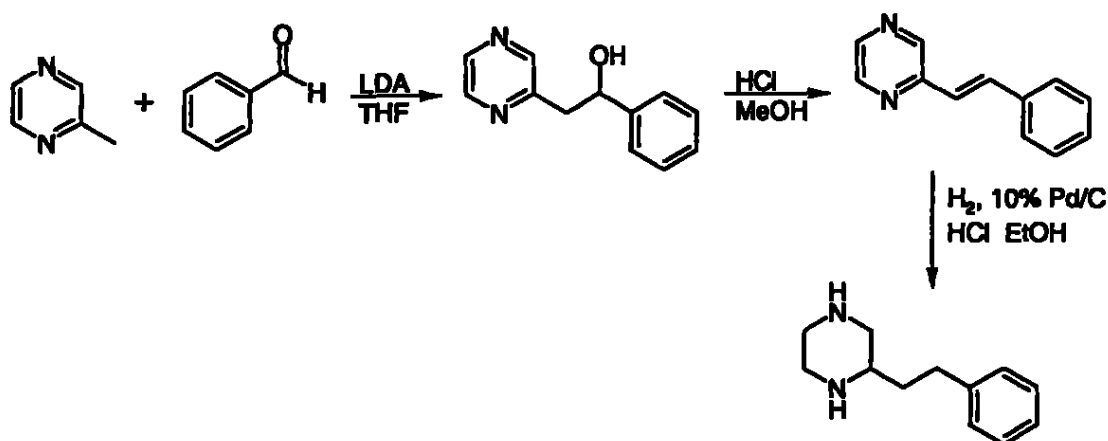
Ejemplo 1(a) Preparación de 3-bencil-piperazina intermedia

A una suspensión de 3-bencil-piperazina-2,5-diona (14.98 g, 73 mmol, preparada siguiendo generalmente el procedimiento de Halpern y Wstley, J Org Chem, 1968, 33, 864) en éter dietílico seco (500 mL) se añade gota a gota a una solución de hidruro de aluminio de litio (400 mL de 1M solución en éter dietílico, 400 mmol,

5.4 eq) La suspensión se calienta a reflujo durante 23 horas y se enfría luego a 0°C. Luego se añade agua (70 mL) cuidadosamente y se calienta la suspensión resultante a temperatura ambiente. Después de 3 horas, la suspensión se filtra y el sólido se lava con éter dietílico (1 L). El filtrado se concentra al vacío para proporcionar compuesto de título crudo (11.40 g, 88%) en forma de sólido cristalino amarillo. Una muestra (2 g) se recrystaliza de ciclohexano y luego de tolueno para proporcionar el compuesto de título purificado (0.83 g) como cristales blancos finos mp 80-81 °C.

Análisis calculado para $C_{11}H_{16}N_2$,
Encontrado

C, 74.96, H, 9.15, N, 15.89,
C, 74.84, H, 9.01, N, 16.15



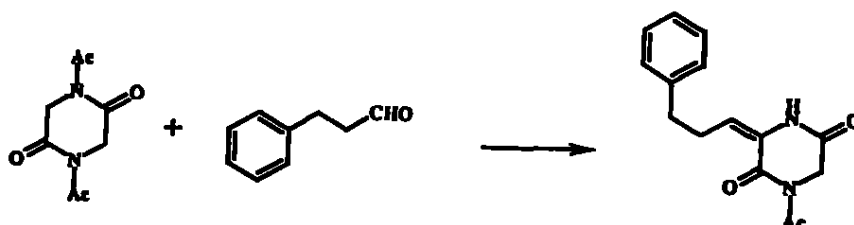
Ejemplo 1(b) A una solución de LDA (285 mL, 0.59 mol, 2 M en heptano/THFetilbenceno) en THF anhidro (300 mL) enfriada hasta -40 °C se le añadió 2-metilpirazina (48.5 mL, 0.531 mol) gota a gota a través de un embudo de adición. Después de completada la adición, se permitió que la reacción se calentara hasta temperatura ambiente y se agitó durante 40 horas. Se enfrió

entonces la reacción en un baño de hielo y se añadió NH_4Cl (500 mL) saturado. La mezcla resultante se extrajo con EtOAc (500 mL, 250 mL). Se secaron los extractos combinados (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron hasta obtener un sólido húmedo color beige. Se trituro el producto con Et_2O y se recolectó, secándose durante la noche para producir 56.0 g (53%) de un sólido color castaño claro, mp 81-84 °C.

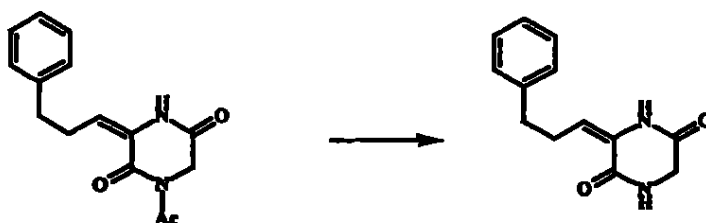
Una solución del sólido arriba obtenido (56.0 g, 0.28 mol) en MeOH (1 L) y HCl (290 mL) concentrado se agitó a reflujo durante 24 horas. La reacción se enfrió hasta temperatura ambiente y se concentró para obtener un líquido oscuro. El líquido oscuro se enfrió en un baño de hielo y se le añadió agua (1 L). La solución resultante fue neutralizada con una solución saturada Na_2CO_3 y el producto se extrajo con EtOAc (1 L, 2 x 500 mL). Los extractos combinados se secaron (Na_2SO_4), se filtraron y se concentraron para producir 46 g de un sólido castaño oscuro. El sólido se purificó mediante cromatografía de columna de centelleo (40% EtOAc en heptano), produciendo 22.7 g de la olefina en forma de espuma color castaño.

Una botella agitadora Parr de 1 L fue lavada con nitrógeno y cargada con 10% Pd/C (4.5 g, tipo Degussa) y la olefina obtenida arriba (20.0 g, 0.110 mol) en EtOH (450 mL). La reacción se hidrógeno a 50 psi durante 3.5 horas, entonces se filtró la reacción a través de un tapón de celita y fue enjuagada con etanol. La botella se recargó con 10% Pd/C (4.5 g, tipo Degussa) el filtrado y el HCl concentrado (15 mL). La reacción se hidrógeno a 50 psi durante 18 horas, entonces se diluyó la reacción con MeOH caliente y se filtró a través de un tapón de celita. El sólido se lavó completamente con MeOH caliente y el filtrado se concentró para producir 11.2 g (39%) del producto final como la sal di-HCl, mp 297-300.

Ver Tetrahedron, 30, 1974 pp 667-673 y Tel Lett, 1979, pp 4483-4486

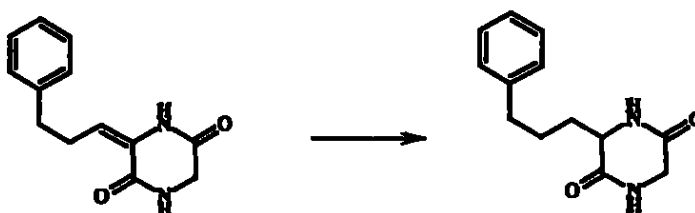


Ejemplo 1 (c) Se añadió DBU (14.0 g, 92 mmol) a una solución de diacetato de piperazina (18.2 g, 92 mmol) y aldehído (12.3 g, 92 mmol) en 92 mL de DMF a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. El producto precipitado se recolectó mediante filtración, dando 17.1 g de producto.

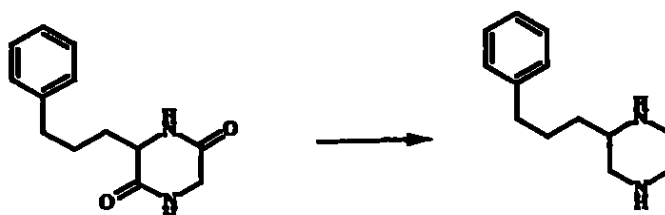


El monocetato (17.0 g, 62.8 mmol) e hidrato de hidracina (9.4 g, 188.6 mmol) en 125 mL de DMF se agitaron a temperatura ambiente durante 20 horas. El sólido

precipitado se recolectó mediante precipitación, se lavó con agua y etanol, produciendo 13.7 g de producto

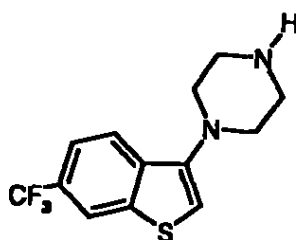


La olefina (13.6 g, 59.1 mmol) y paladio sobre carbono (2.7 g, 10% Pd/C, tipo Degussa, 50% H₂O) en 1.2 L de metanol se agitaron en un aparato de hidrogenación Parr a 40 psi de hidrógeno, hasta que cesó la toma de hidrógeno. La mezcla se diluyó con diclorometano y se filtró a través de celita. La concentración del filtrado produjo 12.1 g de producto.



Una solución de LAH (156 mL, 156 mmol, 1M en THF) se añadió gota a gota a una solución a 0°C de piperazina diona (12.1 g, 52.1 mmol) en 100 mL de THF. La mezcla se calentó a reflujo y se agitó de un día para otro. La mezcla se enfrió a 0°C y se añadieron 30 mL de agua en 200 mL de THF. La mezcla resultante se agitó durante 1 hora, luego se filtró, el filtrado se lavó con THF y se concentró al vacío para dar 7.4 g del producto.

Ejemplo 2



Hidrocloreto de 1-(6-(trifluorometil)-benzo[b]tien-3-il)-piperazina

2a. 2-Carbometoxi-3-amino-6-trifluorometilbenzo[b]tíofeno

Equipe una botella de fondo redondo de 3 cuellos y 22 L con un agitador mecánico, un burbujeador de nitrógeno y una sonda termopar, cargue con 1.20 kg (5.55 moles) de 2-nitro-4-trifluorometilbenzonitrilo, 589.3 g (496 mL, 5.55 moles) de metilo tioglicolato y 4 L de NMP. Enfríe la solución amarilla resultante a 2 °C y añada lentamente durante un periodo de 78 minutos una solución preparada de 466.0 g (11.1 moles, 2.0 eq) de monohidrato de litio en 3.36 L de agua, manteniendo mientras tanto la temperatura entre 1 –20 °C. Permita que el lodo líquido color castaño se caliente a 21 °C durante un periodo de 2 horas y entonces diluya con 8.0 L de agua (observe exotermo->27 °C). Agite durante 40 minutos y

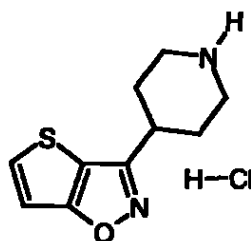
enfríe a 18 °C, recolecte el producto mediante filtración, enjuague con 10 L de agua, luego seque al aire a temperatura ambiente para obtener 1 295 kg (rendimiento 84 7%) de carbometoxi-3-amino-6-trifluometilbenzo[b]tiofeno como un sólido amarillo claro, 99 8% puro segun ensayo de cromatografía líquida de alta presión

2b Hidrocloruro de 1-(6-trifluometil)-benzo[b]tien-3-il)-piperazina

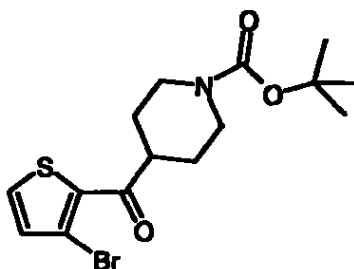
Equipe una botella de fondo redondo de 3 cuellos y 12 L con un agitador mecánico, un burbujeador de nitrógeno y una sonda termopar, cargue con 1 14 kg (4 14 moles) de 2-carbometoxi-3-amino-6-trifluometilbenzo-[b]tiofeno, Ejemplo 2a, 196 G (2 28 moles, 0 55 eq) de piperazina, 4 L de NMP y 270 mL de xileno Caliente la solución y manténgala a 170-180 °C durante 4 horas, momento en el cual la reacción está aproximadamente 98% completa segun lo determinado mediante ensayo de cromatografía líquida de alta presión Enfríe la solución castaña a 168 °C y luego añada 1 605 kg (18 63 moles, 4 5 eq) de piperazina (tem -> 109 °C) siguiendo con 1 575 kg (28 28 moles, 2 0 eq) de monohidrato de ácido p-toluenosulfónico (observe exotermo, 109 - >130 °C) Conecte un colector Dean Stark al condensador y caliente la reacción para recolectar un azeotropo Retire un total de 410 mL de un destilado acuoso, permitiendo que la temperatura del recipiente aumente de 145 a 165 °C Controle el desarrollo de la reacción mediante ensayos de GC/MS y cromatografía líquida de alta presión Después de 14 horas a aprox. 165 °C (>99% de conversión segun ensayos de cromatografía líquida de alta presión y GC/MS), enfríe la reacción a 30-35 °C y luego amortigue en un extractor que contiene 5 kg de hielo, 12 L de agua y 8 5L de tolueno Separe las fases, lave el extracto orgánico con 11 L de 0 5 N NaOH, 2 L de NaCl acuoso saturado y luego extraiga con 8 L de 1N HCl Diluya el extracto acuoso ácido con 1 kg de hielo, y basifique a un pH de 11 2 añadiendo 624 g de 50% NaOH Extraiga la mezcla resultante con 9 5 L de tolueno Lave el extracto de tolueno con 2 L de

NaCl acuoso saturado, seque (Na_2SO_4) y filtre. Cargue el filtrado en una botella de fondo redondo de 3 cuellos y 22 L (N_2 , agitación mecánica, sonda de control de temperatura) y añada un total de 3.7 L de 1N HCl etéreo a 20-27 °C de tal manera que la mezcla sea positiva al papel indicador Congo Red. Durante la adición de HCl añada un total de 2.5 L de tolueno para mejorar la agitación del lodo líquido resultante. Agite a temperatura ambiente durante 40 minutos, filtre el lodo y lave con 4.5 L de tolueno. Luego de secar al aire, se obtiene 1.165 kg (rendimiento 87%) de hidrocloreto de 3-piperazinil-6-trifluorometil-benzo[b]tiofeno como un sólido color rosado-beige claro, 99.1% puro según ensayo de GC/MS.

Ejemplo 3

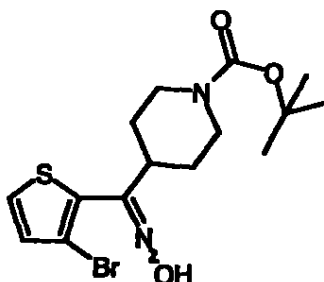


Hidrocloreto de 3-Piperidinil-4ll-tieno[2,3-d]isoxazol



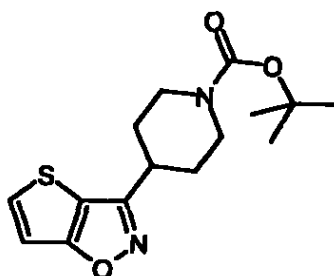
3a Ester terc-butílico de ácido 4-(3-Bromo-tiofen-2-carbonil)-piperidina-1-carboxílico

Agite una solución, bajo nitrógeno, de 3-bromotiofeno (21 mL, 0.224 mol) en tetrahidrofurano (1.0 L) a 78 °C y añada una solución de 2.0M de disopropilamida de litio en heptano/tetrahidrofuran/etilbenceno (112 mL, 0.224 mol) durante 45 minutos. Agregue gota a gota, sobre 2 h, una solución de 1,1-éster tetrahidrofuran de ácido 4-(N-metoxil-N-metilcarboxamido)-1-piperidinocarboxílico (preparado de acuerdo con US 5,134,139, 139) (79.4 g, 0.291 mol) en tetrahidrofuran (800mL). Agite durante 2 horas, añada una solución de cloruro de amonio saturado, y agite durante 0.5 hora adicional. Filtre el sólido resultante, y cierta el filtrado en agua (800 mL). Extraiga la mezcla acuosa con éter y concentre para obtener un líquido oscuro. Vierta el líquido en agua (400 mL), añada NaCl y extraiga la mezcla acuosa con éter. Enjuague el extracto con agua, solución salina y seque sobre Na₂SO₄. Filtre y concentre para obtener el producto crudo. Cromatografía el producto sobre gel de sílice (porcentaje éter/éter, 4:1) para obtener 41.5 g (50%) de sólido blanco.



3b. Ester terc-butílico de ácido 4-[(3-Bromo-tiofen-2-il)-hidroximino-metil]-piperidina-1-carboxílico

Agite una mezcla de Ester terc-butílico de ácido 4-(3-Bromo-tiofen-2-carbonil)-piperidina-1-carboxílico (Ejemplo 3a) (41.5 g, 0.11 mol), hidrocloreto de hidroxilamina (15.4 g, 0.23 mol) y pindina (190 mL) a temperatura ambiente de un día para otro. Vierta la reacción en agua (500 mL) y extraiga con diclorometano (3x). Lave los extractos combinados con solución de CuSO_4 saturada (2x), seque (MgSO_4) y concentre en un sólido verde. Disuelva el sólido en tolueno (175 mL) y deje reposar a temperatura ambiente durante 3 horas. Recolecte los cristales resultantes que se forman y lávelos con tolueno (60 mL). Concentre el filtrado y disuelva nuevamente el residuo en tolueno y proceda a recolectar cristales adicionales para obtener un rendimiento total de 25 g (58%) del compuesto del título como un sólido verde claro.



3c. Ester terc-butílico de ácido 4-Tieno[2,3-d]isoxazol-3-il-piperidina-1-carboxílico

Añadir a una solución en agitación de ester terc-butílico de ácido 4-[(3-Bromotiofen-2-il)-hidroximino-metil]-piperidina-1-carboxílico (Ejemplo 3b) (25 g, 64.2 mmol) en 2-metoxietanol (200 mL), una solución de hidróxido de potasio (7.2 g,

128.4 mmol) en agua (20 mL). Caliente la reacción a 60°C y después añada polvo de cobre (1.25 g). Agite a 60-70°C por 6 horas y después a temperatura ambiente de un día para otro. Vierta la mezcla de la reacción en agua (500 mL) y extraiga con EtOAc (3x). Concentre en un residuo oscuro y purifique mediante cromatografía de columna sobre gel de sílice (heptano/EtOAc, 4:1) para producir 9.8 g (50%) de un sólido blanco.

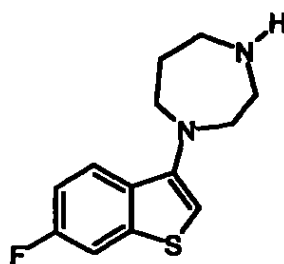
3d. Hidrocloruro de 3-Pipendinil-4-il-tienol[2,3-d]isoxasol

Añada HCL etéreo (10 mL) a ester terc-butílico de ácido 4-Tieno[2,3-d]isoxasol-3-il-piperidina-1-carboxílico (Ejemplo 3c) (1.0 g, 3.2 mmol) y después metanol (1 mL) para efectuar la solución. Permita que repose a temperatura ambiente durante 1 hora y después recoja 0.34 g de sólido blanco, mp 263-265 °C. Del filtrado recolecte 0.25 g de sólido blanco adicional, mp 263-265 °C. Las dos muestras MS, m/z=209 (M+H)⁺.

Análisis (muestra mp 263-265 °C)

Calculado para C ₁₀ H ₁₂ N ₂ OS HCl	49.08%C	5.35%H	11.45%N
Encontrado	49.03%	5.29%H	11.25%N

Ejemplo 4



1-(6-Fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-[1,4]diazepano

4a Acido 3-amino-6-fluoro[b]tiofen-2-carboxílico

A 50 °C, añada a una solución en agitación de 2-carbometoxi-3-amino-6-fluoro-benzo[b]tiofeno (preparado de acuerdo con US 5,143,923), (90 1g, 0 4 mol) en H₂O (450mL), una solución acuosa al 50% de NaOH (64 g, 0 8 mol) por 2-3 minutos Caliente la solución a 70-73 °C y continúe agitando durante 3 horas Añada 10% de isopropanol acuoso (45 mL) y lleve a reflujo Retire el isopropano bajo N₂ y agregue H₂O (300mL) Enfrie la mezcla de la reacción hasta entre 7-10°C y agregue HCl concentrado (80 mL) Agregue H₂O (650 mL), enfrie a 5-7 °C, filtre el sólido resultante, y lave el pastel filtrado con H₂O (2x150 mL) Deque el sólido al vacío a 35 °C para obtener 80 6 g (97%) de sólido mp 160-163 °C, TLC gel de sílice (diclorometano/metanol, 3 1), R_f=0 69

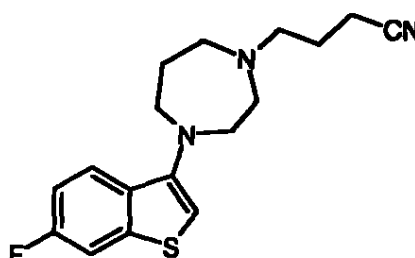
4b 1-(6-Fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-[1,4]diazepano

Caliente una solución de ácido3-amino-6-fluoro-benzo[b]tiofen-2-carboxílico (5 0 g, 24 mmol) en 1-metil-2-pirrolidinona (5 ml) a 100°C por 2 horas, y después, introduzca una corriente de nitrógeno, para enfriar la solución a temperatura ambiente Añada homopiperazina (9 5 g, 95 mmol) y monohidrato de ácido sulfónico p-tolueno (9 0 g, 47 mmol) y caliente la mezcla a 145 °C por 4 horas Después de ese tiempo, enfrie la mezcla de la reacción a temperatura ambiente, diluya con etil acetato (30 mL) y lave con solución salina (3x15 mL) Separe la capa orgánica y seque sobre MgSO₄. Evapore el solvente y purifique el producto crudo mediante cromatografía de columna (SiO₂, 100 g CH₂Cl₂/MeOH 9 2, después CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 9 2 0 15) para dar 3 9 g (65%) de aceite amarillento LC/MS (LiCrósfero 5 µ, RP-18, 250 mm

CH₃CN/Agua-gradiente 20% → 100% (25 minutos), Flujo 1.5 mL/min

t_R = 10.74 min, m/z = 250.3

Ejemplo 5

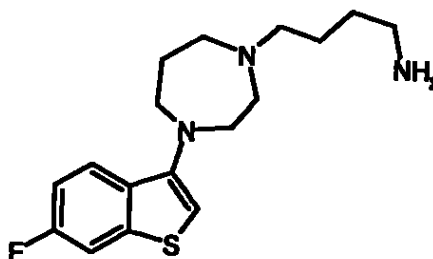


4-[4-(6-Fluorobenzo[b]thiophen-3-yl)-1,4-diazepan-1-yl]butyronitrile

Añada carbonato de potasio (39.3 g, 284 mmol) a una solución de 1-(6-Fluorobenzo[b]thiophen-3-yl)-1,4-diazepano (Ejemplo 4) (23.7 g, 95 mmol) y 4-bromobutironitrilo (21.0 g, 142 mmol) en acetonitrilo (400 mL) y agite la mezcla bajo reflujo durante 10 horas. Filtre la mezcla, evapore el solvente, y disuelva el residuo en etil acetato (EtOAc). Lave con agua y solución saturada de cloruro de sodio, y seque la fase orgánica sobre MgSO₄. Evapore el solvente al vacío, y purifique el producto crudo mediante cromatografía de columna (EtOAc/MeOH 9:1) para producir 12.9 g de un aceite amarillo LC/MS, (Licrosfero 5 μ , RP-18, 250 mm CH₃CN/Agua (0.05% TFA)-gradiente 2% → 98% (20 minutos), Flujo 0.75 mL/min).

t_R = 9.46 minutos, m/z = 317.3

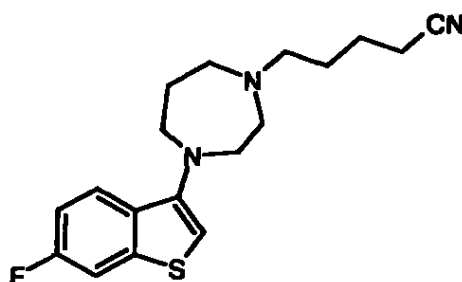
Ejemplo 6



4-[4-(6-Fluoro-benzo[b]tiofen-3-yl)-[1,4]diazapan-1-yl]butilamina

Añada por 30 minutos, a temperatura ambiente, una solución de LiAlH_4 en éter dietil (1M, 72.5 mL) a una solución de 4-[4-(6-Fluoro[b]tiofen-3-yl)-[1,4]diazepan-1-yl]butirónitrilo (Ejemplo 5) (11.5 g, 36.2 mmol) en éter dietil seco (200 mL). Caliente la solución al reflujo durante 5 horas. Después de este tiempo, deje enfriar la solución a temperatura ambiente y cuidadosamente enfríe la reacción con agua y solución acuosa de hidróxido de sodio. Separe las fases, y re-extraiga la fase acuosa con EtOAc. Seque las fases orgánicas combinadas sobre MgSO_4 , y retire el solvente al vacío. Purifique el producto crudo mediante cromatografía de columna ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$ 9:2:0.25) para obtener 8.9 g de un aceite sin color. LC/MS, (LiCosphere 5 μ RP-18, 250 mm $\text{CH}_3\text{CN}/\text{Agua}$ (0.05% TFA)-gradiente 2% $\rightarrow$ 98% (20 minutos), Flujo 0.75 mL/min), t_R =7.79 minutos, m/z = 321.3.

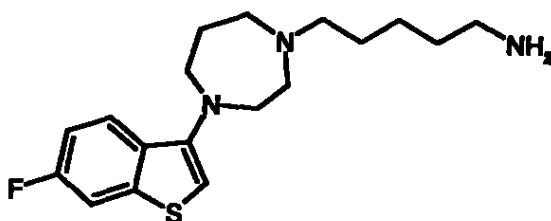
Ejemplo 7



4-[4-(6-Fluoro-benzo[b]tufofen-3-Il)-[1,4]diazapan-1-Il]pentano-nitrilo

Siga el procedimiento del Ejemplo 5, y sustituya el pentanonitrilo por butironitrilo en éste para obtener el compuesto del título (LiCroósfero 5 μ , RP-18, 250 mm CH₃CN/Agua (0.05% TFA)-gradiente 2% $\rightarrow$ 98% (20 minutos), flujo 0.75 mL/min) t_R = 10.4 min, m/z =331.5

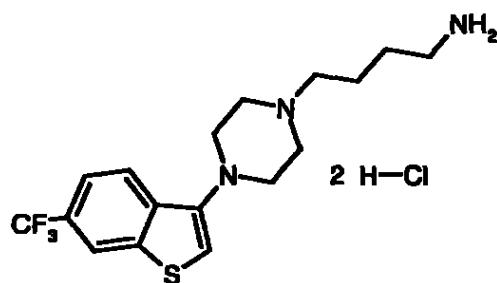
Ejemplo 8



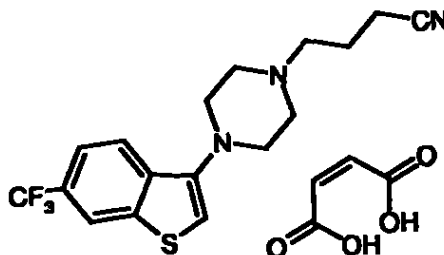
4-[4-(6-Fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-[1,4]diazapan-1-il]pentilamina

Siga el procedimiento del Ejemplo 6, y sustituya 4-[4-(6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-[1,4]diazapan-1-il]pentanonitrilo (Ejemplo 7) en éste para obtener el compuesto del título LC/MS, (LiCrosfero 5 μ , RP-18, 250 mm CH₃CN/Agua(0.05% TFA)-gradiente 2% $\rightarrow$ 98% (20 min), Flujo 0.75 mL/min), t_R = 8.31 min, m/z = 335.5

Ejemplo 9



Dihidrocioruro de 4-[6-(trifluorometil)-benzo[b]tien-1-piperazinebutanamina



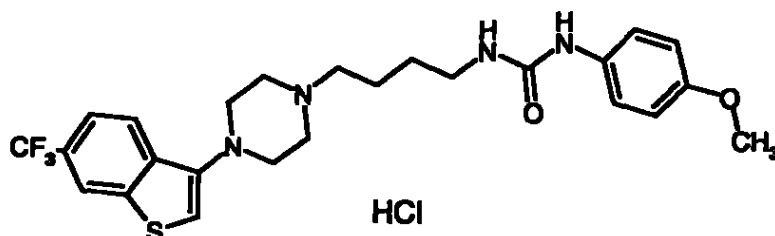
9a. (z)-2-Butenodioato 4-(6-(trifluorometil)-benzo[b]tien-3-il)-1-piperazinebutil-nitrilo

Haga refluir una mezcla de 1-(6-(trifluorometil)-benzo[b]tien-3-il)-piperazina (Ejemplo 2) (10.1 g, 35.3 mmol), 4-bromobutironitrilo (6.25 g, 42.3 mmol), carbonato de potasio anhidro (8.00 g, 57.9 mmol), y acetonitrilo anhidro (80 mL) durante 18 horas. Filtre la pasta aguada, lave los insolubles con diclorometano (2x150 mL), y concentre el filtrado al vacío. Recoja el residuo en el diclorometano (125 mL), lave con 5% de NaOH (75 mL) acuoso, agua (75 mL) y seque (K_2CO_3). Concentre al vacío y cromatografía el producto crudo sobre gel de sílice (1EtOAc) para obtener 10.3 g (82%) de aceite ámbar. Añada a una solución etanólica del aceite (1.2 g, 3.40 mmol), ácido maleico (400 mg, 3.45 mmol) y concentre la solución al vacío para recibir una goma. Triture la goma con EtOAc para dar un sólido. Re-cristalice el sólido de metanol/EtOAc para obtener 1.01 g de cristales blancos, mp 158-159°C.

Análisis

Calculado para $C_{21}H_{22}F_3N_3O_4S$	47.45%C	5.62%H	9.76%N
Encontrado	47.10%	5.67%H	9.62%N

Ejemplo 10



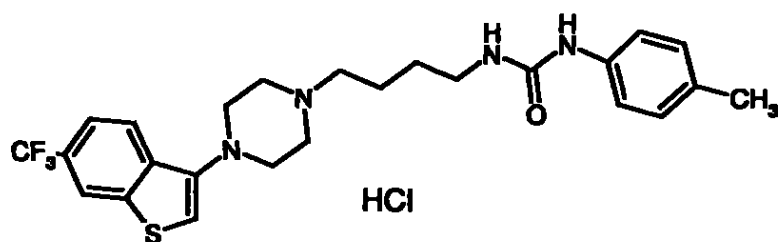
Hidrocloreto de 1-(4-metoxi-fenil)-3-{4[4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazin-1-il]-butil}-urea

Bajo nitrógeno, agregue 4-metoxifenil isocianato (0.42 g, 2.8 mmol) en CHCl_3 (18 mL) a una solución en agitación de 4-[6-trifluorometil]-benzo[b]tien-1-piperazinebutanamina (base libre del Ejemplo 9b) (1.0 g, 2.8 mmol) en CHCl_3 (10 mL). Deje que la reacción se agite a temperatura ambiente durante 18 horas, filtre el sólido resultante, lave con CHCl_3 y obtenga 1.0 g de un residuo pegajoso. Somete a cromografía el residuo sobre 40 g de gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}$, 24:1), y obtenga unos 100 mg adicionales de producto. Combine las muestras, disuelva en EtOAc-MeOH caliente (100 mL-2 mL), filtre y después de enfriar agregue HCl etéreo para precipitar la sal de hidrocloreto. Después de 2 horas recolecte 787 mg de la sal como un sólido blanco, mp 228-231°C. Agite el sólido en acetonitrilo refluente durante 45 minutos, deje que la mezcla se enfríe y filtre el sólido para obtener 570 mg del compuesto del título como un sólido blanco, mp 240-242°C.

Análisis

Calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot \text{HCl}$	55.29%C	5.57%H	10.32%N
Encontrado	55.21%C	5.71%H	10.22%N

Ejemplo 11



Hidrocloreto de 1-(4-metil-fenil)-3-{4-[4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazin-1-il]-butil}-urea

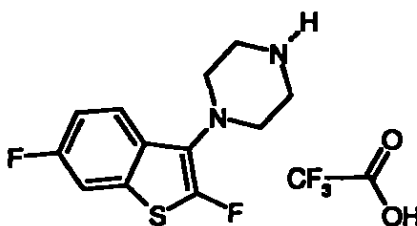
Agregar isocianato de p-tolil (0.1 g, 3.1 mmol) en CHCl_3 (8 mL) a una solución en agitación de 4-[6-trifluorometil)-benzo[b]tien-1-piperazinebutanamina (base libre del Ejemplo 9b) (1.1 g, 3.1 mmol) en CHCl_3 (8 mL). Deje que la reacción se agite a temperatura ambiente durante 63 horas, filtre el sólido resultante, lávelo con CHCl_3 y obtenga 677 mg de producto como un sólido beige. Disuelva el sólido en EtOAc-MeOH caliente (100 mL-2 mL), filtre y después de enfriarse añada HCl para precipitar una sal hidrocloreto. Recolecte 869 mg de la sal como un sólido blanco, mp 231-234°C.

Recrystalice el sólido del etanol absoluto para obtener 595 mg (37%) del compuesto del título como un sólido blanco, mp 240-242°C.

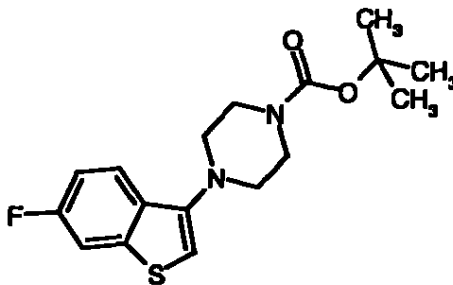
Análisis

Calculado para $\text{C}_{25}\text{H}_{28}\text{F}_3\text{N}_4\text{O}_2\text{S} \cdot \text{HCl}$	56.97% C	5.74% H	10.63% N
Encontrado	57.02% C	5.83% H	10.68% N

Ejemplo 12

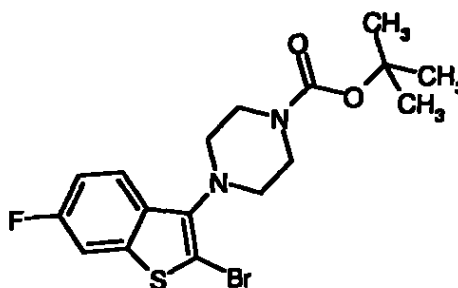


Tricluoroacetato de 1-(2,6-difluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina



12a Ester terc-butílico de ácido 4-(6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-carboxílico

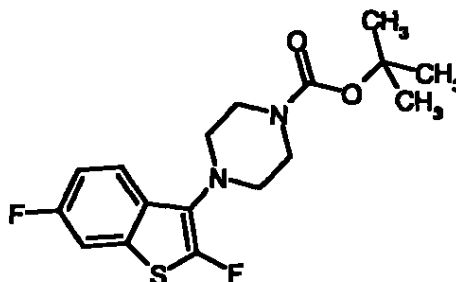
Agregue una solución de dicarbonato di-terc-butílico (5.15 g, 23.6 mmol) en CHCl_3 (15 mL), gota a gota durante 45 minutos a una solución a -65°C de 1-(6-fluorobenzo[b]tiofen-3-il)-piperazina (preparada de acuerdo con US 5,143,923), (2.8 g, 11.8 mmol), 4-(dimetil-amino)piridina (0.16, 1.3 mmol), y diisopropiletilamina (4.3 mL, 3.2 g, 24.8 mmol) en CHCl_3 (50 mL). Después de la adición completa, agite la reacción a temperatura ambiente durante 20 horas, y después vierta la reacción en una mezcla de 5% NaOH/EtOAc acuoso frío (150/150 mL). Extraiga el producto en EtOAc, lave el extracto con H_2O , solución salina y concentre en un aceite rojo. Purifique el aceite crudo sobre gel de sílice (EtOAc), para obtener 3.6 g de aceite rojo, LC/MS $m/z = 337$ ($\text{M}+\text{H}$) $^+$.



12b Ester terc-butílico de ácido 4-(2-bromo-6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-carboxílico

Agregue N-bromosuccinimida (0.59 g, 3.3 mmol) a una solución en agitación de ester terc-butílico de ácido 4-(6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-carboxílico (Ejemplo 12a) (1.00 g, 2.97 mmol) en CHCl_3 (32.8 mL) y someta a reflujo por 30 minutos. Deje enfriar a temperatura ambiente y filtre. Evapore el solvente y purifique el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílica (EtOAc/heptano, 9:1) para obtener 0.53 g (43%) de aceite, MS, $m/z = 416$ ($M+H$)⁺.

En un procedimiento alternativo, agregue N-bromosuccinimida (1.319 g, 6.62 mmol) a una solución en agitación de ester terc-butílico de ácido 4-(6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-carboxílico (Ejemplo 12a) (2.226 g, 6.62 mmol) en CCl_4 y someta a reflujo por 2 horas. Deje enfriar a temperatura ambiente y filtre. Evapore el solvente y purifique el residuo mediante cromatografía sobre gel de sílica (EtOAc/heptano, 9:1) para obtener 2.34 g (94%) de aceite.



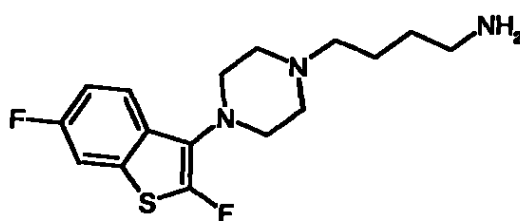
12c Ester terc-butílico de ácido 4-(2-fluoro-6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-carboxílico

A una temperatura de -65°C agite, bjo nitrógeno, una solución del ester terc-butílico de ácido 4-(2-bromo-6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-carboxílico, Ejemplo 12b, (15 59 g, 37 55 mmol) en THF anhidro (247 mL) y añada, gota a gota, n-butilitio en hexano (2 5M, 19 53 mL), 48 82 mmol) Agite por 30 minutos y después agregue, gota a gota, N-fluorobencenosulfonamida (17 76 g, 56 33 mmol) disuelto en THF anhidro Agite de un día para otro a temperatura ambiente, enfrie la reacción a 0°C , agregue NaCl saturado y después enjuague Extraiga la mezcla con EtOAc (3x's), combine los extractos y lave con agua y solución salina Seque el extracto (MgSO_4), y concéntralo para obtener 11 0 g de aceite Somete a cromatografía el aceite sobre gel de sílice (éter/porcent Éter, 9 1) y obtenga 6 28 g (52%) de aceite rojo, MS, m/z, 354 ($\text{M}+\text{H}$)⁺

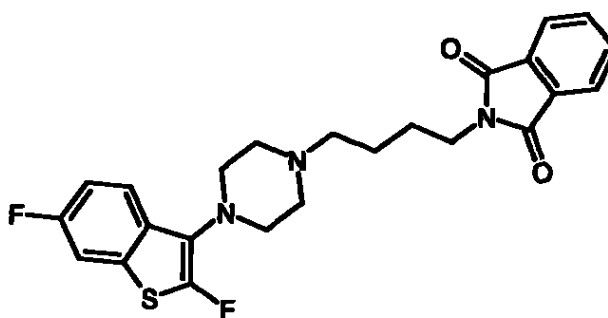
12d Trifluoroacetato 1-(2,6-difluoro-benzo[b]tien-3-il)-piperazina

Agite una solución de ester terc-butílico de ácido 4-(2-fluoro-6-fluorobenzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-carboxílico, Ejemplo 12c (250 mg, 070 mmol) en ácido trifluoroacético (22 mL) a temperatura ambiente durante 30 minutos. Evapore el ácido trifluoroacético y trate el residuo con éter. Agite la suspensión a temperatura ambiente durante 2 horas, y filtre el sólido blanco resultante para obtener 191 mg (56%) de la sal de trifluoroacetato. MS, $m/z = 255$ ($M+H$)⁺

Ejemplo 13



4-[6-(2,6-difluorobenzo[b]thien-1-yl)piperazin-4-yl]butan-1-amine

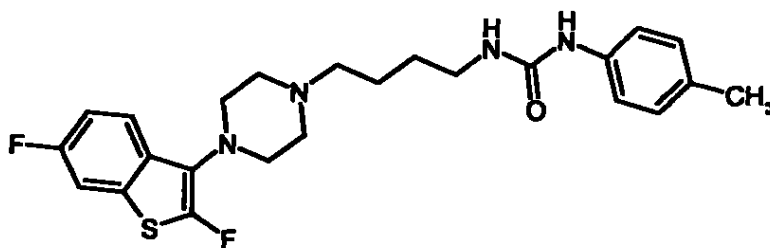


13a 2-[4-[4-(6-fluorobenzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-il]butilisoindol-1,3-diona

Agite y haga refluir bajo argón una mezcla de 1-(2,6-difluoro-benzo[b]tien-3-il)-piperazina (base libre del Ejemplo 12d) (1.48 g, 5.8 mmol), bromobutilftalamida (1.65 g, 5.6 mmol), trietilamina (1.2 mL) y acetonitrilo (25 mL) durante 4 horas. Deje enfriar la reacción y después diluylala con diclorometano. Lave la solución orgánica con agua, solución saturada de K_2CO_3 y seque (K_2CO_3). Concentre el solvente y obtenga 2.55 g de sólido. Somete a cromatografía el sólido sobre gel de sílice ($CH_2Cl_2/MeOH$, 49:1) para obtener 2.1 g de sólido, mp 123-125°C, MS, m/z = 456 ($M+H$)⁺

13b 4-[6-(2,6-difluoro-benzo[b]tien-1-piperazinabutanamina

Agite una suspensión, bajo argón, de 2-[4-[4-(6-fluorobenzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-il]butilisoindol-1,3-diona (Ejemplo 13a) (2.05 g, 4.5 mmol) en MeOH anhidro (30 mL) y agregue hidracina (0.5 mL, 15.9 mmol). Haga refluir durante 2.5 horas y deje enfriar a temperatura ambiente. Enfríe la reacción en baño de hielo y añada 1M HCl a un pH = 1. Filtre la mezcla, enfríe el filtrado en un baño de hielo, y agregue 50% de NaOH acuoso para basificar. Extraiga la mezcla acuosa con dicloro-metano, lave el extracto con H_2O , seque con K_2CO_3 y concentre para obtener 1.4 g de aceite, que se cristaliza al reposo, LC/MS, m/z = 326 ($M+H$)⁺

Ejemplo 14

1-(4-metil-fenil)-3-{4-[4-(2,6-difluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-il]butil]-urea

Agregar una solución de 4-metilfenil isocianato (43.3 mg, 0.32 mmol), en CHCl_3 (1-2 mL) a una solución de 4-[6-(trifluorometil)-benzo[b]tien-1-piperazinabutanamina (Ejemplo 13b) (3.5 mL de una solución 0.086M en CHCl_3 , 0.31 mmol) y agite la reacción durante 20 horas. Filtre el sólido resultante o concentre la reacción y recolecte el sólido después de triturar con EtOAc para obtener 102.7 mg del compuesto del título. LC/MS (Ymc005-AQ, 4x50 mm, agua/ CH_3CN /ácido acético, 94.5/5.0/0.5 100% durante 0.1 minuto después agua/ CH_3CN /ácido acético, 5.0/94.5/0.5 gradiente lineal $\rightarrow$ 100% (2 minutos, detener 4 minutos), Flujo 1.0 mL/min) t_R = 3.22 minutos, m/z = 459 ($M=H$)⁺

Ejemplos 15-18

A las siguientes condiciones de cromatografía líquida de alta presión (HPLC) se refieren en los Ejemplos 15-18

Condición I de HPLC

A) 95/5/0 1% Agua/Acetonitrilo/Ácido Fórmico

B) 5/95/0 1% Agua/Acetonitrilo/Ácido Fórmico

Columna YMC ODS-A 4x50 mm, Velocidad de Flujo 2mL/minuto

Las condiciones HPLC iniciales consistían en 100% (A) flujo a 2mL/minuto. Después de la inyección inicial, se realizó un gradiente lineal de manera que a los 2 minutos las condiciones de HPLC eran 100% B. Estas condiciones se mantuvieron entonces por 3.4 minutos, momento en el cual el sistema regresó a las condiciones iniciales y se equilibró para el siguiente análisis.

Condición II de HPLC

A) 95/5/0 1% Agua/Acetonitrilo/Ácido Fórmico

B) 5/95/0 1% Agua/Acetonitrilo/Acido Fórmico

Columna YMC ODS-A 2x50 mm, Velocidad de Flujo 1mL/minuto

Las condiciones HPLC iniciales consistían en 100% (A) flujo a 0.1 mL/minuto. Después de la inyección inicial, se realizó un gradiente lineal de manera que a los 2 minutos las condiciones de HPLC eran 100% B. Estas condiciones se mantuvieron entonces por 3.5 minutos, momento en el cual el sistema regresó a las condiciones iniciales y se equilibró para el siguiente análisis.

Condición III de HPLC

A) 95/5/0 5% Agua/Acetonitrilo/Acido Fórmico

B) 5/95/0 5% Agua/Acetonitrilo/Acido Fórmico

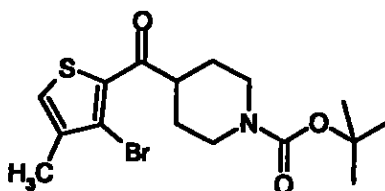
Columna YMC ODS-A 4x50 mm, Velocidad de Flujo 2mL/minuto

Las condiciones HPLC iniciales consistían en 100% (A) flujo a 2 mL/minuto. Después de la inyección inicial, se realizó un gradiente lineal de manera que a los 2 minutos las condiciones de HPLC eran 100% B. Estas condiciones se mantuvieron entonces por 3.4 minutos, momento en el cual el sistema regresó a las condiciones iniciales y se equilibró para el siguiente análisis.

Ejemplo 15

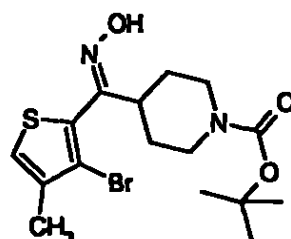
1{4-[4-(6-metil-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il)]piperidina-1-il]-butil}-3-(sustituido)fenil-ureas y bis-ureas

15a Preparación de ester terc-butílico de ácido 4-[1-(3-bromo-4-metil-tiofeno-2-il)-metanoil]-piperidina-1-carboxílico



En condiciones inertes, añadir una solución 2.0 M (en tetrahidrofuran/n-heptano) a diisopropilamida de litio (29.65 mmol, 14.83 mL, 1.05 equivalentes) a una solución fría (-78°C) de 3-bromo-4-metil-tiofeno (28.24 mmol, 5.00 g, 1.00 equivalentes) en tetrahidrofuran seco (27.33 mL). Agite a -78°C por 1 hora y añada una solución de éster terc-butílico de ácido 4-(metoxi-metil-carbamoyl)-piperidina-1-carboxílico (28.24 mmol, 7.69 g, 1.00 equivalentes), gota a gota. Continúe agitando a -78°C durante 3 horas. Enfrie la mezcla de la reacción con cloruro de amonio saturado (acuoso, 55 mL) y deje que se caliente a temperatura ambiente. Extraiga la mezcla de la reacción con una mezcla de etil acetato:diétil éter (1:1, 3 x 40 mL). Combine los extractos y seque sobre sulfato de magnesio, filtre y evapore. Purifique el residuo mediante cromatografía de columna chispeante utilizando una mezcla de n-heptano:etil acetato (4:1) para producir un sólido amarillo cristalino (9.84). MS (CI, metano) m/e 388 (MH⁺), LC/MS (APCI), m/e 288 (M-100), tiempo de retención 2 minutos 43 segundos. Condición I

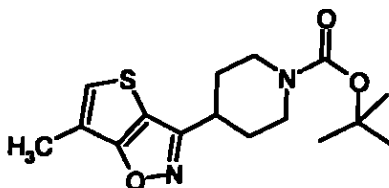
15b Preparación de éster terc-butílico de ácido 4-[1-(3-bromo-4-metil-tiofeno-2-il)-1-hidroximino-metil-piperidina-1-carboxílico]



Añada hidrócloruro de hidróxido de amonio (50.68 mmol, 3.52 g, 2.00 equivalentes) a una solución agitada de éster terc-butílico de ácido 4-[1-(3-bromo-4-metil-tiofeno-2-il)-metanoyl-piperidina-1-carboxílico] (25.54 mmol, 9.84 g, 1.00 equivalentes) en piridina (47.5 mL). Agite a temperatura ambiente de un día para otro y a 70°C por

4 horas. Enfríe la mezcla de la reacción y agregue ácido hidrociónico (solución 3 M, 115 mL). Extraiga la mezcla de la reacción con diclorometano (115 mL), filtre la capa orgánica, lave con agua (100 mL), seque sobre sulfato de magnesio, filtre y evapore. Recrystalice el residuo resultante del tolueno para producir un sólido blanco (4.84 g). LC/MS (APCI), m/e 403 (MH⁺), tiempo de retención 2 minutos 32 segundos. Condición I.

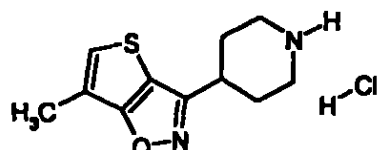
15c. Preparación de éster terc-butílico de ácido 4-(6-metil-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il)-piperidina-1-carboxílico



Añada carbonato de cesio (3.72 mmol, 1.21 g, 1.50 equivalentes) y yoduro de cobre (0.25 mmol, 47 mg, 0.10 equivalentes) a una solución agitada de éster terc-butílico de ácido 4-[1-(3-bromo-4-metil-tiofeno-2-il)-1-hidroximino-metil]-piperidina-1-carboxílico (2.48 mmol, 1.00 g, 1.00 equivalentes) en 2-metoxi etanol (25 mL). Agite la mezcla resultante a temperatura ambiente de un día para otro y filtre para retirar el material inorgánico. Concentre el filtrado y divida el aceite resultante entre etil acetato (75 mL) y agua (25 mL). Extraiga la capa acuosa con etil acetato (2x75 mL) y lave las capas orgánicas combinadas con cloruro de sodio saturado.

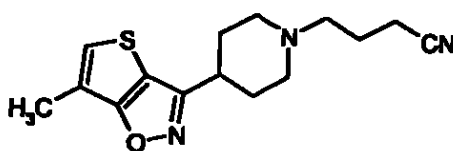
(acuoso, 25 mL), seque sobre sulfato de magnesio, filtre y evapore. Purifique el residuo mediante cromatografía de columna centelleante eluyendo con n-heptano etil acetato (4:1) para producir un sólido blanco (588 mg). MS (CI, metano) m/e 323 (MH^+), LC/MS (ESI), m/e 345 (MNa^+), tiempo de retención 2.05 minutos. Condición II.

15d. Preparación de hidrocloruro de 6-metil-3-piperidina-4-il-tieno[2,3-d]isoxasole



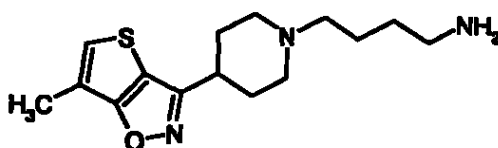
Agite una solución de éster terc-butílico de ácido 4-(6-metil-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il)-piperidina-1-carboxílico (8.84 mmol, 2.85 g, 1.00 equivalentes) en ácido hidroclorórico (48.75 mL, 1 M solución en dietil éter) y metanol (2.00 mL) a temperatura ambiente por 3.5 horas. Filtre la suspensión, recolecte el sólido blanco y seque para producir el producto deseado (659 mg). Deje que el licor madre se madure de un día para otro, filtre, recolecte el sólido blanco y seque para producir producto deseado adicional (1.252 g). LC/MS (ESI), m/e 223 (MH^+), tiempo de retención 1.14 minutos. Condición II.

15e. Preparación de 4-[4-(6-metil-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il)-piperidina-1-il]-butironitrilo



Añada carbonato de potasio (17.72 mmol, 2.45 g, 2.40 equivalentes), yoduro de potasio (0.73 mmol, 123 mg, 0.10 equivalentes), y 4-bromobutironitrilo (8.86 mmol, 0.88 mL, 1.20 equivalentes) a una solución agitada de hidrocloreto de 6-metil-3-piperidina-4-il-tieno[2,3-d]isoxazole (7.38 mmol, 1.91 g, 1.00 equivalentes) en acetonitrilo (10.84 mL) y agua (3.60 mL). Agite la mezcla resultante a reflujo de un día para otro. Enfríe a temperatura ambiente, filtre la mezcla de la reacción y lave el material sólido recolectado con diclorometano y evapore el filtrado. Recoja el residuo en diclorometano (45 mL), amortigüe con hidróxido de sodio (acuoso, 18 mL, 2 M), agua (18 mL), hidróxido de sodio saturado (acuoso, 18 mL), seque sobre sulfato de magnesio, filtre y evapore. Purifique el residuo mediante cromatografía de columna chispeante usando un gradiente y lave con una mezcla de n-heptano/etil acetato (o 5/95) a etil acetato (100%) para producir el producto deseado como un aceite castaño (663 mg). LC/MS (ESI), m/e 290 (MH⁺), tiempo de retención 1.19 minutos. Condición II.

15f Preparación de 4-[4-(6-metil-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il)-piperidina-1-il]-butilamina

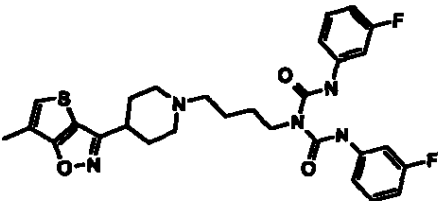
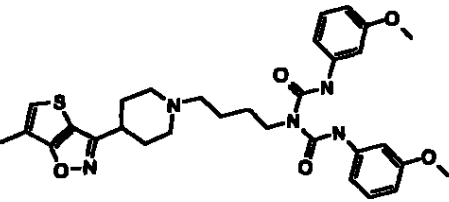
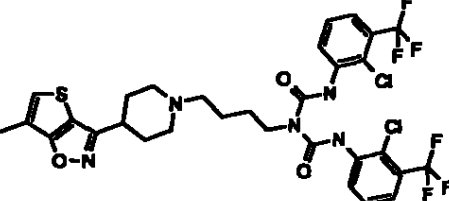


En condiciones inertes, añada hidruro de aluminio de litio (3.42 mmol, 3.42 mL, 1.50 equivalentes 1.0 M solución en tetrahidrofurano) a una solución agitada de 4-[4-(6-metil-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il)-piperidina-1-il]-butironitrilo (2.28 mmol, 660 mg, 1.00 equivalentes) en tetrahidrofuran (seco, 12.86 mL). Agite la solución resultante a temperatura ambiente durante 2.5 horas. Amortigüe la mezcla de

reacción agregando agua (0.16 Ml), después hidróxido de sodio (acuoso, 0.16 mL, solución 2 M)) y agite vigorosamente durante 30 minutos. Filtre la mezcla resultante a través de una cama de celite®, seque sobre sulfato de magnesio, filtre y evapore para producir el producto deseado (457 mg) como un aceite castaño. LC/MS (ESI), m/e 294 (MH^+), tiempo de retención 0.56 minutos. Condición II.

Las siguientes 1{4-[4-(6-metil-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il)piperidina-1-il]-butil}-3-(sustituido)fenil-ureas y bis-ureas se prepararon usando 4-[4-(6-metil-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il)piperidina-1-il]-butilamina (15f) y llevando a cabo los procedimientos encontrados a continuación de la tabla.

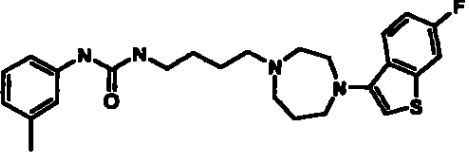
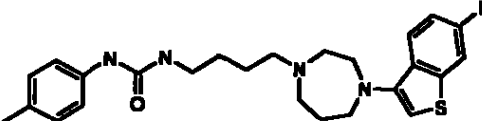
Compound Number	Product	LC/MS (ESI) Condition II
15-1		m/e 457 (MH^+), retention time 1.40 minutes
15-2		m/e 427 (MH^+), retention time 1.40 minutes
15-3		m/e 431 (MH^+), retention time 1.38 minutes
15-4		m/e 431 (MH^+), retention time 1.39 minutes
15-5		m/e 443 (MH^+), retention time 1.38 minutes
15-6		m/e 515 (MH^+), retention time 1.52 minutes
15-7		m/e 620 (MH^+), retention time 1.65 minutes

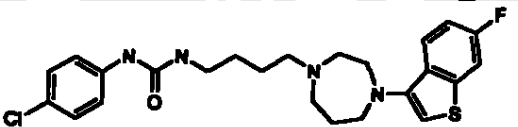
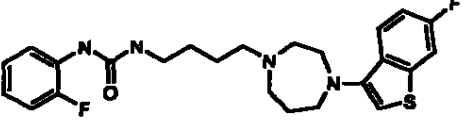
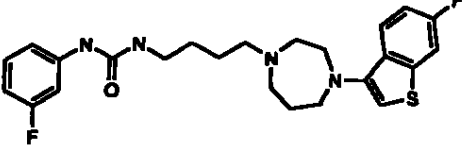
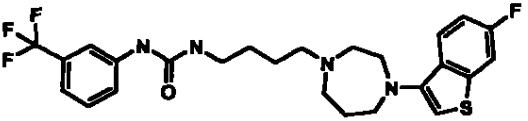
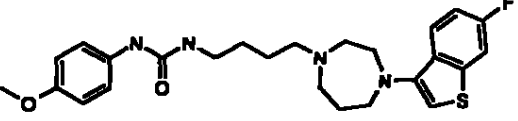
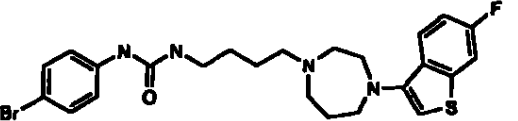
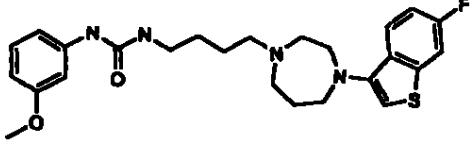
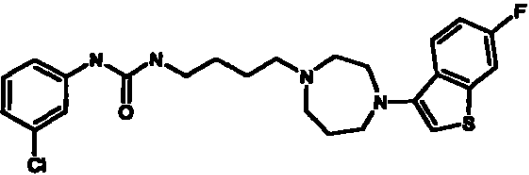
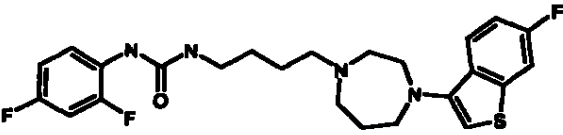
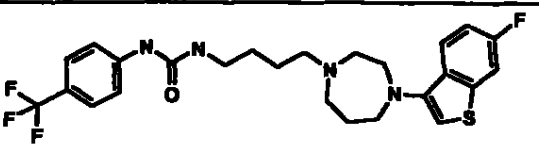
15-8		m/e 567 (MH ⁺) retention time 1.62 minutes
15-9		m/e 592 (MH ⁺) retention time 1.59 minutes
15-10		m/e 736 (MH ⁺), retention time 1.80 minutes

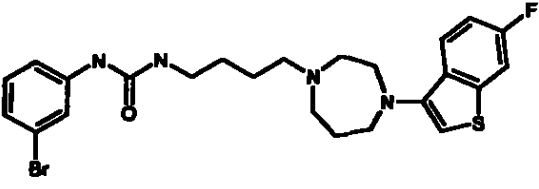
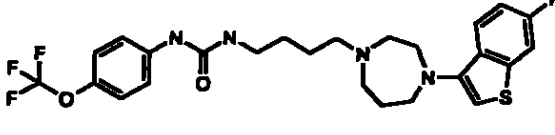
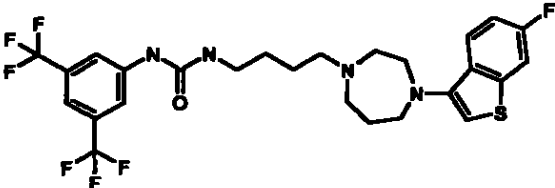
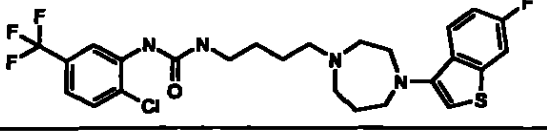
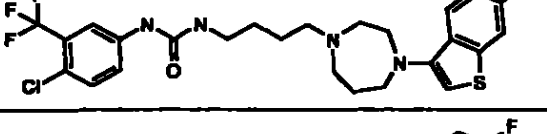
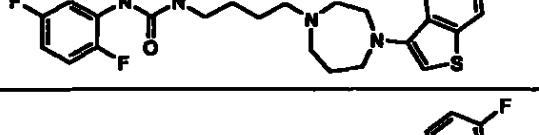
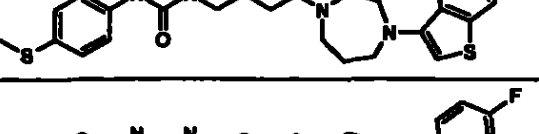
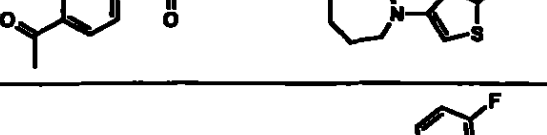
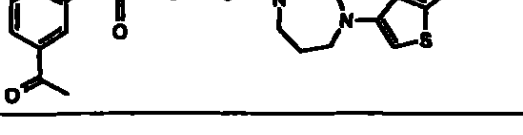
Agregar una solución de 4-[4-(6-metil-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il)pirendina-1-il]-butilamina (o 26 mmol, 75 mg, 1.00 equivalentes) en diclorometano (1.00 mL) al isocianato deseado (0.50 mmol, 1.95 equivalentes). Sacuda cada mezcla de reacción de un día para otro a temperatura ambiente, evapore y purifique las mezclas de reacción mediante cromatógrafo de columna chispeante (ISCO Combi Flash) usando un gradiente y lavando con etil acetato (100%) a una mezcla de etanol en etil acetato (1:5:8:5). Concentre para dar cada producto deseado.

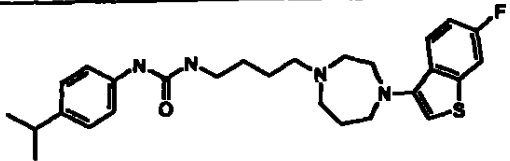
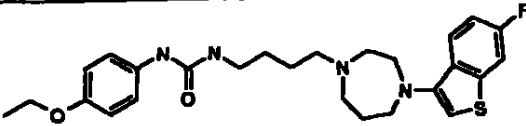
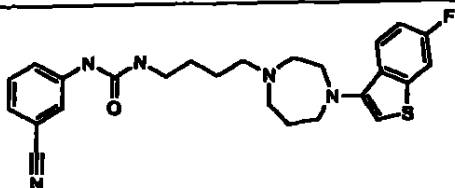
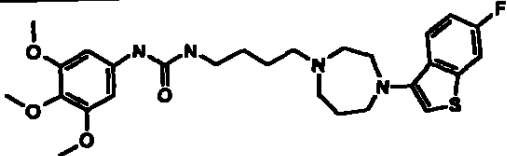
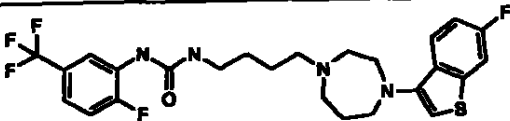
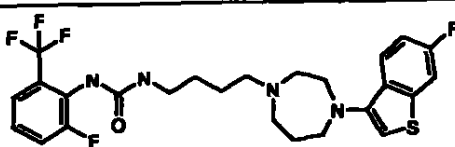
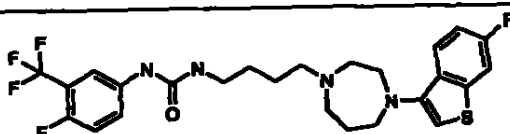
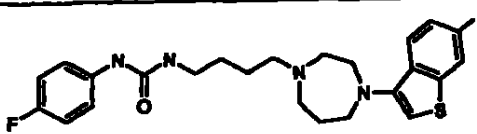
Ejemplo 16

**Preparación de 1{4-[4-(6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-yl)-[1,4]diazepan-1-yl]-butyl}-
3-(sustituido)fenil-ureas**

Compound Number	Product	LC/MS (APCI) Condition III
16-1		m/e 455 (MH ⁺), retention time 1 min 44 sec
16-2		m/e 455 (MH ⁺), retention time 1 min 45 sec.

16-3		m/e 475 (MH ⁺), retention time 1 min 46 sec
16-4		m/e 459 (MH ⁺), retention time 1 min 42 sec
16-5		m/e 459 (MH ⁺), retention time 1 min 43 sec
16-6		m/e 509 (MH ⁺) retention time 1 min 47 sec
16-7		m/e 471 (MH ⁺), retention time 1 min 41 sec
16-8		m/e 519 (MH ⁺), retention time 1 min 47 sec
16-9		m/e 471 (MH ⁺), retention time 1 min 42 sec
16-10		m/e 475 (MH ⁺), retention time 1 min 46 sec
16-11		m/e 477 (MH ⁺), retention time 1 min 43 sec
16-12		m/e 509 (MH ⁺), retention time 1 min 48 sec

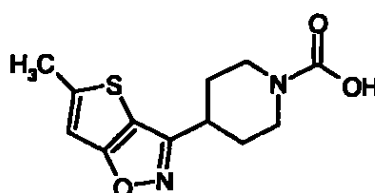
16-13		m/e 519 (MH ⁺), retention time 1 min 47 sec
16-14		m/e 525 (MH ⁺) retention time 1 min 49 sec
16-15		m/e 577 (MH ⁺) retention time 1 min 55 sec
16-16		m/e 543 (MH ⁺) retention time 1 min 51 sec
16-17		m/e 543 (MH ⁺) retention time 1 min 51 sec
16-18		m/e 477 (MH ⁺), retention time 1 min 46 sec
16-19		m/e 509 (MH ⁺), retention time 1 min 51 sec
16-20		m/e 487 (MH ⁺), retention time 1 min 46 sec.
16-21		m/e 483 (MH ⁺), retention time 1 min 39 sec.
16-22		m/e 483 (MH ⁺), retention time 1 min 40 sec

16-23		m/e 483 (MH ⁺), retention time 1 min 50 sec
16-24		m/e 485 (MH ⁺), retention time 1 min 44 sec
16-25		m/e 486 (MH ⁺), retention time 1min 43 sec
16-26		m/e 531 (MH ⁺), retention time 1 min 39 sec
16-27		m/e 527 (MH ⁺), retention time 1 min 49 sec
16-28		m/e 527 (MH ⁺), retention time 1 min 43 sec.
16-29		m/e 527 (MH ⁺), retention time 1 min 50 sec
16-30		m/e 459 (MH ⁺), retention time 1 min 42 sec

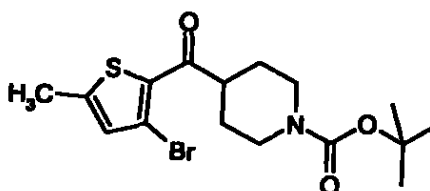
Los compuestos anteriores se prepararon de una forma análoga al Ejemplo 15. Evapore las fracciones puras de una purificación hecha mediante cromatógrafo de columna chispeante (ISCO Combi Flash) para producir cada compuesto como un aceite. Seque cada aceite en la bomba de vacío para dar los compuestos finales deseados.

Ejemplo 17

Acido 4-(5-metil-tieno[2,3-d]isoxasol-3-Il)-piperidina-1-carboxílico

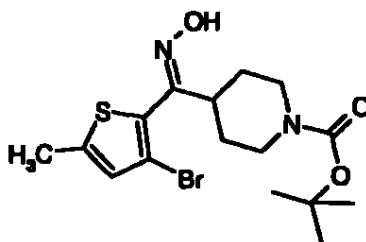


17a Preparación de ester terc-butílico de ácido 4-[1-(3-bromo-4-metil-trofen-2-Il)-metanoil]-piperidina-1-carboxílico



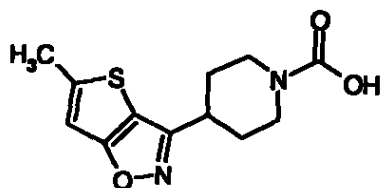
Preparado esencialmente como en el Ejemplo 15a excepto que se usa 2-bromo-5-metil tiofeno como material de partida. Además, se usan 1.20 equivalentes de disopropilamida de litio y 1.24 equivalentes de éster terc-butílico de ácido 4-(metoxi-metil-carbamoyl)-piperidina-1-carboxílico para la reacción. De igual forma, el tiempo de agitación de la mezcla de reacción puede variar. La purificación del residuo mediante cromatografía de columna chispeante usa un gradiente con una mezcla de etil acetato n-heptano (1:9) a etil acetato n-heptano (2:8) para producir un aceite amarillo. LC/MS (ESI), m/e 332 (M-56) y 388 (MH⁺), tiempo de retención 2.15 minutos. Condición II.

17b. Preparación de éster terc-butílico de ácido 4-[1-(3-bromo-5-metil-tiofen-2-il)-1-hidroximino-metil]-piperidina-1-carboxílico



Preparado esencialmente como el Ejemplo 15b excepto que se usa éster terc-butílico de ácido 4-[1-(3-bromo-5-metil-tiofeno-2-il)-metanoyl]-piperidina-1-carboxílico como material de partida y la mezcla de reacción se agitó a 70°C por 6 horas. LC/MS (ESI), m/e 347 (M-56) y 403 (MH⁺), tiempo de retención 2.03 minutos. Condición II.

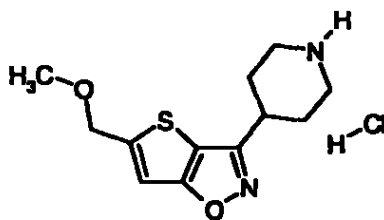
17c. Preparación de ácido 4-(5-metil-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il)-piperidina-1-carboxílico

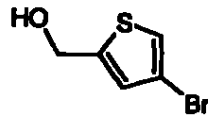


Preparado esencialmente como el Ejemplo 15c excepto que se usa ester terciario de ácido 4-[1-(3-bromo-5-metil-tiofeno-2-il)-1-hidroximino-metil]-piperidina-1-carboxílico como material de partida. Dos otras diferencias son: 1) se usan 0.05 equivalentes de yoduro de cobre, y 2) no se requiere partición entre etil acetato y agua acompañada de subsiguiente extracción con etil acetato. La purificación del residuo mediante cromatografía de columna chispeante usa una mezcla de etil acetato/n-heptano (1/4) para producir un sólido blanco. LC/MS (ESI), m/e 345 (MNa⁺), tiempo de retención 2.12 minutos. Condición II.

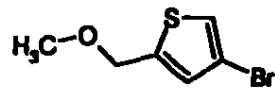
Ejemplo 18

Hidrocloreto de 5-metoximetil-3-piperidina-4-il-tieno[2,3-d]isoxazole



18a Preparación de (4-bromo-tiofen-2-il)-metanol

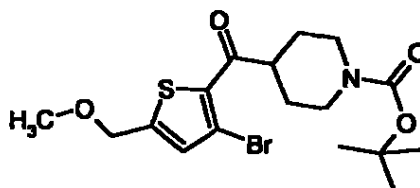
Bajo condiciones inertes, agregar hidruro de sodio (13 82 mmol, 0 523 g, 2 08 equivalentes) en etanol absoluto (16 mL) gota a gota por un periodo de 15 minutos a una mezcla agitada de 4-bromotiofeno-2-carboxaldehido (26 58 mmol, 5 08 g, 1 00 equivalentes) en etanol absoluto frio (9°C) (32 mL) Agite la mezcla resultante a temperatura ambiente durante 2 5 horas y añada ácido acético glacial gota a gota hasta que cese la efervescencia Evapore la solución resultante, recoja el residuo en dietil eter (75 mL), lave con agua (15 mL) y solución salina (15 mL) y seque sobre sulfato de magnesio Filtre y evapore para producir el producto como un aceite incoloro (5 13 g)

18b Preparación de 4-bromo-2-metoximetil-tiofeno

Agregar hidruro de sodio (737 mg, 29 23 mmol, 1 10 equivalentes, 95%) a una solución que contiene yoduro de metil (1 65 mL, 26 57 mmol, 1 00 equivalentes) y (4-bromo-tiofen-2-il)-metanol (5 13 g, 26 57 mmol, 1 00 equivalentes) en tetrahidrofuran (seco, 25 mL) Agite la mezcla resultante a temperatura ambiente

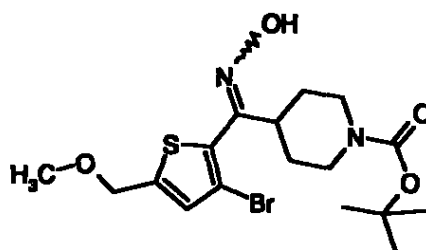
de un día para otro y evapore. Divida el residuo entre agua (100 mL) y diclorometano (100 mL). Extraiga la capa acuosa con diclorometano (100 mL), combine las capas orgánicas, seque sobre sulfato de magnesio, filtre y evapore para producir el producto deseado como un aceite amarillo.

18c Preparación de éster terc-butílico de ácido 4-[1-(3-bromo-5-metoximetil-tiofeno-2-il)-metanoil]-piperidina-1-carboxílico



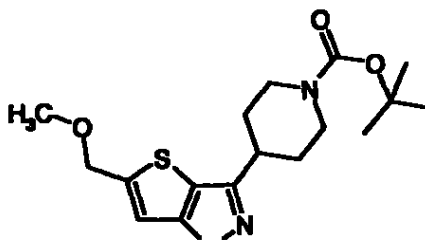
Añada amida de diisopropilo de litio (13.20 mL, 26.37 mmol, 1.05 equivalentes) a una solución fría (-78°C) agitada de 4-bromo-2-metoximetil-tiofeno (5.20 g, 25.11 mmol, 1.00 equivalentes) en tetrahidrofurano (seco, 24.30 mL). Agite a -78°C durante 1 hora y añada gota a gota una solución de éster terc-butílico de ácido 4-(metoxi-metilcarbamoil)-piperidina-1-carboxílico (6.84 g, 25.11 mmol, 1.00 equivalentes) en tetrahidrofurano (seco, 16.40 mL). Agite la solución resultante a -78°C durante 3 horas. Amortigüe la mezcla de reacción con cloruro de sodio saturado (acuoso, 50 mL). Deje calentar la mezcla de reacción a temperatura ambiente y extraiga con una mezcla de etilo acetato éter dietílico (1:1, 3x35 mL). Combine los extractos, seque sobre sulfato de magnesio, filtre y evapore. Purifique el residuo mediante cromatografía de columna centelleante, eluyendo con una mezcla de n-heptano etilo acetato (4:1) para producir el producto deseado como un aceite amarillo (9.47 g). LC/MS, m/e 362 (M-56) y 418 (MH⁺), tiempo de retención 2.08 minutos. Condición II.

18d Preparación de éster terc-butílico de ácido 4-[1-(3-bromo-5-metoximetil-tiofen-2-il)-1-hidroxiimino-metil]-piperidina-1-carboxílico



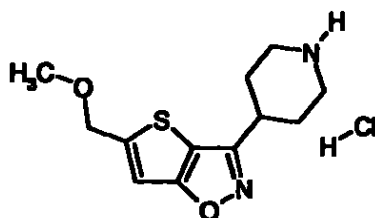
Añada hidrocloreuro de hidroxilamina (2.29 g, 45.27 mmol, 2.00 equivalentes) a una solución agitada de éster terc-butílico de ácido 4-[1-(3-bromo-5-metoximetil-tiofen-2-il)-metanol]-piperidina-1-carboxílico (9.47 g, 22.64 mmol, 1.00 equivalentes) en piridina (42.40 mL). Agite la solución resultante a temperatura ambiente durante la noche y luego a 70°C durante 4 horas. Enfíe la mezcla de reacción ligeramente, añada ácido hidrocórico (3N, 100 mL) y extraiga la mezcla resultante con diclorometano (100 mL). Lave el extracto con agua (100 mL), seque sobre sulfato de magnesio, filtre y evapore para obtener el producto deseado como un aceite amarillo (9.48 g).

18e Preparación de éster terc-butílico de ácido 4-(5-metoximetil-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il)-piperidina-1-carboxílico



Añada carbonato de cesio (1.13 g, 3.46 mmol, 1.50 equivalentes) y yoduro de cobre (44 mg, 0.23 mmol, 0.10 equivalentes) a una solución agitada de éster terc-butílico de ácido 4-[1-(3-bromo-5-metoximetil-tiofen-2-il)-1-hidroxiimino-metil]-piperidina-1-carboxílico (1.00 g, 2.31 mmol, 1.00 equivalentes) en 2-metoxi etanol (23.30 mL). Agite la mezcla resultante a temperatura ambiente de un día para otro o hasta tres días y filtre a través de celita. Evapore el filtrado, haga partición del residuo entre etilo acetato (70 mL) y agua (23 mL) y separe. Extraiga la capa acuosa con etilo acetato (3x70 mL), combine las capas orgánicas, seque sobre sulfato de magnesio, filtre y evapore. Purifique el residuo mediante cromatografía de columna centelleante, eluyendo con una mezcla de hexano etilo acetato (4:1) para producir el producto deseado como un aceite amarillo. LC/MS (ESI), m/e 375 (MNa^+), tiempo de retención 1.98 minutos. Condición II.

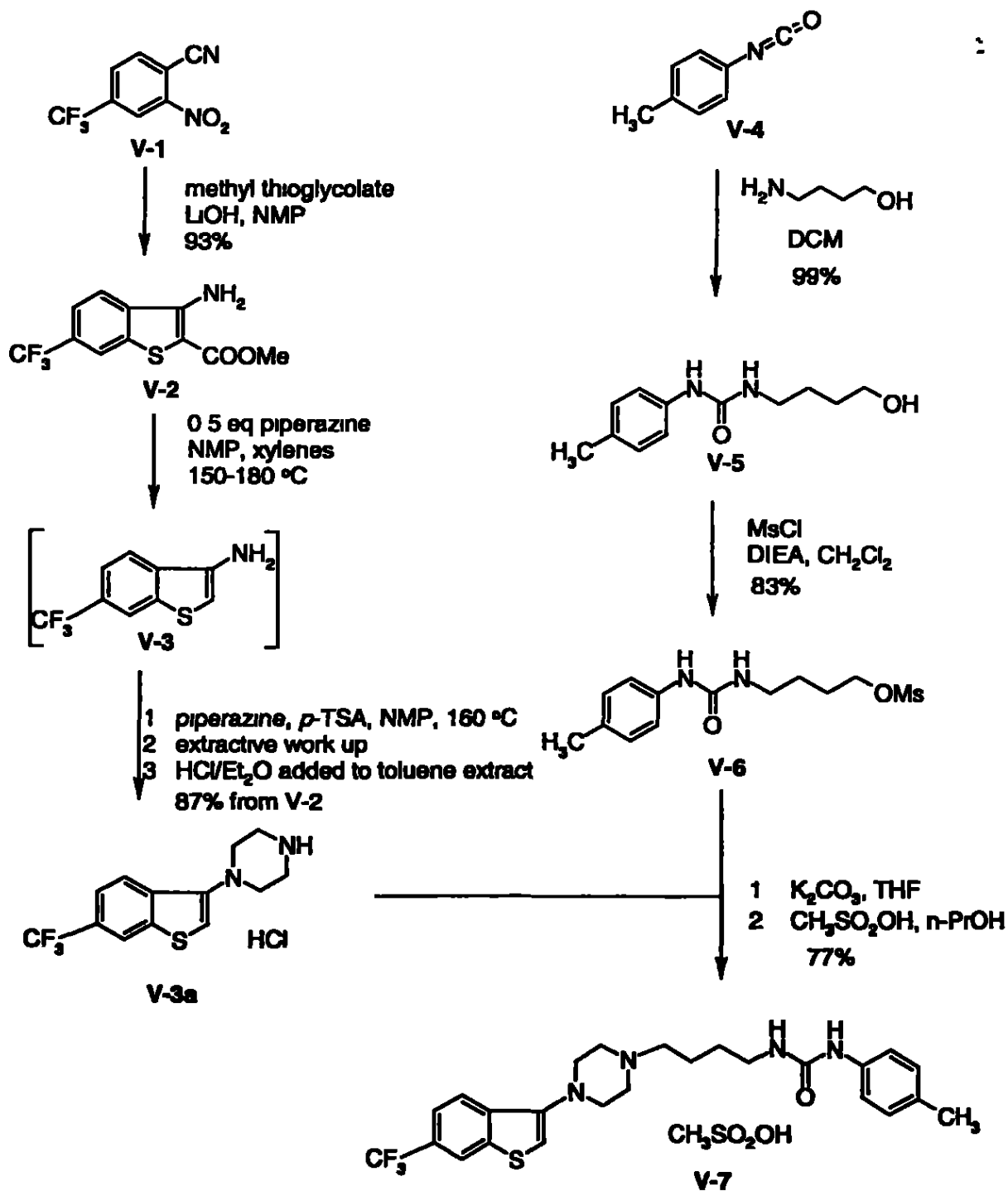
18f. Preparación de hidrocloreto de 5-metoximetil-3-piperidin-4-il-tieno[2,3-d]isoxazol



Agite una solución de éster terc-butílico de ácido 4-(5-metoximetil-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il)-piperidina-1-carboxílico (2.21 g, 6.68 mmol, 1.00 equivalentes) y ácido hidrocloreico 1.0 M en éter dietílico, 10 mL. Agite la suspensión durante la noche, filtre y lave el sólido con éter. Recolecte el sólido y seque para obtener el producto deseado como un sólido azul oscuro. LC/MS (ESI), m/e 253 (MH^+), tiempo de retención 1.17 minutos. Condición II.

EJEMPLO 19

Esquema V



General Se realizó cromatografía de gas/espectrografía de masa usando un sistema HP Modelo 5972 con las siguientes condiciones 0.25 mm x 30 m, HP columna 5MS, relación cruzada 5% Ph Me silicona, 0.25 µ de espesor de película, inyector a 250°C, detector a 280°C, 50°C por 1 minuto, rampa a 20°C/min hasta 300°C, 300°C por 5 minutos hasta 10 minutos

2-carbometoxi-3-amino-6-trifluorometilbenzo[b]tiofeno (V-2)

Una botella de fondo redondo de 3 cuellos y 22 L con un agitador mecánico, un burbujeador de nitrógeno y una sonda termopar se cargó con 1.20 kg (5.55 moles) de 2-nitro-4-trifluorometilbenzonitrilo 496 mL (589.3 g, 5.55 moles) de metilo tioglicolato y 4.3 L de NMP. Se enfrió la solución amarilla resultante (baño a -10 °C) a 1°C y se añadió una solución preparada de 466.0 g (11.1 moles, 2.0 eq) de monohidrato de litio en 3.36 L de agua durante un periodo de 2 horas, mientras se mantuvo una temperatura entre 2 -16 °C. Se agitó el lodo líquido color naranja quemado a 0-8 °C por 45 minutos, después se diluyó con 8.0 L de agua ($T_{amb} \rightarrow 21$ °C). Después de agitar durante 30 minutos y enfriar a 14 °C, el producto se recolectó mediante filtración, enjuagando con 15 L de agua, luego secando al aire a temperatura ambiente para obtener 1.43 kg (rendimiento 93.5%) de 2-carbometoxi-3-amino-6-trifluorometilbenzo[b]tiofeno como un sólido amarillo claro.

Hidrocloruro de 3-piperazini-6-trifluorometilbenzo[b]tiofeno (V-3a)

Una botella de fondo redondo de 3 cuellos y 22 L con un agitador mecánico, un burbujeador de nitrógeno y una sonda termopar se cargó con 1.42 kg (5.17 moles) de 2-carbometoxi-3-amino-6-trifluorometilbenzo[b]tiofeno (V-2), 245.0 g (2.84 moles, 0.55 eq) de piperazina, 5.0 L de NMP, y 720 mL de xileno. La solución se calentó y se mantuvo a 165-176°C durante 4.5 h, momento en el cual la reacción estaba alrededor de 97% completa según se determinó mediante ensayo de cromatografía líquida de alta presión. Se agregó a la solución castaña un total de 2.00 kg (23.22 moles, 4.5 eq) de piperazina ($T \rightarrow 129^\circ\text{C}$) y 1.97 kg (10.36 moles, 2.0

eq) de p-monohidrato ácido de p-toluenosulfónico (exotermo observado, 120 → 140°C) Se conectó un tubo Dean-Stark al condensador, y la reacción se calentó para recolectar un azeotrope. Se retiró un total de 350 mL de un destilado acuoso, permitiendo que la temperatura de la vasija aumentara de 140°C a 158°C. Se desconectó el tubo Dean Stark. El progreso de la reacción se monitoreó mediante ensayos GC/MS. Después de 12 horas a cerca de 158-162°C (>99% de conversión por ensayo GC/MS), la reacción se enfrió a 40°C, después se amortiguó en un extractor que contenía 6.2 kg de hielo, 15 L de agua, y 10.6 L de tolueno. Las fases se separaron, y la capa acuosa se extrajo con 2 L de tolueno. El extracto orgánico combinado se lavó con 13.7 L de 0.5 N NaOH seguido por 2.5 L de NaCl saturado, después se extrajo con 10 L de 1 N HCl. El extracto ácido acuoso se diluyó con 1.2 kg de hielo, después se basificó a pH 10.7 añadiendo 770 g de 50% de NaOH. La mezcla resultante se extrajo con 11 L de tolueno. El extracto de tolueno se lavó con 2.5 L de NaCl saturado, seco (Na_2SO_4), y se filtró. El filtrado se cargó en una botella de fondo redondo de 3 cuellos y 22 L (N_2 , agitación mecánica, sonda Termopar). Se añadió un total de 4.5 L de N etéreo HCl a 20 - 27°C hasta que la mezcla fue positiva al papel indicador Congo Red. Después de agitar a temperatura ambiente durante 35 minutos, la pasta aguada se filtró y lavó con 5 L de tolueno. Después de secar al aire, se obtuvieron 1.44 kg (86.5% producido) de hidrocloreto de 3-piperazinil-6-trifluorometil-benzo[b]tiofeno (V-3a) como un sólido beige-rosado claro.

N-(4-Hidroxibutil)-N'-(4-tolil) urea (V-5)

Una botella de fondo redondo de 3 cuellos y 22 L con un agitador mecánico, un burbujeador de nitrógeno y una sonda termopar se cargó con 8 kg de cloruro de metileno y 367.7 g (4.13 moles, 1.10 eq) de 4-amino-1-butanol, y la solución resultante se enfrió a 0 - 5°C. Se añadió una solución de 499.3 g (3.75 moles, 1.00 eq) de 4-tolil isocianato en 0.5 L de cloruro de metileno durante un periodo de 2.5 horas manteniendo una temperatura de 0 - 12°C. La pasta aguada blanca se agitó durante 1 hora a 0 - 10 °C, después se filtró, se lavó con 3L de cloruro de

metileno, y se secó al aire para lograr 0.83 kg (99.9%) de N-(4-hidroxibutil)-N'-(4-tolil) urea (V-5) como un sólido blanco

N-(4-Butilmesilato)-N'-(4-tolil) urea (V-6)

Una botella de fondo redondo de 3 cuellos y 22 L con un agitador mecánico, un burbujeador de nitrógeno y una sonda termopar se cargó con 2.057 kg (9.25 moles) de N-(4-hidroxibutil)-N'-(4-tolil) urea (V-5), 13 L de DCM y 2.02 L (1.5 kg, 11.57 moles, 1.25 eq) de diisopropiletilamina. La suspensión blanca se enfrió a 6°C y se añadió una solución de 1.22 kg (10.64, 1.15 eq) de cloruro de metanosulfonil en 0.25 L de DCM durante un periodo de alrededor de 2 horas manteniendo una temperatura de la vasija de 5 – 12°C. Después de agitar durante 10 minutos a 5 – 10°C (100% conversión mediante ensayo de cromatografía líquida de alta presión) la solución amarilla clara se amortiguó en un extractor que contenía 9 L de 1 N HCl, se lavó con 9 L de 5% de NaHCO₃, se secó (MgSO₄), se filtró y después se concentró parcialmente (30°C, 150 mba) en una masa de 6.41 kg. Después de agitar en un baño de hielo durante 30 minutos, la pasta aguada resultante se filtró, se lavó con 2 L de DCM frío, y se secó al aire para producir 2.32 kg (83.4%) de N-(4-butilmesilato)-N'-(4-tolil) urea (V-6) como un sólido blanco.

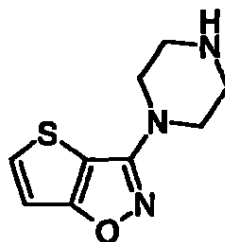
1-p-Tolil-3-[4-[4(6-trifluorometilbenzo[b]tlen-3-il)piiperazin-1-il]butil]-urea (V-7, base libre)

Una botella de fondo redondo de 3 cuellos y 22 L con un agitador mecánico, un burbujeador de nitrógeno y una sonda termopar se cargó con 1.42 kg (4.40 moles) de V-3a, 1.757 kg (5.85 moles, 1.33 eq) de N-(4-butilmesilato)-N'-(4-tolil) urea (V-6), 4.26 L de THF, 1.23 L de agua, y 1.52 kg (11.00 moles, 2.50 eq) de K₂CO₃. Usando un controlador de temperatura, la mezcla bifásica se calentó a 48 – 51°C durante 22 horas. La pasta aguada espesa resultante se cargó en un reactor de 20 gal de acero de cristal alineado junto con enjuagues de 9.8 L de THF y 1.05 L de agua, y se calentó a reflujo (65°C). Se añadió un total de 13.1 L de agua a la mezcla bifásica durante un periodo de alrededor de 10 minutos durante los cuales

la temperatura cayó a alrededor de 60°C. Entonces el lote se enfrió lentamente (la cristalización ocurrió a 43°C) a 0 – 5°C y maduró a esta temperatura durante 30 minutos, después se filtró, se enjuagó la pasta aguada en varias porciones usando una mezcla fría de 5 L THF/0.42 L agua, y se le dio un enjuague final con 3 x 12 L de agua. Después del secado al aire, se obtuvieron 1.72 kg (79.7%) de 1-p-tolil-3-[4-[4(6-trifluorometilbenzo[b]tleni-3-il)]piperazin-1-il]butil]-urea (V-7, base libre) como un sólido esponjoso blanco.

Metanosulfonato de 1-p-Tolil-3-[4-[4(6-trifluorometilbenzo[b]tleni-3-il)]piperazin-1-il]butil]-urea (V-7)

Una botella de fondo redondo de 3 cuellos y 22 L con un agitador mecánico, un burbujeador de nitrógeno y una sonda termopar se cargó con 4.045 kg (8.245 moles) de V-7 (base libre) y 11 L de n-propanol. Se añadió una solución de 792.4 g (8.245, 1.00 eq) de ácido metanosulfónico en 1 L de n-propanol en una porción. Se observó un exotermo ($T > 39^{\circ}\text{C}$), a cuya temperatura todos los sólidos se habían disueltos. La solución se filtró a través de una frita ordinaria para retirar los rastros de material extraño. El filtrado claro, castaño rojizo se cargó en un reactor de 20 gal de acero de cristal alineado junto con enjuague de 3.3 L de n-PrOH. Después de enfriar lentamente, y sembrar a 51°C, la cristalización comenzó a 47°C. Con cristalización adicional y enfriamiento a 37°C, la pasta aguada se volvió espesa y se diluyó con 12.1 L de n-PrOH. Después de enfriar a 0 – 10°C y agitar durante 60 minutos, se recolectó el producto filtrándolo, enjuagándolo con 5 L de n-PrOH frío, y secándolo (horno de gaveta, 105-115°C, 100 mm, N₂) para producir 4.67 kg (96.5) de metanosulfonato de 1-p-Tolil-3-[4-[4(6-trifluorometilbenzo[b]tleni-3-il)]piperazin-1-il]butil]-urea (V-7), como un sólido blanco o blancuzco.

Ejemplo 20**Síntesis de piperazina-thienilisoxazol protegido con BOC****Oxima 3-bromotiofeno-2-carbaldehído**

Se agregó oxima 3-bromotiofeno-2-carbaldehído (Maybridge) (28.7 mg, 0.15 moles) en una porción a una solución de hidrocloreto de hidroxilamina (13.8 gm, 0.2 moles), hidróxido de sodio (8 gm, 0.2 moles) en agua (30 ml) y etanol (100 ml). La mezcla se agitó a 0°C durante 2 horas y se mantuvo a 0°C de udái para otro. La mezcla de reacción se diluyó con agua fría (600 ml), y los sólidos precipitados se recolectaron mediante filtración para proporcionar 20.5 gm (67%) de producto. La capa acuosa se extrajo adicionalmente con etil acetato y las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución salina, se secaron con sulfato de magnesio, se filtraron y concentraron al vacío para tener un producto adicional de 6.9 g.

Cloruro de 3-bromotiofeno-2-hidroximidol

A una solución de Oxima 3-bromotiofeno-2-carbaldehído (10.8 gm, 52.4 mmol), cloruro de hidrógeno (14.5 ml, 4M en dioxano) en DMF (100 ml) se agregó oxone (16.9 gm, 1.05 eq) en una porción a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche. Al final de la reacción, se vertió solución DMF en el agua y el producto se extrajo a etil acetato. La solución orgánica se lavó con solución salina, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró al vacío a 12.68 g de producto que se usó en la siguiente reacción sin purificación adicional.

Oxima metanona (4-t-btoxicarbonilpiperazinil)3-bromo-2-tienil

Se agregó gota a gota cloruro de 3-bromotiofeno-2-hidroximidoil (16 4gm, 68 mmol) en tetrahidrofuran (THF, 70 ml) a una solución de N-(t-butoxicarbonil)piperazina (14gm, 1 1 eq), DABCO (9 5gm, 1 25 eq) en DMF (100 ml) a 0°C por 25 minutos. La mezcla se agitó durante 3 5 horas. Al final, la mezcla se virió en agua y se extrajo con etio acetato. El orgánico se lavó con solución salina y se secó sobre sulfato de magnesio. Se retiró el solvente en un evaporador rotatono. El producto crudo (30 5gm) se purificó por cromatografía en un cartucho Biotage (40gm de gel de sílice), eluyendo con metanol en diclorometano (0 5% de MeOH). El producto así obtenido pesó 24 6 gm (85%).

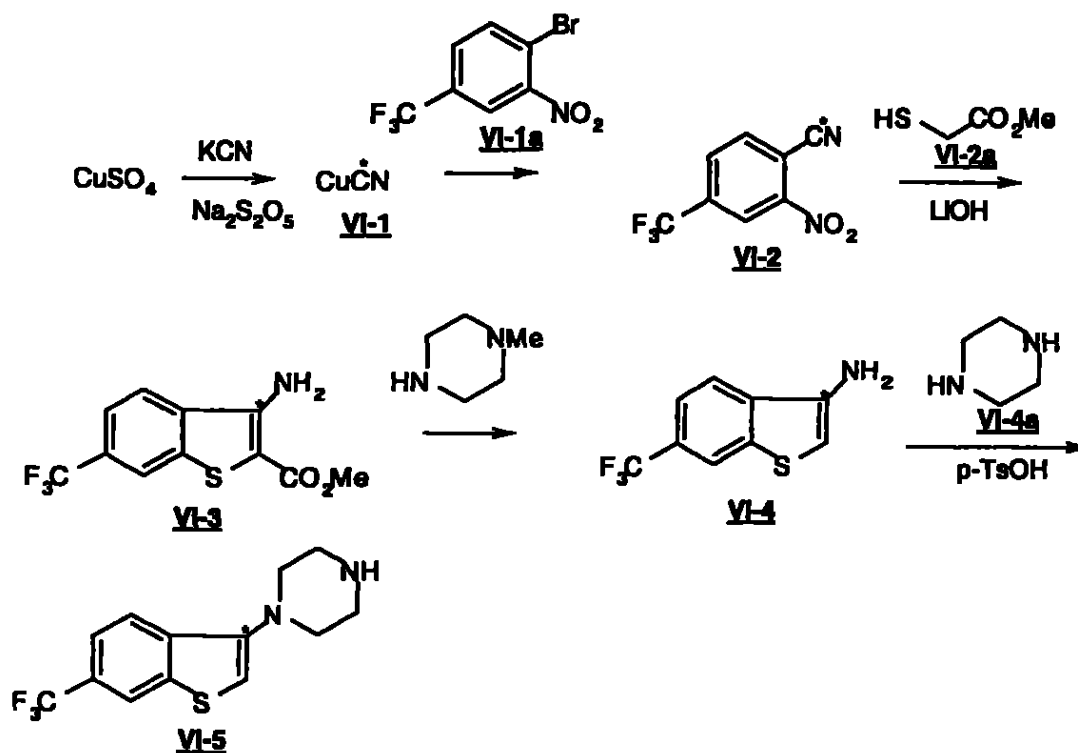
(t-BOC-piperazina)-3-tienilbenzisoaxazol

Una mezcla de oxima metanona (4-t-btoxicarbonilpiperazinil)3-bromo-2-tienil (10 3gm, 26 4 mmol), carbonato de cesio (10 7 gm, 32 7 mmol), y yoduro de cobre (500 mg) en metoxietanol (300 ml) se agitó a temperatura ambiente de un día para otro. La mezcla de la reacción se diluyó con etil acetato, se lavó con agua. La solución acuosa se extrajo tres veces con etil acetato. La solución orgánica (total 600 ml) se lavó con solución salina y se secó sobre sulfato de magnesio, después se concentró en un aceite (aprox 10 gm). Este material se purificó por cromatografía usando un cartucho Biotage (120 gm de gel de sílice, eluyendo con 0-8% de Metanol en diclorometano). El producto así obtenido como aceite claro (5 1gm, 62%).

Ejemplo 21

El siguiente esquema ejemplifica la síntesis de un producto intermedio radioetiquetado C14 útil para la preparación de ciertos compuestos dentro del alcance de la presente invención.

Esquema VI



General Se realizó cromatografía analítica de capa delgada (TLC) en láminas TLC E Merck con gel de sílica 60 F₂₅₄ (0.25 mm). Las láminas TLC usadas en el análisis de muestras radioactivas se escanearon en un Escáner reproductor de imagen BIOSCAN sistema 2000 usando gas P-10 (10% metano, 90% argón). Se estableció la identidad de los productos intermedios mediante co-migración en radio-TLC y/o radio-HPLC con las muestras estándar de análogos no etiquetados. Se realizó cromatografía de destello usando gel de sílica con un tamaño de partícula de 40-63 μm . Se determinó la actividad específica en un Analizador de

Centelleo Líquido Packard Minaxi Tri-Carb (Modelo 1600 TR) usando Bio-Safe II como coctel de centelleo

La purificación de los compuestos VI-2, VI-3, VI-4, VI-5, y VI-6 se monitoreó mediante HPLC (condiciones A) que se llevó a cabo en Waters 600 Controller, Waters 996 Photodiode Array Detector, Millenium Chromatography Manager y Beta-Ram Radiactive Flow Through Monitor System, Modelo 2 (IN/US Systems Inc) La determinación de la pureza final de VI-7 mediante HPLC (condiciones B) se realizó en Waters Model 510 Pumps, Waters 680 Gradient Controller, Waters 715 Ultra Wisp Autosampler, Waters 484 Tunable Absorbance Detector y Beta-Ram Radioactive Flow-Through Monitor System, Modelo 2 (IN/US Systems Inc)

Condiciones A YMC Basic 5 μ m, C18, 4.6x250 mm, fase móvil 1 (v/v) 50/50 acetonitrilo/0.1 formato de amonio, fase móvil B (v/v) 75/25 acetonitrilo/0.1N formato de amonio, velocidad de flujo 1.0 mL/min , detección uv a 254 nm

Gradiente	Tiempo (minutos)	%MP A	%MP B
	0	100	0
	15	100	0
	25	0	100
	30	0	100
	35	100	0

Condiciones B Ultremex 5 μ m, 4.6 x 150 mm, fase móvil (v/v/v) 50/50/0.25 acetonitrilo/0.05 M amortiguador de fosfato de potasio, pH 3.0/trietilamina, velocidad de flujo 1.0 mL/min, detección uv a 210nm

Cianuro de [^{14} C]Cobre (I) (VI-1)

Se calentó una solución de pentahidrato de sulfato de cobre (II) (4.16 g, 16.67 mmol) en agua (13.3 mL) a 70°C y se agregó en un minuto una solución de

metabisulfito de sodio (1.94 g, 6.28 mmol) en agua. Inmediatamente se agregó en un minuto una solución de cianuro de [^{14}C] potasio (245.5 mg, 200 mCi, 3.77 mmol, S.A. 53.0 mCi/mmol) y cianuro de potasio no etiquetado (0.84 g, 12.9 mmol) en agua (3.3 mL) a 70°C. Se precipitó un sólido blanco de la solución y el color azul de la solución se descargó. Después de agitar por 10 minutos a 70°C, la mezcla se filtró caliente y el sólido se enjuagó con agua caliente (15 mL) y etanol (15 mL). El sólido blanco se secó al vacío (0.1 mm Hg) durante 27 horas 45 min para proporcionar VI-1 (1.392 g, 186.6 mCi) en producción de 93.3%.

2-Nitro-4-(trifluorometil)-[7- ^{14}C]benzonitrilo (VI-2)

A una suspensión de cianuro [^{14}C]cobre(I) (VI-1) (1.393 g, 15.55 mmol, 186.6 mCi) en 1-metil-2-pirrolidinona (NMP, 10 mL) se agregó 4-bromo-3-nitrobenzotrifluoruro (6.33 g, 23.45 mmol) y la mezcla se calentó a 190 – 195°C por 1 hora. Se agregaron etil acetato (25 mL) y agua (20 mL) a temperatura ambiente y la mezcla se filtró a través de celita. Al filtrado se le añadió más agua (20 mL) y etilo acetato (90 mL). El extracto orgánico se lavó con solución de cloruro de hierro (III) (7.468 g, 46.04 mmol) en agua (50 mL). El extracto orgánico se lavó adicionalmente con agua (30 mL), cloruro de sodio saturado (15 mL), se secó (Na_2SO_4) y el solvente se retiró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía centelleante sobre gel de sílice (hexano/etilo acetato, 9/1-7/3) para proporcionar un aceite que se disolvió en hexano (70 mL). El solvente se retiró a presión reducida y el residuo se secó al vacío durante 15 horas 40 minutos para proporcionar VI-2 (3.01 g, 167.13 mCi, producción de 89.6%) como un sólido amarillo. Radio-TLC (hexano/etilo acetato, 9/1, $R_f=0.21$, HPLC (sistema A), RCP 99.86% (tiempo de ret., 9.2 minutos).

[3- ^{14}C]-3-amino-2-carbometoxi-6-trifluorometilbenzo[b]tiofeno (VI-3)

Nitrilo (VI-2) (3.01 g, 13.9 mmol, 167.13 mCi) se disolvió en DMF (14 mL) y se añadió en un minuto metil tioglicolato (1.78 g, 15.94 mmol, 95%). La mezcla se enfrió a 0-5°C y se añadió gota a gota en 12 minutos una solución de hidróxido de

litio (0.689 g, 28.77 mmol) en agua (9.2 mL). Después de la adición, se retiró el baño frío y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Se añadió agua (70 mL) a 0-5°C y la mezcla se agitó durante 15 minutos a 0-5°C. El sólido se recolectó en un filtro, se lavó con agua (20 mL) y se secó al vacío (0.1 mm Hg) durante 40 horas 15 minutos para proporcionar VI-3 (3.469 g, 151.24 mCi, 90.49% de producción). Radio-TLC (CH_2Cl_2), $R_f=0.372$, HPLC (Sistema A), RCP 99.92% (tiempo de ret. 16.722 minutos).

[3- ^{14}C]-3-amino-6-trifluorometilbenzo[b]tiofeno (VI-4)

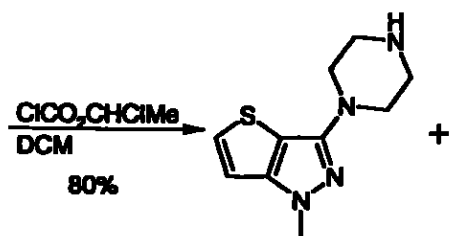
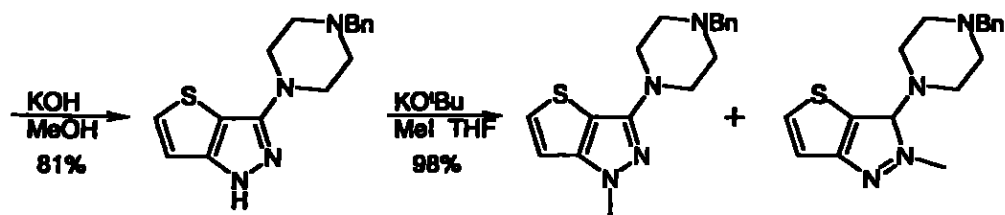
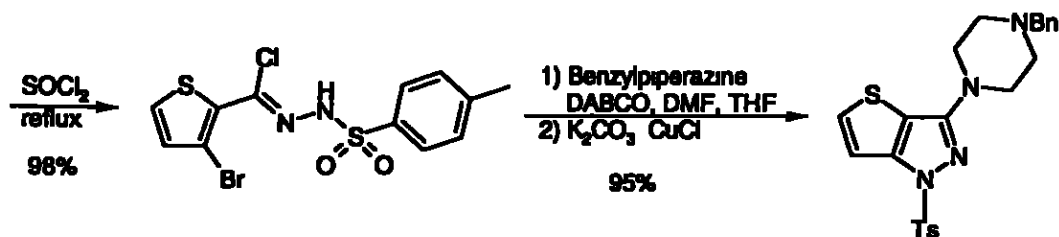
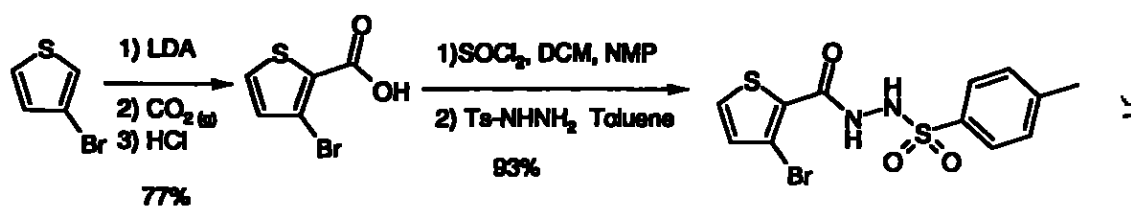
A una solución de benzo[b]tiofeno (VI-3) (3.469 g, 12.6 mmol, 151.2 mCi) en NMP (14 mL) se le añadió 1-metilpiperazina (6.69 g, 66.79 mmol) y la mezcla se calentó a 140-145°C durante 5 horas. Se dejó enfriar la mezcla a temperatura ambiente, se cortó en agua y se extrajo con etilo acetato (140 mL). El extracto orgánico se lavó con agua (30 mL), cloruro de sodio saturado (10 mL), se secó (Na_2SO_4) y el solvente se retiró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía centelleante sobre gel de sílice (hexano/etilo acetato, 1/1) para producir un sólido verdoso que se secó al vacío (0.1 mm Hg) durante 14 horas para proporcionar VI-4 (peso 66 g, 146.95 mCi, producción 97.16%). Radio-TLC (hexano/etilo acetato, 1/5), $R_f=0.407$, HPLC (Sistema A), RCP 99.44% (tiempo de ret. 10.552 minutos).

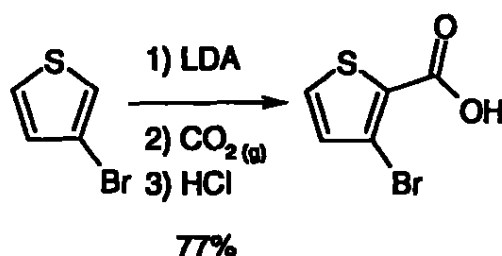
1-[6-(trifluorometil)benzo[b]tien-3-il]-[3- ^{14}C]piperazina (VI-5)

A una solución de benzo[b]tiofeno (VI-4) (2.66 g, 12.24 mmol, 146.95 mCi) en NMP (17 mL) se añadió piperazina (4.309 g, 50.02 mmol) y ácido p-toluenosulfónico (4.76 g, 25.02 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se calentó a 170°C durante 20 horas 24 minutos, se dejó enfriar a temperatura ambiente y se vertió en una solución de carbonato de sodio (4.70 g, 44.3 mmol) en agua (60 mL). La mezcla se extrajo con etilo acetato (20 mL), se secó (Na_2SO_4) y el solvente se retiró al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía centelleante sobre gel de sílice ($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}/\text{NH}_4\text{OH}$, 9/1/0.2) y el producto se secó al vacío (0.1 mm Hg) durante 11 horas 50 minutos. Se añadió etanol

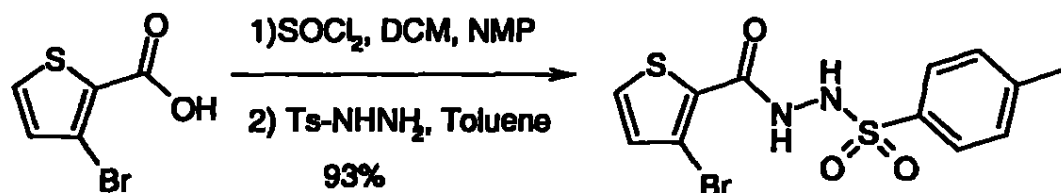
(absoluto, 30 mL) al producto y se retiró el solvente bajo presión reducida. El residuo se secó al vacío (0.1 mmHg) durante 24 horas 55 minutos para proporcionar VI-5 (3.44 g, 144.18 mCi, producción 98.1%) como un aceite. Radio-TLC ((CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH, 9/1/0.2), R_f=0.46, HPLC (sistema A), RCP 99.88% (tiempo de ret. 5.807).

EJEMPLO 22





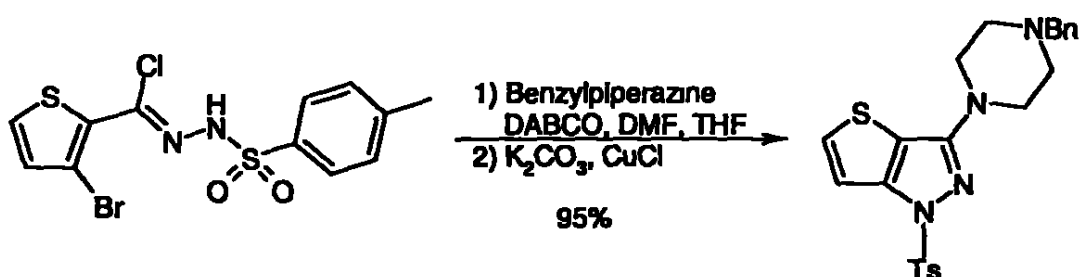
Acido 3-bromo-tiofeno-2-carboxílico A una solución de 3-bromotiofeno (600 g, 3.68 mol) EN thf (3 L) enfriada a -72°C se le añadió lentamente en 2 horas LDA (1.93 L, 3.86 mol, 2N). La velocidad de adición de LDA es tal que la temperatura de la reacción nunca excedió -68°C . Después de la adición completa, la solución se agita durante 40 minutos adicionales. Se añade entonces éster dietílico (3L) mediante un embudo de adición de tal manera que la temperatura se mantiene por debajo de -65°C . Se reemplaza entonces el embudo de adición con un tubo de dispersión y se burbujea gas de CO₂ a través de la solución durante 3 horas. Se añade entonces hielo seco (500 g) y la mezcla se agita durante la noche. El frasco de reacción se coloca en un baño de hielo y se le añade lentamente 6 N HCl para evitar el burbujeo excesivo hasta que el pH de la solución se ajusta a 1-2. La mezcla resultante se extrae con EtOAc. El extracto se lave con solución salina y después se seca sobre MgSO₄, se filtra y se evapora. El producto se seca al vacío a temperatura ambiente produciendo 585.15 g (77%) como un sólido blancuzco.



1-(ácido 3-bromo-tiofeno-2-carboxílico)-2-(4-toluenosulfonilo)-hidrazina A una suspensión agitada del ácido (285.53 g, 1.38 mol) en DCM (1.5 L) se le añadió una cantidad catalítica de NMP (2 mL). Luego se añade tionilo cloruro (105.8 mL, 1.45 mol) y la solución se somete a reflujo hasta que los sólidos se hayan disuelto completamente. La solución sigue bajo reflujo durante 1 hora más, se enfria a temperatura ambiente y se evapora para producir un sólido castaño claro. El material crudo se seca al vacío durante la noche. El sólido castaño se sumerge en tolueno (3.5 L) y se añade p-toluenosulfonhidrazina (402.25 g, 2.16 mol). La mezcla se agita a 100°C durante 8 horas y luego a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla resultante se enfrió con un baño de hielo y los sólidos resultantes se recolectaron mediante filtración y se lavaron con tolueno. Luego los sólidos se agitaron como un lodo aguado en 1N HCl por 1 hora. Los sólidos se recolectaron por filtración y lavados con cantidades copiosas de agua. Los sólidos se secaron al vacío a 40°C después se recrystalizaron de tolueno/isopropil/alcohol produciendo 484.28 g (93%) del producto deseado.

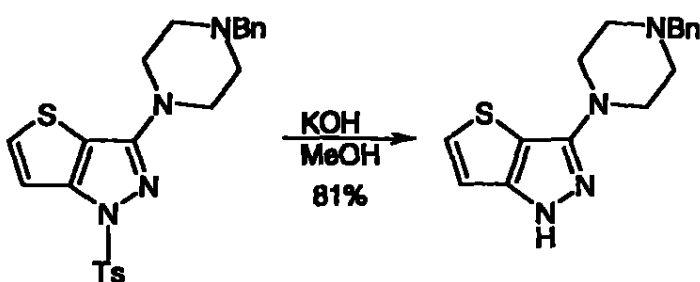


Cloruro de N-((4-metilfenil)-sulfonil)-3-bromo-tiofeno-2-carbohidrazonil Se añadió 1-(ácido 3-bromo-tiofeno-2-carboxílico)-2-(4-toluenosulfonilo)-hidrazina (60.80 g, 0.161 mol) a cloruro de tionilo (70.5 mL, 0.966 mol). La mezcla resultante se agitó a 80°C hasta que la mezcla se vuelve homogénea. Luego se agita la solución a 70°C durante 30 minutos y se añade heptano (300 mL) a lo largo de 20 minutos. La solución se enfrió lentamente a temperatura ambiente y luego se enfria adicionalmente hasta 5°C. Se recolectan los sólidos mediante filtración, se lavan con heptano (3x100 mL) y se secan al vacío produciendo 62.1 g (98%) del producto deseado como un sólido blanquecino.

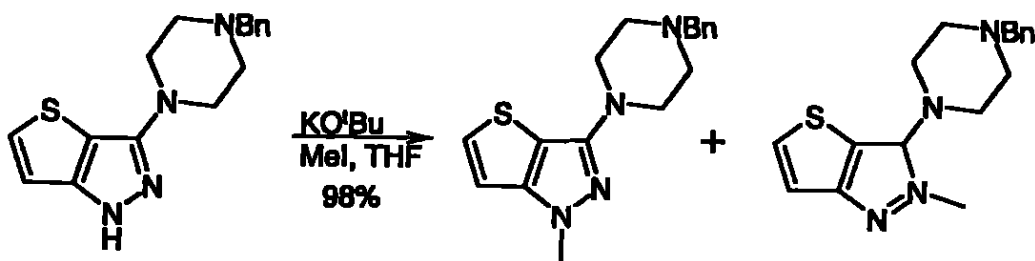


3-(4-benzil-piperazin-1-il)-1-(tolueno-4-sulfonil)-1H-tieno[3,2-c]pirazol A una solución agitada de DABCO (14.18 g, 112.18 mol) y benzilpiperazina (35.35 g, 0.200 mol) en DMF (200 mL) enfriada a -30°C se le añadió a través de cánula una solución de N((4-metilfenil)-sulfonil)-3-bromo-tiofeno-2-carbohidrazonil cloruro (62.1 g, 0.158 mol) en THF (100 mL). La adición se controla para evitar que la temperatura de reacción exceda los -30°C. Después de completar la adición tiene lugar la precipitación y entonces se deja que la mezcla se agite a temperatura ambiente hasta el otro día cuando se añadieron K_2CO_3 (65.41 g, 0.473 mol) y CuCl (1.0 g, 0.010 mol). La mezcla resultante se calienta a 110°C y en este punto

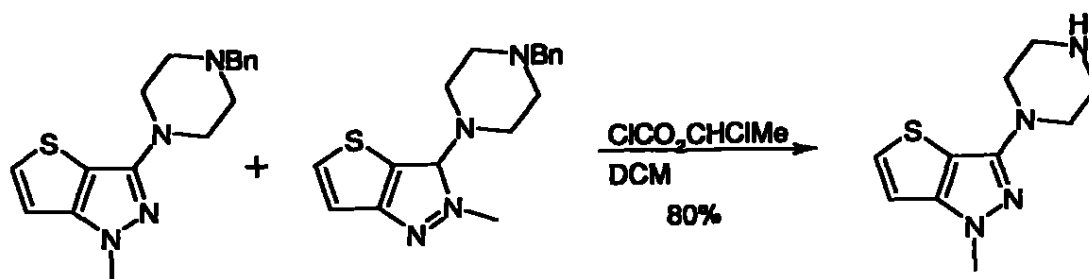
se retira el THF mediante destilación. Luego se aumenta la temperatura a 140°C y la mezcla se agita durante 6 horas, se enfría a temperatura ambiente y se agita durante la noche. Luego la mezcla se vierte sobre agua (100 mL) y EtOAc (100 mL). Luego se separa la capa de EtOAc y la capa acuosa se extrae con EtOAc (3x500 mL). Las capas combinadas de EtOAc se lavan con agua (500 mL) y se filtran a través de celita y se concentran. Los sólidos se recolectan mediante filtración y se lavan con agua fría y luego con EtOAc/heptano (1:4) y se secan al vacío, produciendo 66.05 g (95%) del producto deseado como un sólido blanquecino.



3-(4-benzil-piperazin-1-il)-1H-tieno[3,2-c]pirazol A una mezcla agitada de $\text{KOH}_{(s)}$ (56.09 g, 2.66 mol) en alcohol metílico (1.33 L) se añade 3-(4-benzil-piperazin-1-il)-1-(tolueno-4-sulfonil)-1H-tieno[3,2-c]pirazol (241 g, 0.532 mol). La mezcla se calienta al reflujo durante 1.25 horas, se enfría a temperatura ambiente y se evapora. El residuo se sumerge en EtOAc (1L) se lava con agua (2L), se seca (MgSO_4), se filtra y se evapora. El residuo se recristalizó de EtOAc/Heptano produciendo 129 g (81%).

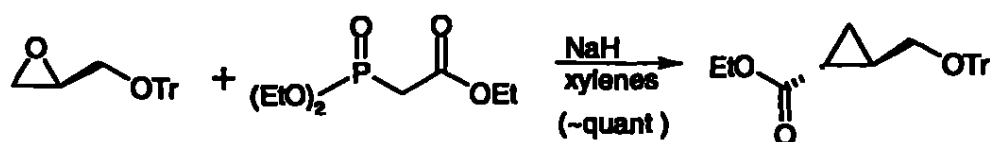


3-(4-benzil-piperazin-1-il)-1-metil-1H-tieno[3,2-c]pirazol A una solución agitada de 3-(4-benzil-piperazin-1-il)-1-metil-1H-tieno[3,2-c]pirazol (318 g, 1.07 mol) en THF (2.5 L) se le añadió una mezcla de t-butoxido de potasio (134.4 g, 1.2 mol) en THF (1.5 L) gota a gota a lo largo de un periodo de 1 hora manteniendo la reacción a una temperatura por debajo de 25°C. Después de completar la adición, la mezcla se enfrió a -30°C y se añadió MeI (65.4 mL, 1.05 mol) gota a gota durante un periodo de 30 minutos. Después la mezcla se calienta lentamente a temperatura ambiente durante la noche. A la mezcla de reacción se le añade lentamente NaHCO_3 saturado (1L). Luego la solución se evapora para retirar el THF y la mezcla acuosa resultante se sumerge en EtOAc y se lava con agua y solución salina. El extracto de EtOAc se seca (Na_2SO_4), se filtra y se evapora. El concentrado viscoso se filtra a través de un tapón de gel de silica con 1:1 EtOAc/heptano y se evapora produciendo un aceite viscoso que luego se seca al vacío donde se solidifica y produce 326.03 g (98%) como proporción 12:1 de regioisómeros a favor del producto deseado.



1-metil-3-piperazin-1-il-1H-tieno[3,2-c]pirazol A una solución de una mezcla de 3-(4-benzil-piperazin-1-il)-1-metil-1H-tieno[3,2-c]pirazol y el metilo análogo (189.0 g, 0.60 mol) disuelta en DCM (1.25 L) se le añade 1-cloroetilcloroformato (78.6 mL, 0.72 mol). La solución se calienta a reflujo durante 1 hora, y entonces la mezcla se enfría y el solvente se retira mediante evaporación. El residuo se sumerge en etanol (1L) y se calienta a reflujo durante 30 minutos. Después de enfriarse, la solución se trata con 1 N HCl en éter (200 mL) y 1 L adicional de éter para producir la precipitación del producto. El sólido se recolecta mediante filtración y lavado con éter frío. El sólido se recristaliza de metano (1 L) y la sal de HCl se recolecta mediante filtración, se lava con éter y se seca al vacío produciendo 123.04 g (80%) del producto deseado como una mezcla 80:1 de regioisómeros a favor del regioisómeros deseados según se ve mediante NMR.

Ejemplo 23



$$\text{EtO}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OTr} \xrightarrow[\text{DCM, MeOH}]{\text{PPh}_3, \text{Br}_2} \text{EtO}-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Br}$$

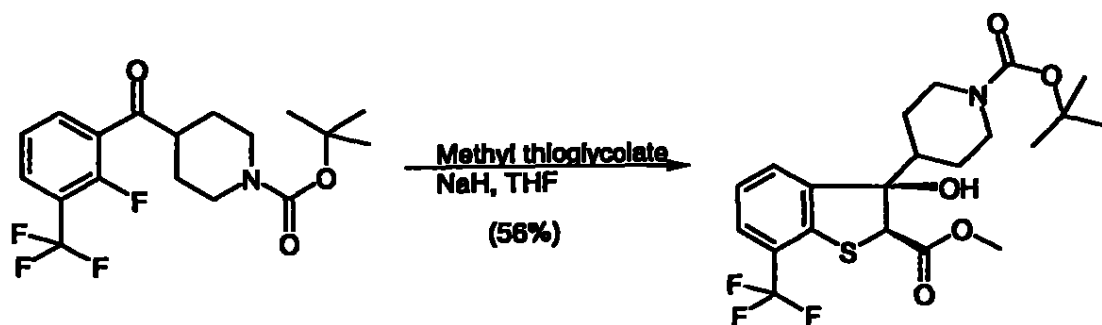
(-quant.)

Ester metílico de ácido 2R-bromometil-ciclopropano-1R-carboxílico Una solución de trietilfosfina (124.7 g, 1.34 mol) en CH_2Cl_2 (260 mL) se enfrió a 5°C cuando una solución de bromo (24.4 mL, 1.34 mol) en CH_2Cl_2 (65 mL) se agregó durante 20 minutos mientras se mantuvo la temperatura por debajo de 12°C. La

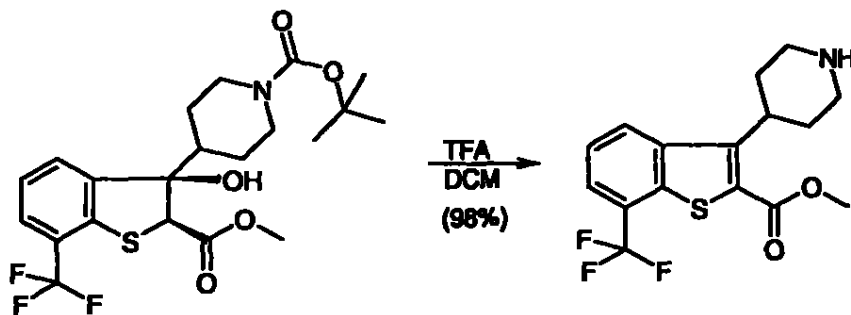
mezcla se agitó a 5 °C por 1 hora cuando se agregó 2M HCl/Et₂O (16 mL, 32 mmol) seguido por la adición de éster etílico de ácido trioximetil-(1R, 2R)-ciclopropano carboxílico crudo (124 g, 032 mol) La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche cuando se añadió NaHCO₃ saturado (600 mL) La mezcla se separó y la capa acuosa se extrajo con CH₂Cl₂ (200 mL) Las capas orgánicas combinadas se lavaron con agua (400 mL), se secaron MgSO₄, se filtraron y se evaporaron El residuo se diluyó con heptano (200 mL) y se evaporó dos veces para retirar el exceso de CH₂Cl₂ El residuo se dejó reposar durante 30 minutos cuando se retiraron las impurezas sólidas mediante filtración El pastel filtrado se lavó con heptano (2x400 mL) Las capas orgánicas combiadas se evaporaron para proporcionar 92.68 g de un liquido amarillo crudo El liquido crudo se destió (BP=80-85°C/1.5 torr) para proporcionar 55.19 g (84% de rendimiento para las dos etapas) de un liquido incoloro

Ejemplo 24

7-trifluorometil benzo[b]tlenil piperidina

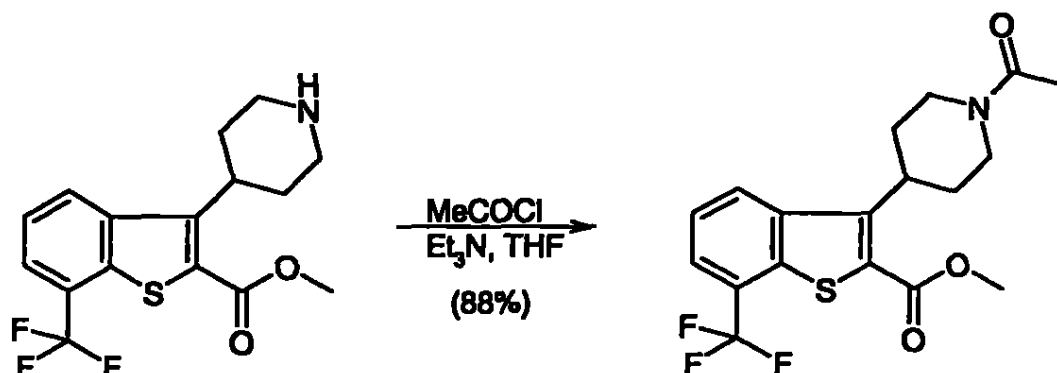


Ester terc-butílico de ácido 4-(3-hidroxi-2-metoxycarbonil-7-trifluorometil-2,3-dihidro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperidina-1-carboxílico (MDL 832712) A una solución a temperatura ambiente de éster terc-butílico de ácido 4-(2-fluoro-3-trifluorometil-benzoi)-piperidina-1-carboxílico (9.00 g, 24.0 mmol), metilo tioglicolato (2.40 mL, 26.8 mmol), y THF anhidro (200 mL) bajo hidrógeno se le añadió en una porción NaH (1.15 g de una dispersión 60% aceite, 28.7 mmol). Luego de cesar la evolución de gas la reacción se agitó a 55°C. Después de 100 minutos, la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con etilo acetato (500 mL). La mezcla se lavó con agua (300 mL) y solución salina (300 mL) sucesivamente, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y el solvente se retiró para producir un sólido blanco pegajoso. La trituración con 20% etilo acetato/heptano produjo 6.20 g (56%) del producto deseado como un polvo blanco.

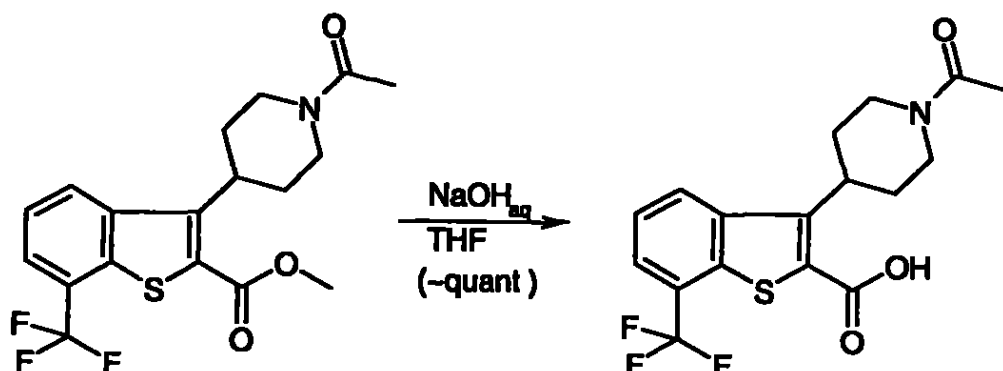


Ester metílico de ácido 3-piperidin-4-il-7-trifluorometil-benzo[b]tiofeno-2-carboxílico A una solución a temperatura ambiente de éster terc-butílico de ácido 4-(3-hidroxi-2-metoxycarbonil-7-trifluorometil-2,3-dihidro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperidina-1-carboxílico (6.00 g, 13.0 mmol) en DCM (30 mL) se le añadió TFA (30 mL) produciendo una rápida evolución de gas. Después de 5 minutos, la reacción se agitó a 40°C por 5.5 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la

reacción se vertió en 20% carbonato de potasio acuoso (400 mL) y se extrajo con DCM (2x200 mL). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron, y se retiró el solvente para producir un aceite espeso. Luego de secar en vacío elevado se obtuvieron 4.37 g (98%) del producto deseado como una espuma blanca.

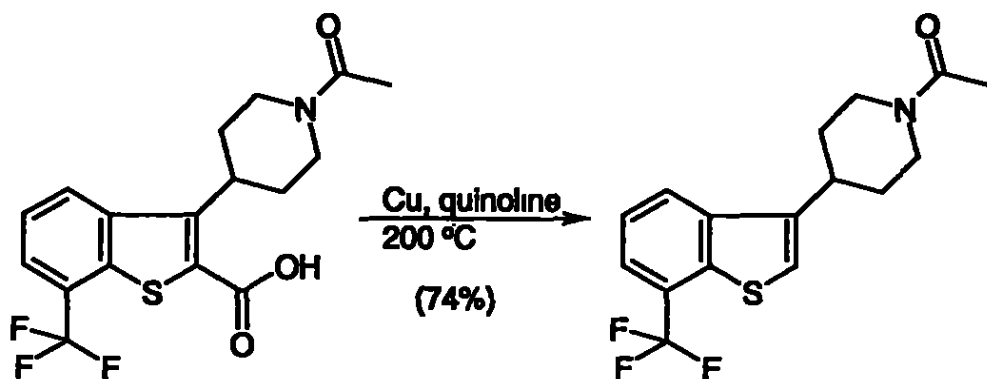


Ester metílico de ácido 3-(1-acetil-piperidin-4-il)-7-trifluorometil-benzo[b]tiofeno-2-carboxílico A una solución a temperatura ambiente de éster metílico de ácido 3-piperidin-4-il-7-trifluorometil-benzo[b]tiofeno-2-carboxílico (4.37 g, 12.7 mmol), trietilamina (2.70 mL, 19.4 mmol) y THF anhidro (80 mL) bajo nitrógeno se le añadió en una porción cloruro de acetilo (1.10 mL, 15.5 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La reacción se diluyó con etilo acetato (200 mL) y se lavó con agua (150 mL) y solución salina (150 mL) sucesivamente. La capa orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se retiró el solvente. El residuo se cromatografió sobre sílica, eluyendo con 10% metanol/etilo acetato, para producir 4.28 g (88%) del producto deseado como un sólido blanco, mp 155.2°C.



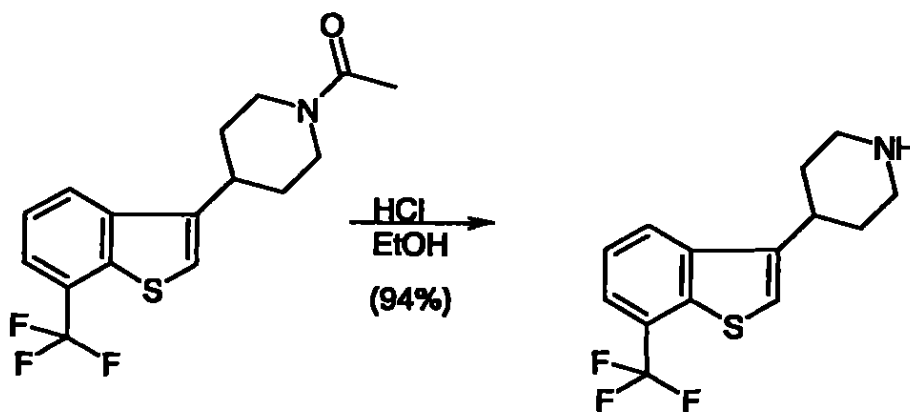
Acido 3-(1-acetil-pipendin-4-il)-7-trifluorometil-benzo[b]tiofeno-2-carboxílico

A una solución de éster metílico de ácido 3-(1-acetil-pipendin-4-il)-7-trifluorometil-benzo[b]tiofeno-2-carboxílico (4.10 g, 10.6 mmol) en THF (25 mL) se le añadió 0.5 N hidróxido de sodio acuoso (23.4 mL, 11.7 mmol) y la reacción se agitó a temperatura ambiente. Luego de 18 horas, la reacción se acidificó con 1N HCl (200 mL) y la mezcla se extrajo con DCM (2x100 mL). Los materiales orgánicos se lavaron con agua (100 mL), se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para producir 4.13 g del producto deseado como una espuma blanca.



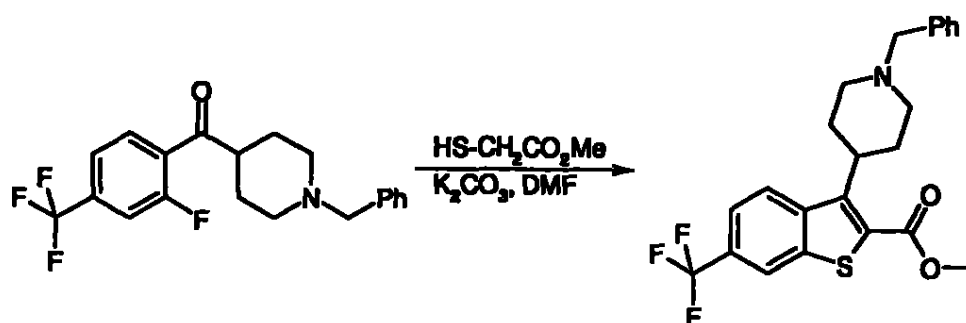
1-[4-(7-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperidin-1-il]-etanona (MDL 832823)

Una mezcla de ácido 3-(1-acetil-pipendin-4-il)-7-trifluorometil-benzo[b]tiofeno-2-carboxílico (4.13 g, 11.1 mmol), polvo de cobre (0.706 g, 11.1 mmol), y quinolina se calentó a 200°C bajo nitrógeno. Después de 10 minutos, no se observó ninguna evolución de gas y la reacción se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla se diluyó con etilo acetato (100 mL), se filtró a través de un lecho de celita y el filtrado se lavó con 1 N HCl (2x100mL), 5% carbonato de potasio acuoso (100 mL), agua (100mL) y solución salina (100 mL) sucesivamente. Los materiales orgánicos se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron para dar un aceite ámbar. El aceite se cromatografió sobre sílice, eluyendo con 10% metanol/etil acetato para producir 2.69 g (74%) del producto deseado como un sólido marrón.



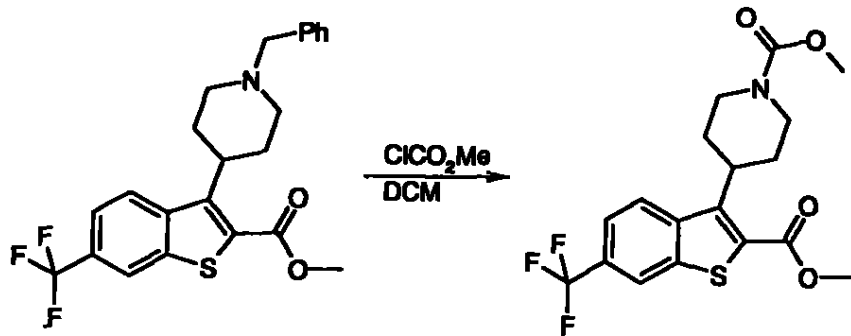
4-(7-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperadina. Una mezcla de 1-[4-(7-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperidin-1-il]-etanona (2 95 g, 9 01 mmol), HCl concentrado (30 mL) y etanol se calentó a 80°C durante 18 horas. Después del enfriamiento a temperatura ambiente, la reacción se basificó con 20% de carbonato de potasio acuoso (150 mL) y la mezcla se extrajo con DCM (2x100 mL). Las materias orgánicas se lavaron con agua (100 mL), se secaron sobre carbonato de potasio, se filtraron, y se concentraron para producir 2 42 g (94%) del producto deseado como un sólido ceroso ámbar.

Ejemplo 25

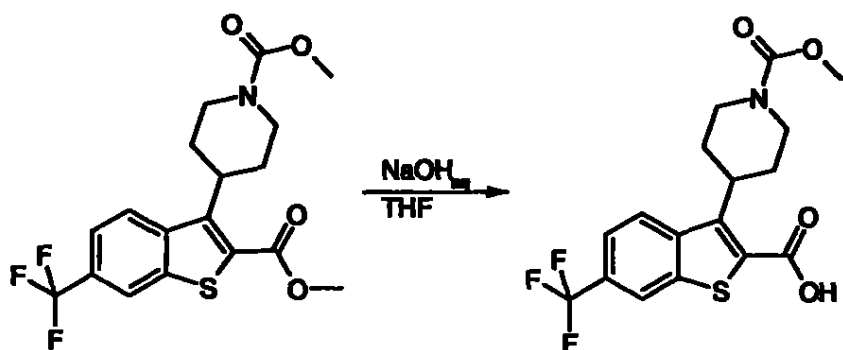


Ester metílico de ácido 3-(1-benzil-piperidin-4-il)-6-trifluorometil-benzo[b]tiofeno-2-carboxílico (MDL 833803). A una solución a temperatura ambiente de (1-benzil-piperidin-4-il)-(2-fluoro-4-trifluorometil-fenil)-metanona (7 5 g, 20 5 mmol), metil triglicolato (2 0 mL, 22 5 mmol), y DMF (100 mL) se añadió K₂CO₃ (5 65 g, 41 0 mmol). La reacción se agitó a 60°C durante 24 horas, se enfrió a temperatura ambiente y se diluyó con etil acetato (500 mL). La mezcla se lavó con agua (2x300 mL) y solución salina (300 mL) sucesivamente, se secó

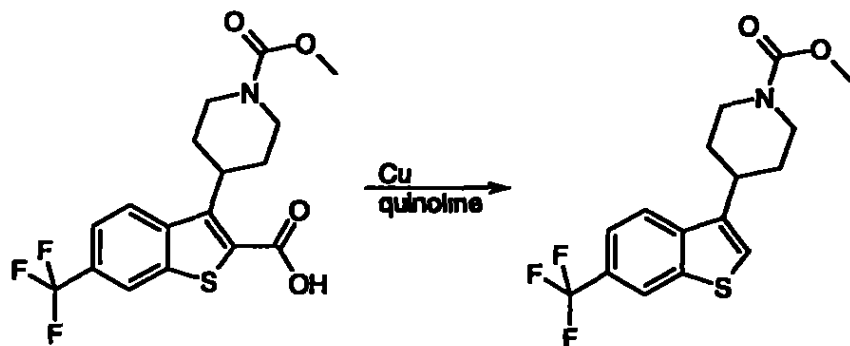
sobre sulfato de magnesio, se filtró y se retiró el solvente para producir un aceite. El aceite se purificó mediante cromatografía (30% EtOAc en heptano) produciendo 5.91 g (67%) como un sólido.



Ester metílico de ácido 4-(2-metoxicarbonil-6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperidina-1-carboxílico. A una solución de éster metílico de ácido 3-(1-benzil-piperidin-4-il)-6-trifluorometil-benzo[b]tiofeno-2-carboxílico (5.9 g, 13.6 mmol) en DCM (50 mL) se añadió metil cloroformato (1.26 mL, 16.3 mmol) gota a gota. La solución resultante se agitó durante la noche y luego las materias volátiles se retiraron al vacío. El residuo se lavó con heptano para producir 4.2 g (77%) del producto deseado como un sólido blanco.

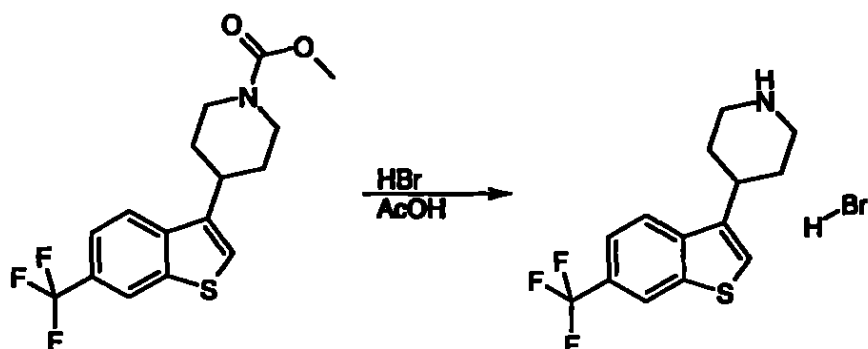


Ester metílico de ácido 4-(2-carboxi-6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperidina-1-carboxílico A una solución agitada de éster metílico de ácido 4-(2-metoxycarbonil-6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperidina-1-carboxílico (1.1 g, 2.7 mmol) en THF (70 mL) se le añadió 1 N NaOH (2.97 mL). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante la noche y la mezcla se diluyó con agua (50 mL) y se lavó con éter (100 mL). La capa acuosa se acidificó con la adición de 3 N HCl y el producto se extrajo con EtOAc (2x150 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con solución salina (50 mL), se secaron (MgSO_4), se filtraron y se evaporaron produciendo 960 mg (92%) del producto deseado como un sólido blanco.



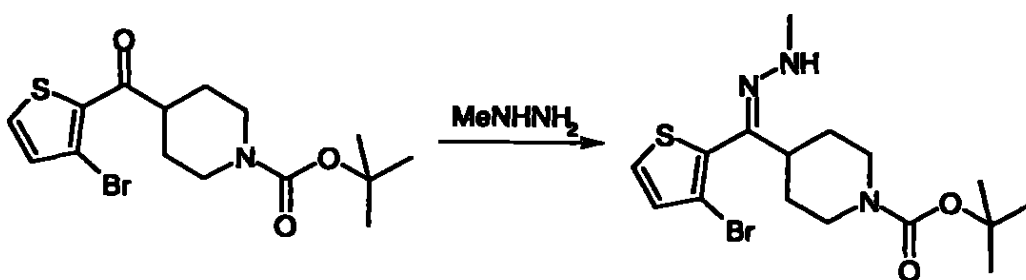
Ester metílico de ácido 4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperidina-1-carboxílico Una mezcla de éster metílico de ácido 4-(2-carboxi-6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperidina-1-carboxílico (4.3 g, 11.1 mmol) y cobre (705 mg, 11.1 mmol) en quinolina (8 mL) se calentó a 200°C durante 45 minutos. Luego de enfriarla a temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con EtOAc (50 mL) y se filtró. El filtrado se lavó con 5% HCl (2x20 mL), agua (20 mL) y solución salina (20 mL), se secó (MgSO_4), se filtró y se evaporó. El residuo se separó mediante

cromatografía (30% EtOAc en heptano) produciendo 3 14 g (82%) del producto deseado como una sólido blanco

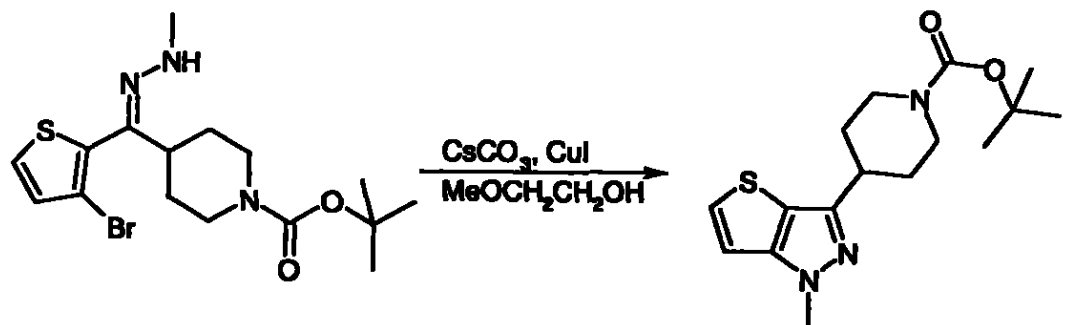


Hidrobromuro de 4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperidina Una mezcla de éster metílico de ácido 4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperidina-1-carboxílico (3 1 g, 9 0 mmol) en HBr (45 mL, 30% en ácido acético) se agitó a temperatura ambiente durante 20 horas y entonces se retiraron las materias volátiles al vacío. El residuo se lavó con EtOAc y el producto se recolectó mediante filtración produciendo 3 09 g (94%) del producto deseado como un sólido blanco.

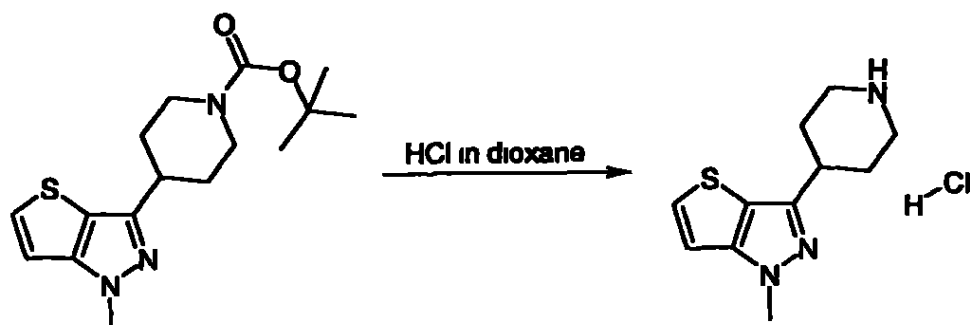
Ejemplo 26



Ester terc-butílico de ácido 4[(3-bromo-tiofen-2-il)-(metil-hidrazon)-metil-piperidina-1-carboxílico Una mezcla de éster terc-butílico de ácido 4-(tiofeno-2-carbonil)-piperidina-carboxílico (1 96 g, 5 2 mmol) en metilhidrazina (2 mL) se calentó a 75°C durante la noche. El exceso de metil hidracina se retiró entonces con una bomba de vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía (eluido con 0-8% de MeOH en DCM) produciendo 0 95 g (45%) del producto deseado.



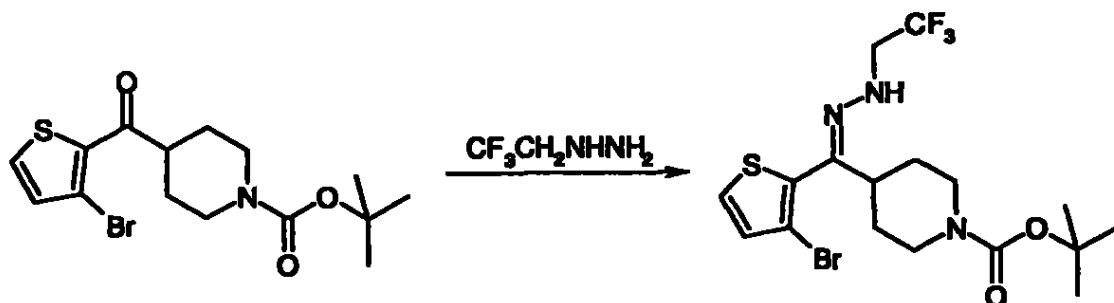
Ester terc-butílico de ácido 4-(1-metil-1H-tieno[3,2-c]pirazol-3-il)-piperidina-1-carboxílico Ester terc-butílico de ácido 4[(3-bromo-tiofen-2-il)-(metil-hidrazono)-metil-piperidina-1-carboxílico (700 mg, 1 74 mmol) se mezcló con CuI (20 mg), CsCO₃ (650 mg, 1 15 eq) en metoxietanol (10 mL). La mezcla se calentó a 70°C durante 2 horas, después se agitó durante la noche a temperatura ambiente. El solvente se separó en evaporador giratorio. El residuo se extrajo en EtOAc, después se lavó con solución salina y se concentró en un aceite. Este aceite se purificó mediante cromatografía (se eluido con 0-10% MeOH en DCM) produciendo 520 mg (68%) del producto deseado.



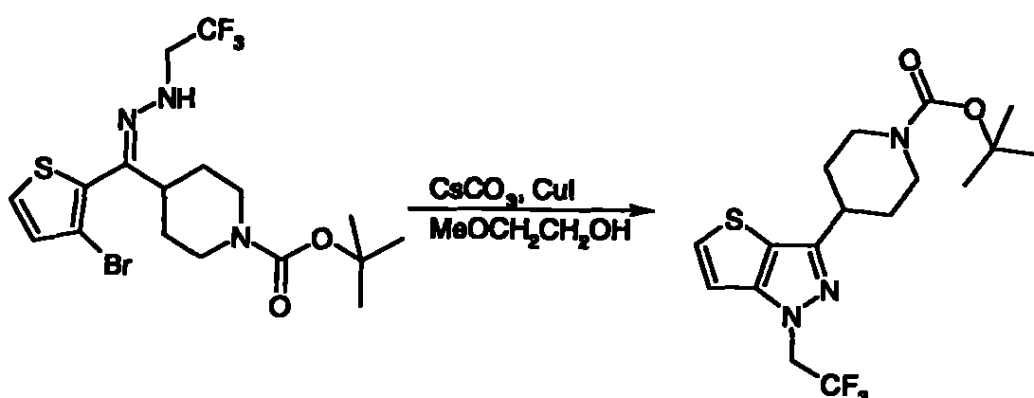
Hidrocloreto de 1-metil-3-piperidin-4-il-1H-bieno[3,2-c]pirazol (A002436287A)

Ester terc-butílico de ácido 4-(1metil-1H-bieno[3,2-c]pirazol-3-il)piperidina-1-carboxílico (520 mg, 1.6 mmol) se agitó a temperatura ambiente en una solución de HCl (5 mL, 4N HCl en dioxano) durante 4 horas. Las materias volátiles se retiraron entonces al vacío y el residuo se trituró con éter (dos veces) para producir 304 mg de sólidos blancos (74%) como la sal de hidrocloreto deseada.

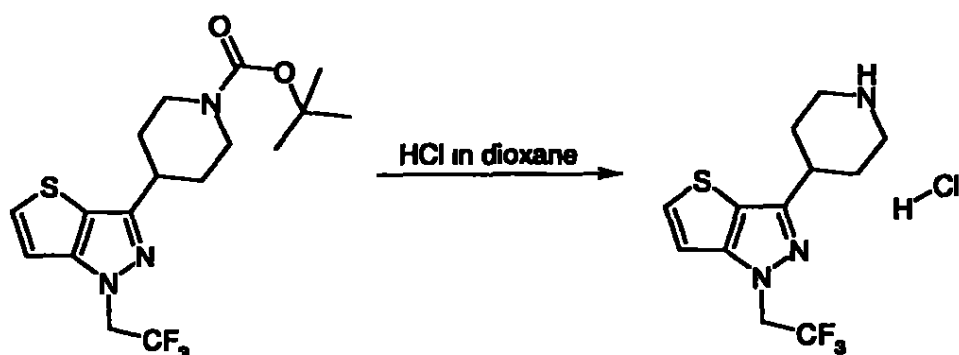
Ejemplo 27



Ester terc-butílico de ácido 4-[(3-bromo-tiofen-2-il)-[2,2,2-trifluoro-etil]-hidrazono]-metil]-piperidina-1-carboxílico A una mezcla de éster terc-butílico de ácido 4-(tiofeno-2-carbonil)-piperidina-carboxílico (2.34 g, 6.24 mmol) en n-butanol (20 mL) se añadió trifluoroetilhidrazina (2.43 g, 12.4 mmol). La mezcla resultante se calentó a 100°C durante la noche. Las materias volátiles se retiraron entonces al vacío. El residuo se purificó mediante cromatografía (eluido con 0-10% MeOH en CM) produciendo 2.41 g (92%) del producto deseado.

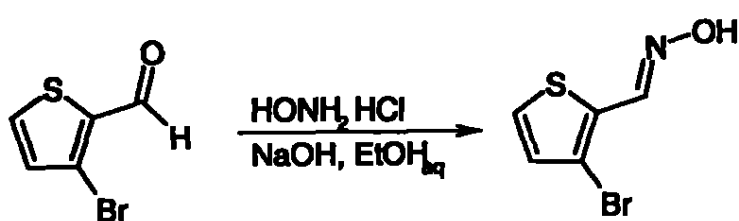


Ester terc-butílico de ácido 4-[1-(2,2,2-trifluoro-etil)-1H-benzo[3,2-c]pirazol-3-il]-piperidina-1-carboxílico Ester terc-butílico de ácido 4-[(3-bromo-tiofen-2-il)-[2,2,2-trifluoro-etil]-hidrazono]-metil]-piperidina-1-carboxílico (2.34 g, 4.98 mmol) se mezcló con CuI (50 mg), CsCO₃ (1.9 g, 1.2 eq) en metoxietanol (25 mL). La mezcla se calentó a 75°C durante 1 hora. La mezcla se diluyó entonces con EtOAc y se filtró. El filtrado se evaporó y el residuo se purificó mediante cromatografía (eluido con 0-10% MeOH en DCM) produciendo 2.03 g (>95%) del producto deseado.

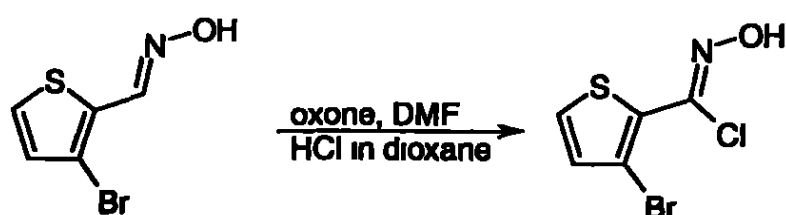


Hidrocioruro de 3-piperidin-4-il-1-(2,2,2-trifluoro-etil)-1H-tieno[3,2-c]pirazol (833906) Ester terc-butílico de ácido 4-[1-(2,2,2-trifluoro-etil)-1H-tieno[3,2-c]pirazol-3-il]-piperidina-1-carboxílico (1.9 g, 4.87 mmol) se agitó a temperatura ambiente en una solución de HCl (6 mL, 4N HCl en dioxano) durante 4 horas. Las materias volátiles se retiraron al vacío y el residuo se trituró con éter (dos veces) para producir 2.1 g de sólidos blancos (74%) como la sal de hidrocioruro deseada.

Ejemplo 28

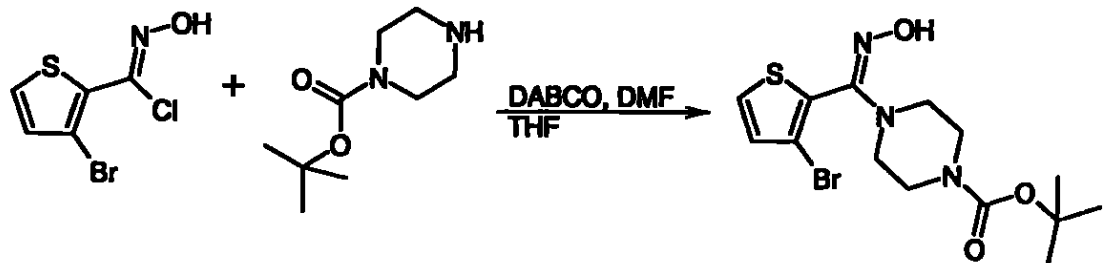


3-bromo-tiofeno-2-carbaldehído oxima Se añadió en una porción 3-bromotiofeno-2-carbaldehído (28.7 g, 0.15 mol) en etanol (50 mL) a una solución de hidrocloruro de hidroxilamina (13.8 g, 0.2 mol), hidróxido de sodio (8 g, 0.2 mol) en agua (30 mL) y etanol (100 mL). La mezcla se agitó a 0°C durante la noche, formándose un precipitado. La mezcla se diluyó con agua fría (600 mL) y el sólido se recolectó mediante filtración, produciendo 20.5 g (67%). La solución acuosa se extrajo adicionalmente con etilo acetato. La solución orgánica se lavó con solución salina, se secó con sulfato de magnesio, se filtró y se evaporó, produciendo 6.9 g adicionales de producto como un sólido amarillo claro. La producción total fue 27.4 g (89%).

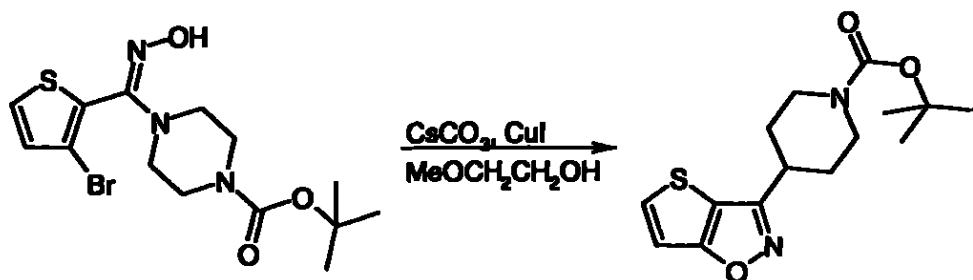


3-bromo-tiofeno-2-(cloro-carbaldehído) oxima A la solución de 3-bromotiofeno-2-carbaldehído oxima (10.8 g, 52.4 mmol), hidrógeno cloruro (14.5 mL, 4M en dioxano) en DMF (100 mL) se le cargó con ozono (16.9 g, 1.05 eq) en una porción, a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante la noche y luego la solución se vertió en agua y se extrajo con etilo acetato. La solución orgánica se lavó con solución salina y se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se evaporó hasta la sequedad para dar un sólido amarillo (12.68 g).

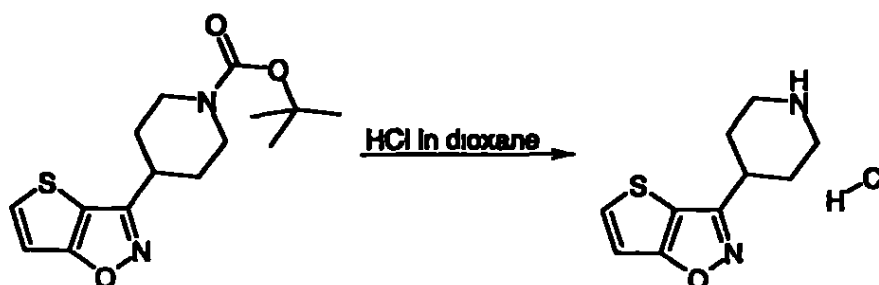
g, cuantitativo por peso), que se usó para la siguiente reacción sin purificación adicional



Ester terc-butílico de ácido 4-[(3-bromo-tiofen-2-il)-hidroxilimino-metil]-piperazina)-1-carboxílico Una solución de 3-bromo-tiofeno-2-(cloro-carbaldehído) oxima (16.4 g, 68 mmol) en THF (70 mL) se añadió gota a gota a una solución de N-(t-butoxicarbonil)piperazina (14 g, 1.1 eq), DABCO (9.5 g, 1.25 eq) en DMF (100 mL) a 0°C a lo largo de 25 minutos. La mezcla se agitó a 0°C durante 3.5 horas y luego se vertió en agua y se extrajo con etilo acetato. La capa orgánica se lavó con solución salina y se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se evaporó. El producto crudo (30.5 g) se purificó mediante cromatografía (eluido con 0-5% de MeOH en DCM), produciendo 24.6 g (85%) del producto deseado.



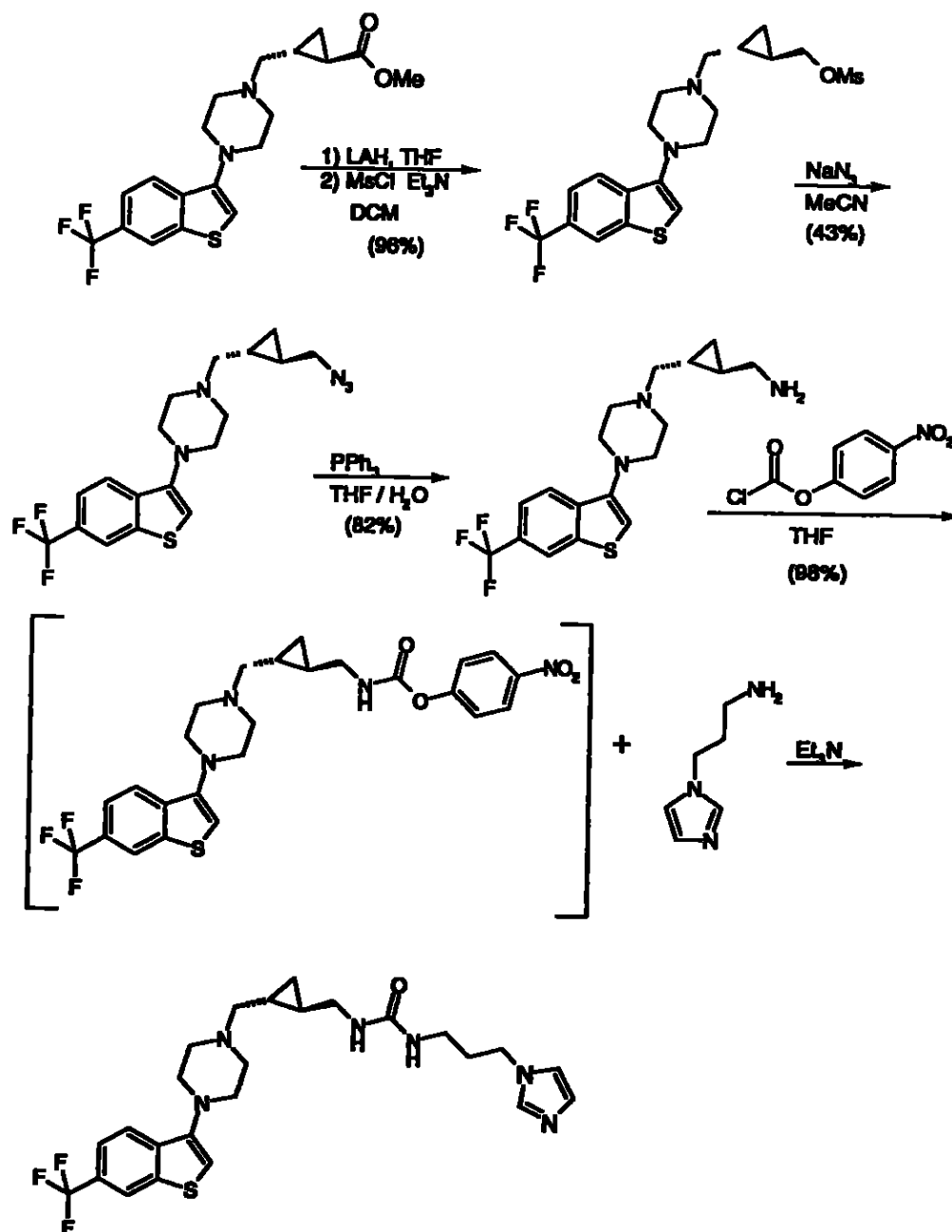
Ester terc-butílico de ácido 4-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il-piperazina-1-carboxílico Una mezcla de éster terc-butílico de ácido 4-[(3-bromo-tiofen-2-il)-hidroximino-metil]-piperazina-1-carboxílico (10.3 g, 26.4 mmol), cesio carbonato (10.7 g, 32.7 mmol), yoduro de cobre (500 mg) en metoxietanol (200 mL) se agitó a temperatura ambiente durante la noche. La mezcla de reacción se diluyó con etilo acetato y se lavó con agua. La solución acuosa se extrajo tres veces con etilo acetato. Las capas orgánicas combinadas (total 600 mL) se lavaron con solución salina, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se evaporaron. El residuo se purificó mediante cromatografía (120 g del gel de sílice, eluido con 0-8% metanol en diclorometano), produciendo 5.1 g (62%) del producto deseado en forma de aceite liviano.

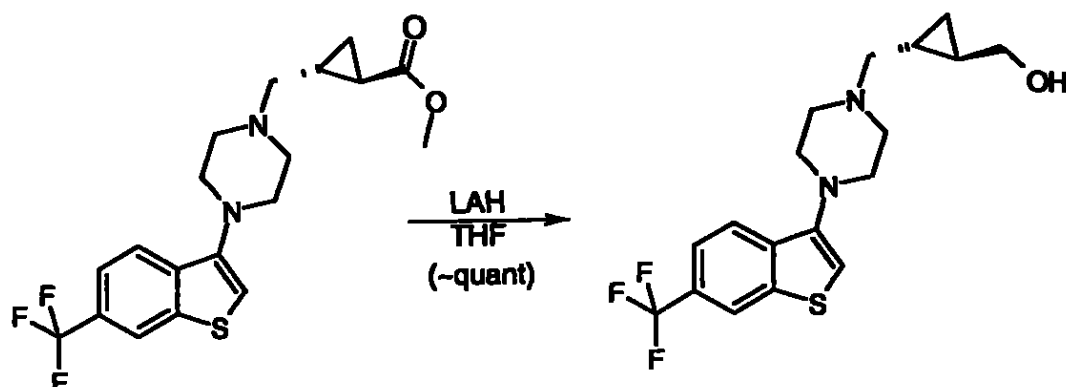


3-piperazin-1-il-tieno[2,3-d]isoxazol Ester terc-butílico de ácido 4-tieno[2,3-d]isoxazol-3-il-piperazina-1-carboxílico (5.0 g, 16.2 mmol) se agitó a temperatura ambiente en una solución de HCl (25 mL, 4N HCl en dioxano) durante 4 horas. Las materias volátiles se retiraron al vacío y el residuo se trituró con éter (dos veces) para producir 3.3 g de sólidos (84%) como la sal de hidrocloreuro deseada.

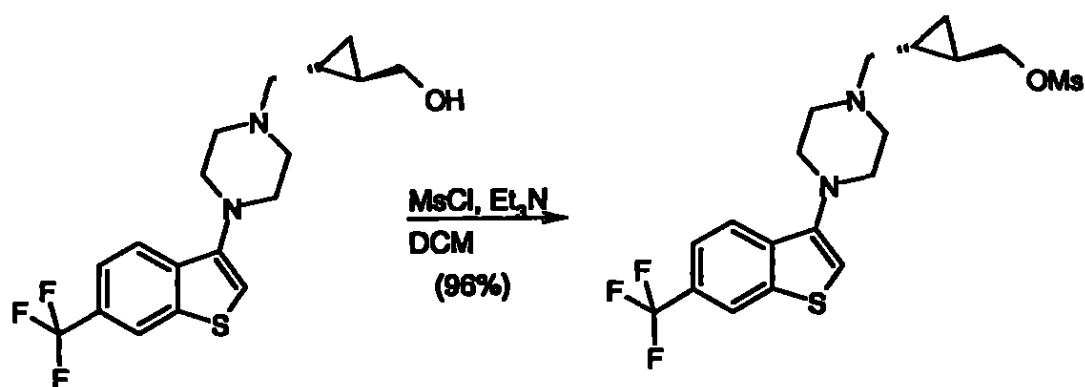
Ejemplo 29

Síntesis de 1-(3-imidazol-1-il-propil)-3-((1R, 2R)-2-[4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-ilmetil]ciclopropilmetil)-urea (MDL 833306)



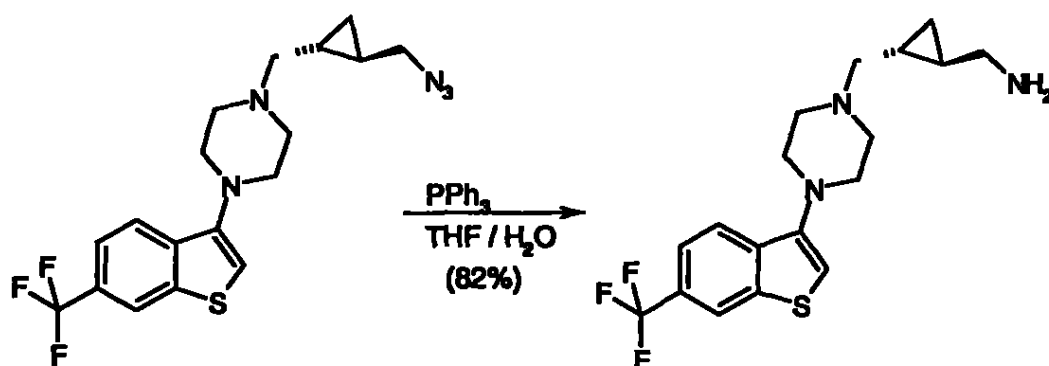


{{(1R, 2R)-2-[4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-ilmetil]-ciclopropil}-metanol A una solución de éster metílico de ácido 2R-[4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-ilmetil]-1R-ciclopropanocarboxílico (5.0 g, 12.5 mmol) en THF (75 mL) enfriado a 0°C se añadió hidrato de aluminio de litio (18.75 mL, 18.75 mmol, 1.0 M en THF) gota a gota. La mezcla resultante se agitó a 0°C durante 2 horas cuando se añadió en secuencia agua (1 mL), 2 N NaOH (1 mL) y agua (3 mL). La mezcla resultante se diluyó con DCM (90 mL) y se filtró a través de célita. Las sales de aluminio se lavaron cuidadosamente con DCM y el filtrado se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó produciendo 4.6 g del producto deseado.

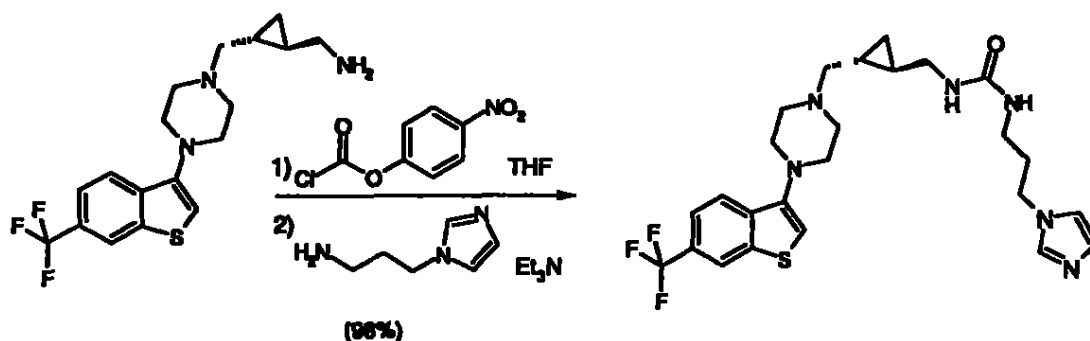


Ester de ácido metanosulfónico (1R, 2R)-2-[4(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-yl)-piperazina-1-ylmetil]-ciclopropilmetil A una solución de {(1R, 2R)-2-[4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-yl)-piperazina-1-ylmetil]-ciclopropil}-metanol (3 712 g, 10 03 mmol) en Et₃N (8 5 mL, 61 1 mmol) y CH₂Cl₂ anhidro (100mL) a 0°C bajo N₂ se añadió gota a gota CH₃SO₂Cl (930 uL, 12 02 mmol) Se continuó el agitado a 0°C durante 2 5 horas La reacción se enfrió con H₂O (20 mL) Una solución de K₂CO₃ (4 28 g, 31 01 mmol) en H₂O (60 mL) se añadió después La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos, después se extrajo con CH₂Cl₂, se lavó con solución salina, se secó sobre Na₂ SO₄ La filtración, concentración y secado produjeron el producto deseado (4 301 g, 96%)

1-[(1R,2R)-2-azidometil-ciclopropilmetil]-4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina Una mezcla de éster de ácido metanosulfónico (1R, 2R)-2-[4(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-ilmetil]-ciclopropilmetil (3 995 g, 8 92 mmol), NaN_3 (1 16 g, 17 85 mmol) y CH_3CN anhidro (60 mL) se agitó a 47°C bajo N_2 durante 4 horas, después se añadió una cantidad adicional de NaN_3 (580 mg, 8 92 mmol). Se continuó el agitado a 47°C por 4 horas adicionales. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se filtró a través de Celita 545, se lavó con CH_3CN . El filtrado combinado y los lavados se concentraron y después se separaron con prep LC (heptano/EtOAc—70/30, 60/40, 50/50, 40/60, 30/70, 20/80, 10% EtOAc) para producir el producto deseado (1 5 g, 43%).

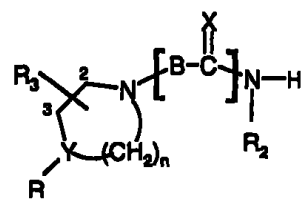


C-[(1R,2R)-2-[4(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-ilmetil]-ciclopropil]metilamina Una solución de 1-[(1R,2R)-2-azidometil-ciclopropilmetil]-4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina (1 495 g, 3 78 mmol), PPh_3 (3 97 g, 15 15 mmol) y H_2O (273 μL , 15 17 mmol) en THF (30 mL) se agitó a 40°C bajo N_2 durante 18 horas, después a 55°C durante 23 horas. Después de enfriar a temperatura ambiente, la mezcla se concentró, y después se cromatografió (100% EtOAc, después $\text{MeOH}/\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{Et}_3\text{N}$ —60/40/10) para proporcionar el producto deseado (1 14 g, 82%).



1-(3-imidazol-1-yl-propyl)-3-((1R,2R)-2-[4-(6-trifluoromethyl-benzo[b]thiophen-3-yl)-piperazin-1-ylmethyl]-cyclopropylmethyl)-urea (MDL 833306) Una solución de C-((1R,2R)-2-[4-(6-trifluoromethyl-benzo[b]thiophen-3-yl)-piperazin-1-ylmethyl]-cyclopropyl) metilamina (30 mg, 0.081 mmol) y 4-nitrofenil cloroformato (18 mg, 0.089 mmol) en THF anhidro (3 mL) se agitó a temperatura ambiente bajo N₂ durante 1 hora. Después se añadió Et₃N (113 µL, 0.81 mmol), seguido por 3-imidazol-1-yl-propilamina (39 µL, 0.33 mmol). Se continuó agitando a 35°C durante 2 horas. La mezcla de la reacción se filtró. El filtrado se concentró, después se separó mediante prep LC (MeOH/CH₂Cl₂—5:95, 10:90, 15:85, 20:80, 25:75, 30:70) para producir el compuesto objetivo (41 mg, 98%).

TABLA III



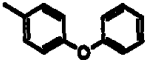
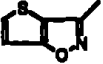
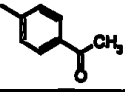
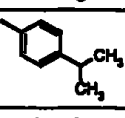
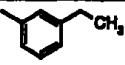
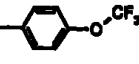
COMPUESTO NÚMERO	R	n		R ₂	R ₃	Y	d3K ₁
815383		2			H	CH	190
815384		2			H	CH	9
815385		2			H	CH	4
815386		2			H	CH	18
815387		2			H	CH	28
815388		2			H	CH	12

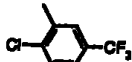
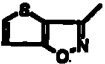
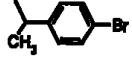
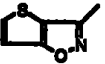
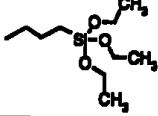
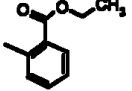
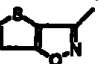
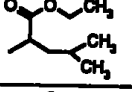
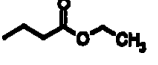
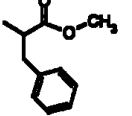
A 4018

147

1

152

815389		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	30
815390		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	52
815391		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	16
815392		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	24
815393		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	37
815394		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	13
815395		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	110
815934		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	419
815935		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	538

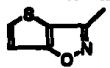
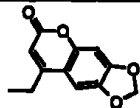
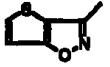
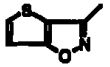
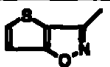
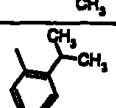
815936		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	3 91
815937		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	66 3
815938		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	153
815939		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	19 1
815940		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	140
815941		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	128
815942		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	41 7
815943		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	198
815944		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	297

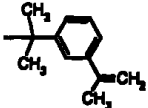
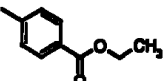
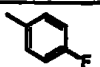
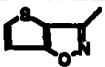
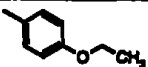
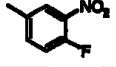
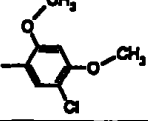
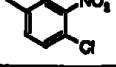
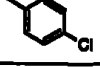
A 4016

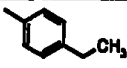
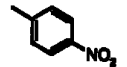
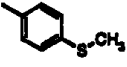
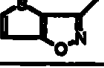
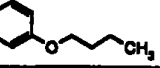
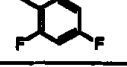
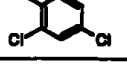
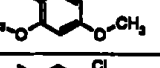
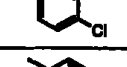
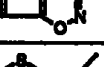
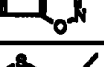
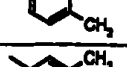
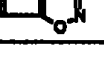
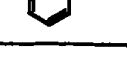
149

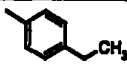
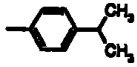
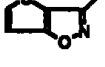
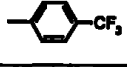
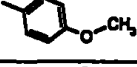
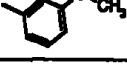
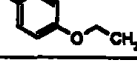
1 -

254

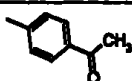
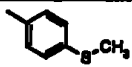
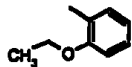
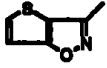
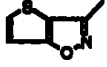
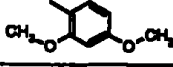
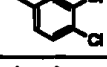
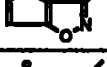
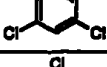
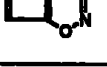
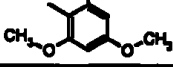
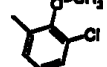
815945		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	116
815946		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$	$-(CH_2)_7CH_3$	H	CH	28 3
815947		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	26
815948		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	6 04
815949		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	13 6
815950		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	4 59
815951		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	2 23
815952		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	27

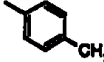
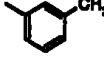
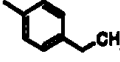
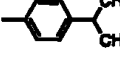
815953		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	67 9
815954		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	14 9
81595		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	23 5
81595		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	5 24
816210		2	$-(CH_2)_3NH-C(=O)-$		H	CH	187
816557		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	20 7
816558		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	33 3
816559		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	13 1
816560		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	10 9

816561		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	24 2
816562		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	6 99
816563		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	21 5
816564		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	55 9
816565		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	55 5
816566		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	95 1
816567		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	73 8
816568		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	11 2
816748		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	97 2
816749		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	115
816750		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	92 7

816751		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	131
816752		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	157
816753		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	115
816754		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	108
816755		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	80 8
816756		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	96 1
816757		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	92 6
816758		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	116
816759		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	107
816760		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	121
816761		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	82 9

111
157

816762		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	57 1
816763		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	78 9
816764		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	85 4
816765		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	104
816766		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	42 9
816767		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	60 1
816768		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	23 4
816769		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	57 8
816770		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	28 2
816771		2	$-(CH_2)_5NH-C(=O)-$		H	CH	74 1

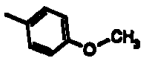
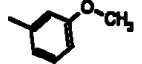
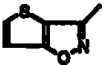
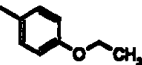
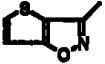
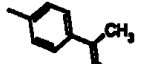
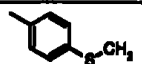
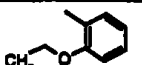
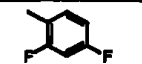
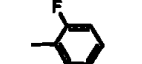
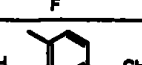
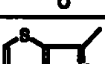
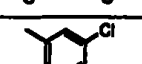
816860		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	11 8
816861		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	14 8
816862		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	19
816863		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	20
816864		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	21 5
816865		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	11 9
816866		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	8 25
816867		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	7 38
816868		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	58 6
816869		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	23 5
816870		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	17 6

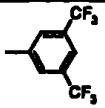
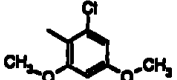
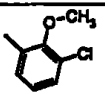
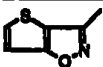
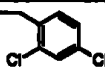
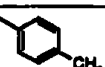
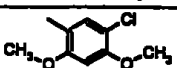
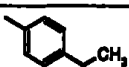
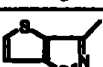
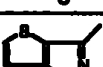
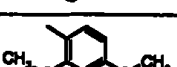
A 4016

165

-12-

168

816871		2	$-(CH_2)_8NH-C(=O)-$		H	CH	17 3
816872		2	$-(CH_2)_8NH-C(=O)-$		H	CH	19
816873		2	$-(CH_2)_8NH-C(=O)-$		H	CH	22
816874		2	$-(CH_2)_8NH-C(=O)-$		H	CH	6 84
816875		2	$-(CH_2)_8NH-C(=O)-$		H	CH	35 4
816876		2	$-(CH_2)_8NH-C(=O)-$		H	CH	46 9
816877		2	$-(CH_2)_8NH-C(=O)-$		H	CH	19 1
816878		2	$-(CH_2)_8NH-C(=O)-$		H	CH	33 8
816879		2	$-(CH_2)_8NH-C(=O)-$		H	CH	47
816880		2	$-(CH_2)_8NH-C(=O)-$		H	CH	14 7

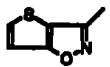
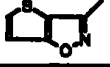
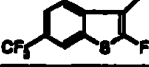
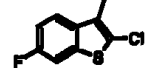
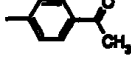
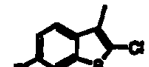
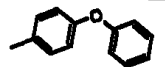
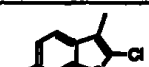
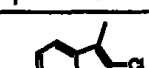
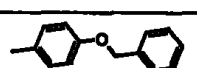
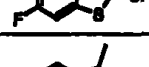
816881		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	23 8
816882		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	58 6
816883		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	35 5
816968		2	$-(CH_2)_6NH-C(=O)-$		H	CH	24 2
817075		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	CH	12 7
818280		2	$-(CH_2)_3NH-C(=O)-$		H	CH	217
818283		2	$-(CH_2)_3NH-C(=O)-$		H	CH	131
818308		2	$-(CH_2)_3NH-C(=O)-$		H	CH	351
818309		2	$-(CH_2)_3NH-C(=O)-$		H	CH	390
818310		2	$-(CH_2)_3NH-C(=O)-$		H	CH	133

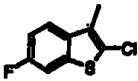
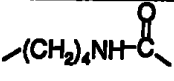
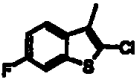
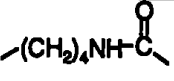
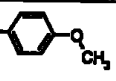
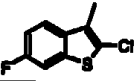
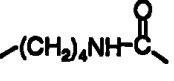
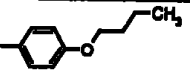
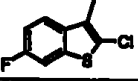
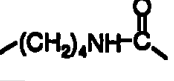
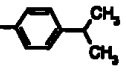
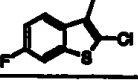
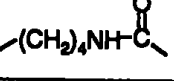
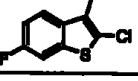
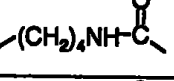
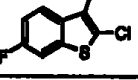
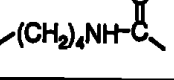
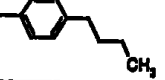
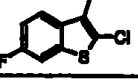
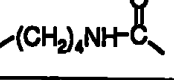
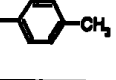
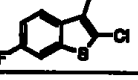
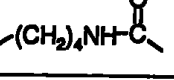
A 4016

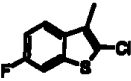
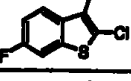
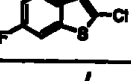
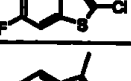
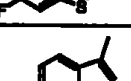
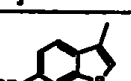
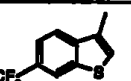
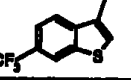
157

-11-

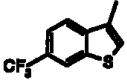
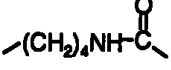
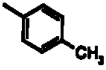
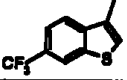
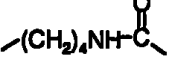
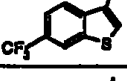
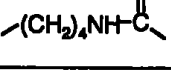
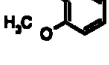
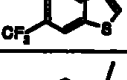
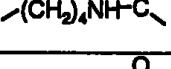
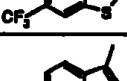
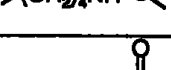
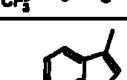
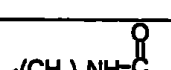
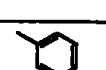
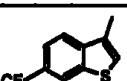
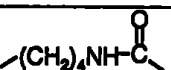
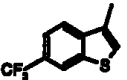
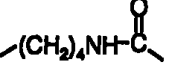
167

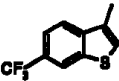
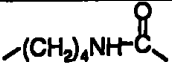
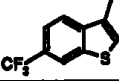
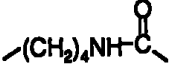
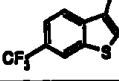
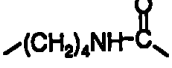
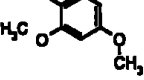
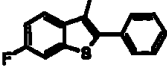
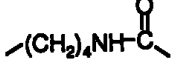
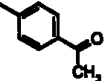
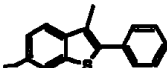
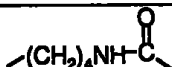
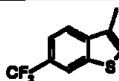
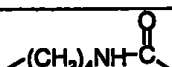
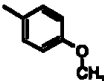
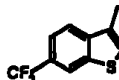
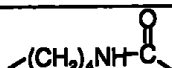
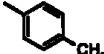
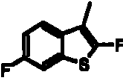
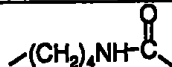
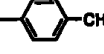
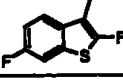
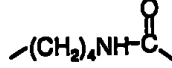
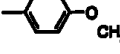
818316		2	$-(CH_2)_3NH-C(=O)-$		H	CH	426
818318		2	$-(CH_2)_3NH-C(=O)-$		H	CH	384
818426		2	$-(CH_2)_3NH-C(=O)-$		H	CH	158
817510		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	0 665
815158		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	7 4
815159		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	85 4
815160		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	192
815161		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	75 9
815162		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	38
815163		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	25 2

815164		2			H	N	319
815165		2			H	N	214
815166		2			H	N	37
815167		2			H	N	48
815168		2			H	N	334
815169		2			H	N	112
815170		2			H	N	177
815171		2			H	N	38
815172		2			H	N	56

815173		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	46.5
815174		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	6
815175		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	11.8
815176		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	17.1
815177		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	18
815993		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	2.26
815994		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	8.87
815995		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	17.5
815996		2	$-(CH_2)_4NH-C(=O)-$		H	N	5.85

155

815997		2			H	N	45
815998		2			H	N	225
815999		2			H	N	19
816000		2			H	N	631
816001		2			H	N	468
816002		2			H	N	125
816003		2			H	N	158
816004		2			H	N	611
816005		2			H	N	254

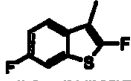
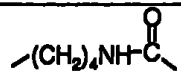
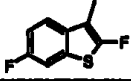
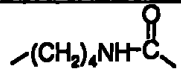
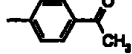
816006		2			H	N	7 42
816007		2			H	N	17 5
816008		2			H	N	17
816226		2			H	N	184
816232		2			H	N	651
815994A HCl Sal		2			H	N	5 94
815997A HCl Sal		2			H	N	4 08
817510		2			H	N	0 665
817511		2			H	N	1

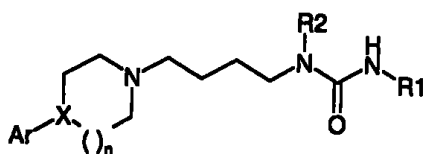
A 4016

161

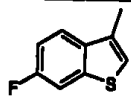
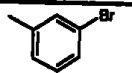
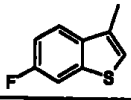
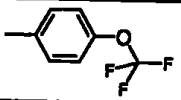
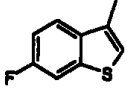
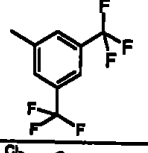
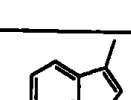
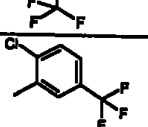
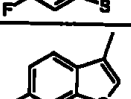
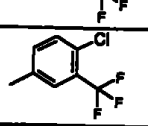
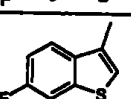
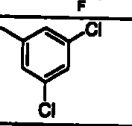
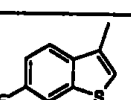
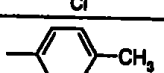
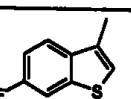
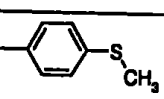
1

166

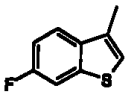
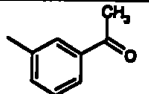
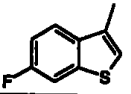
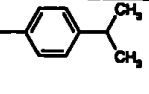
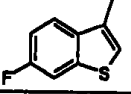
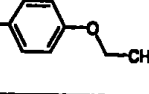
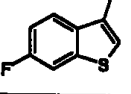
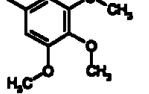
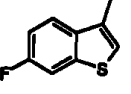
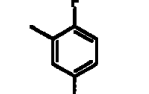
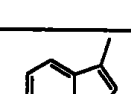
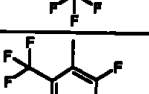
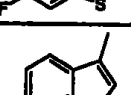
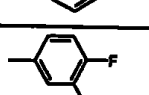
817512		2			H	N	1 09
817513		2			H	N	0 546



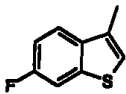
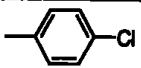
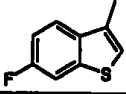
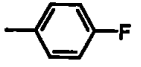
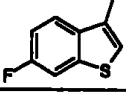
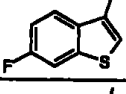
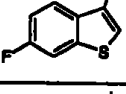
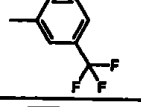
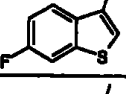
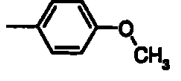
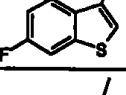
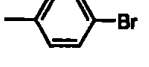
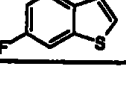
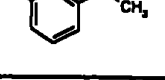
MDL #	D3 IG (nM)	n	X	Ar	R1	R2
833724	21	1	N			H
833725	0.602	1	N			H
829191	43	2	N			H
829192	4.03	2	N			H
829193	7.86	2	N			H
829195	21.1	2	N			H

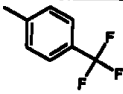
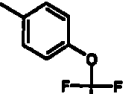
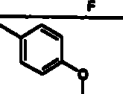
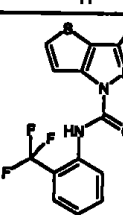
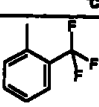
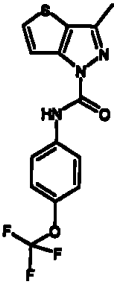
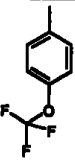
829196	10 9	2	N			H
829197	34 8	2	N			H
829198	65 8	2	N			H
829199	6 51	2	N			H
829200	47.8	2	N			H
829202	18 6	2	N			H
829203	5.64	2	N			H
829204	5	2	N			H

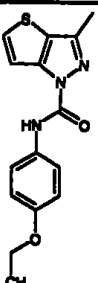
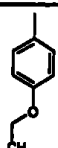
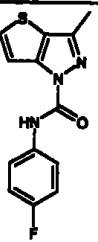
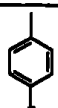
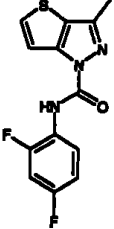
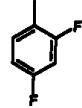
148

829206	25	2	N			H
829207	141	2	N			H
829208	0 0836	2	N			H
829210	1 99	2	N			H
829211	16	2	N			H
829212	49 9	2	N			H
829213	181	2	N			H

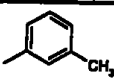
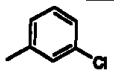
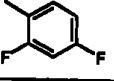
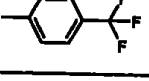
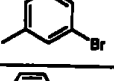
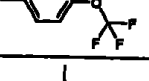
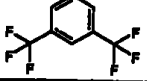
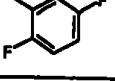
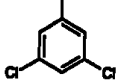
137

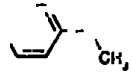
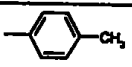
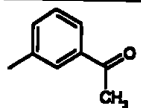
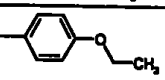
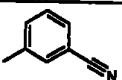
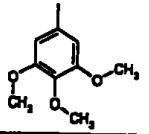
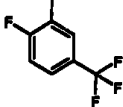
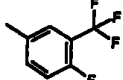
829214	14 1	2	N			H
829215	6 59	2	N			H
829216	0 178	2	N			H
829217	3 51	2	N			H
829218	0 165	2	N			H
829219	0 0928	2	N			H
829220	18 1	2	N			H
829221	0 0961	2	N			H

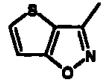
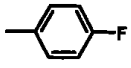
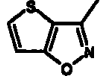
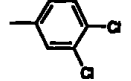
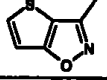
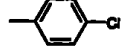
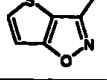
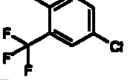
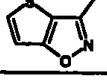
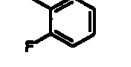
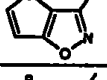
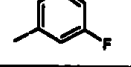
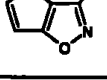
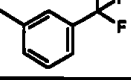
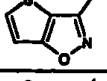
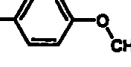
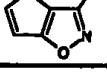
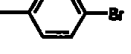
825154	355	1	N			H
825155	848	1	N			H
825156	632	1	N			H
825160	202	1	N			H
825167	374	1	N			H

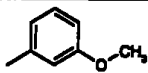
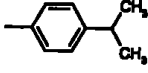
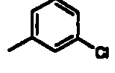
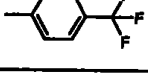
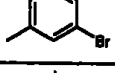
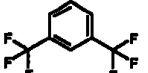
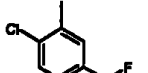
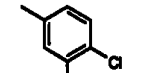
825168	47 4	1	N			H
825170	136	1	N			H
825171	496	1	N			H

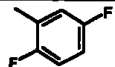
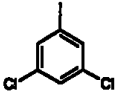
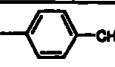
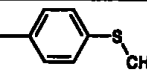
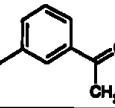
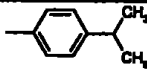
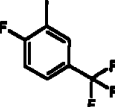
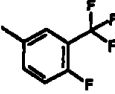
174

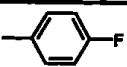
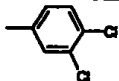
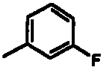
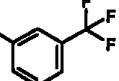
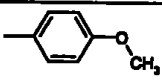
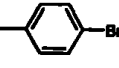
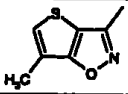
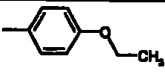
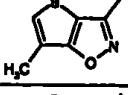
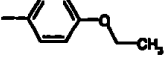
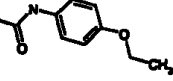
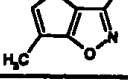
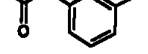
829369	44.2	1	N			H
829370	49.1	1	N			H
829371	55.2	1	N			H
829372	31.9	1	N			H
829373	14.9	1	N			H
829374	103	1	N			H
829375	178	1	N			H
829377	87.9	1	N			H
829378	184	1	N			H

			N			
829380	26 9	1	N			H
829381	46 5	1	N			H
829382	42 7	1	N			H
829383	102	1	N			H
829384	190	1	N			H
829385	142	1	N			H
829387	114	1	N			H

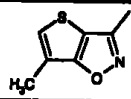
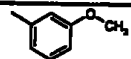
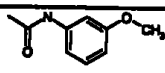
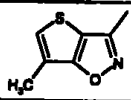
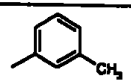
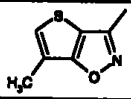
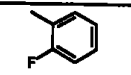
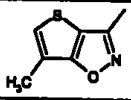
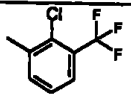
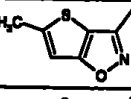
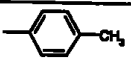
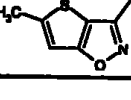
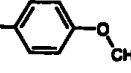
829388	44	1	N			H
829389	50 5	1	N			H
829390	37 5	1	N			H
829392	487	1	N			H
829393	190	1	N			H
829394	77 1	1	N			H
829395	148	1	N			H
829396	121	1	N			H
829397	86 6	1	N			H

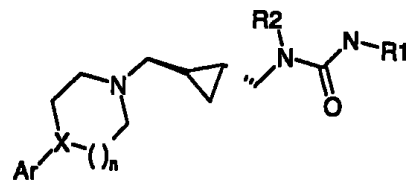
829398	441	1	N			H
829407	452	1	N			H
829409	379	2	N			H
829411	670	2	N			H
829412	142	2	N			H
829414	548	2	N			H
829415	345	2	N			H
829418	327	2	N			H

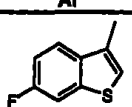
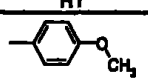
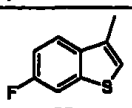
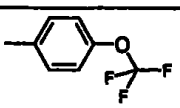
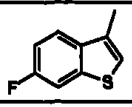
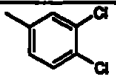
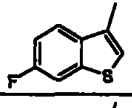
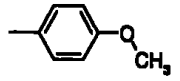
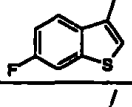
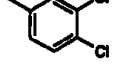
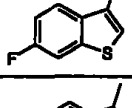
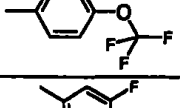
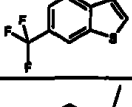
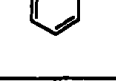
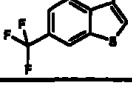
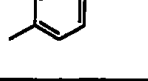
829417	338	2	N			H
829418	529	2	N			H
829419	138	2	N			H
829420	233	2	N			H
829421	173	2	N			H
829422	486	2	N			H
829425	539	2	N			H
829427	459	2	N			H

829428	747	2	N			H
829429	111	2	N			H
829431	153	2	N			H
829432	226	2	N			H
829433	216	2	N			H
829434	197	2	N			H
829873	277	1	CH			H
829874	360	1	CH			
829875	947	1	CH			

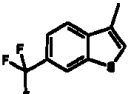
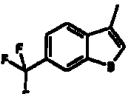
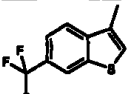
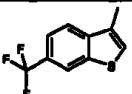
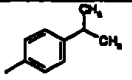
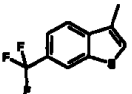
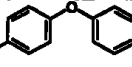
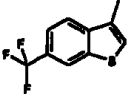
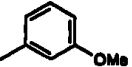
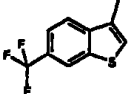
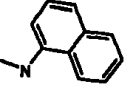
168

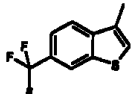
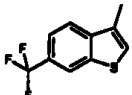
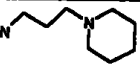
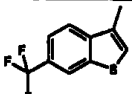
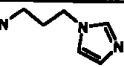
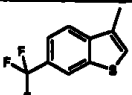
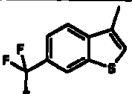
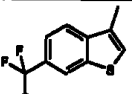
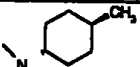
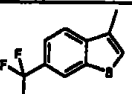
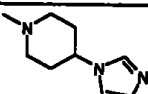
829878	77 1	1	CH			
829878	8 78	1	CH			H
829879	354	1	CH			H
829882	143	1	CH			H
830517	9 04	1	CH			H
830518	9 18	1	CH			H

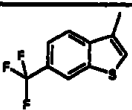
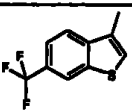
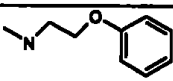
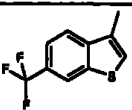
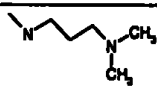
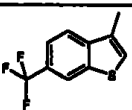
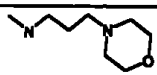
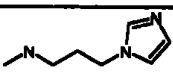
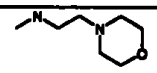
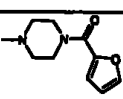


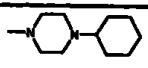
MDL#	D3 KI (nM)	Chirality	n	X	Ar	R1	R2
830389	2 97	Racemico	2	N			-CH ₂ CH=CH ₂
830400	41 3	Racemico	2	N			Bn
830401	29 7	Racemico	2	N			Bn
830408	3.43	Racemico	2	N			H
830409	47 4	Racemico	2	N			H
830410	137	Racemico	2	N			H
832788	61 56	R,R	1	N			H
832810	33 5	R,R	1	N			H

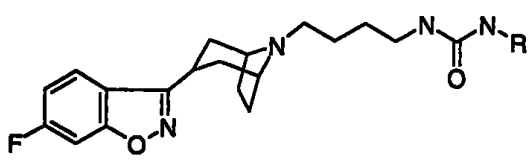
182

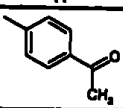
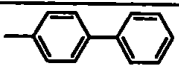
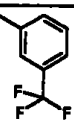
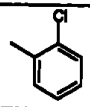
832811	18.2	R,R	1	N			H
832812	39.5	R,R	1	N			H
832813	50.84	R,R	1	N			H
832819	45.24	R,R	1	N			H
832820	3.9	R,R	1	N			H
833203	18.19	R,R	1	N			H
833209	21.95	R,R	1	N			H

833221	25.2	R,R	1	N			H
833258	0.39	R,R	1	N			H
833306	0.238	R,R	1	N			H
833331	18.1	R,R	1	N			H
833332	17.5	R,R	1	N			H
833356	29.1	R,R	1	N			H
833357	2.95	R,R	1	N			H

833498	3 32	R,R	1	N			H
833499	34.43	R,R	1	N			H
833618	0 88	R,R	1	N			H
833713	8 12	R,R	1	N			H
831498	43 6	Racemic	1	CH		t-Bu	H
831499	66 5	Racemic	1	CH			H
831669	172	Racemic	1	CH			H
831670	159	Racemic	1	CH		NH (CH ₂) ₂ -Ph	H
831672	153	Racemic	1	CH			H

831700	41 5	Racemico	1	CH			H
--------	------	----------	---	----	---	--	---



MDL #	D3 KI (nM)	R
817228	179	
817229	365	
817230	182	
817231	433	
817233	146	

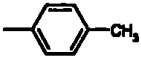
A 4016

679

-116-

125

476

817234	258	
--------	-----	---

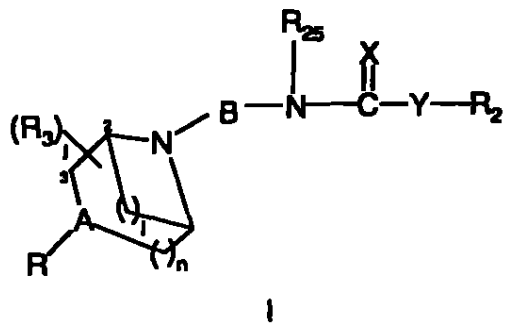
A 4016

188

- 1 -

~~188~~

Un compuesto de la fórmula (I)



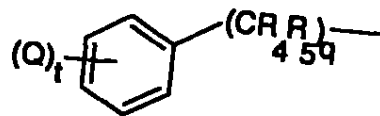
en donde

A es CH o N,

Y es O ó NR₁

en donde R₁ es

- a) hidrógeno,
- b) C₁-C₆alquilo, ó
- c)



en donde

cada Q es independientemente hidrógeno, C₁-C₆alquilo, halógeno ó trifluorometil,

cada R₄ y R₅ es independientemente hidrógeno ó C₁-C₆alquilo,

t es 0 ó 1, y

q es 0 ó 1,

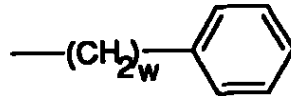
j es 0, 1 ó 2,

n es 1 ó 2,

cuando n es 1, i es 0 ó 2,

cuando n es 2, i es 0,

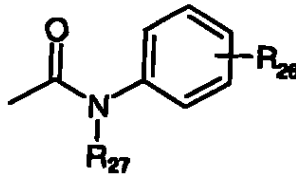
R₃ es hidrógeno, C₁-C₆alquilo ó



en donde w es 1, 2 ó 3,

X es O ó S,

R₂₅ es hidrógeno ó

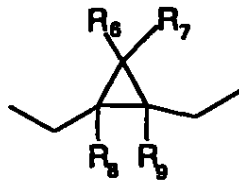


en donde R₂₇ es hidrógeno ó C₁-C₆alquilo y R₂₈ es hidrógeno, C₁-C₆alcoxi, halógeno ó C₁-C₆alquilo que es saturado o no saturado,

-B- es un grupo seleccionado de (a) – (e)

(a) $-(CR_{21}R_{22})_m-$

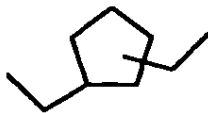
(b)



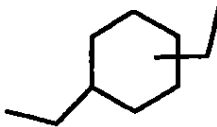
(c)



(d)



(e)'



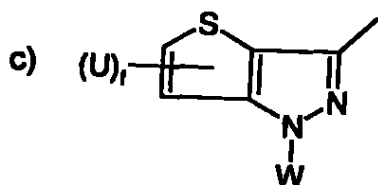
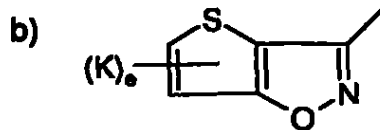
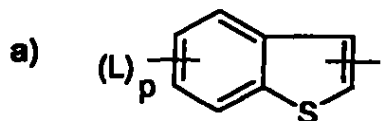
en donde

m es 3, 4, 5, ó 6,

cada R_{21} y R_{22} es independientemente hidrógeno, C_1 - C_6 alquilo ó $-(CH_2)_aOH$ en donde a es 0, 1 ó 2,

R_6 , R_7 , R_8 y R_9 son cada uno independientemente hidrógeno, halógeno ó C_1 - C_3 alquilo con la condición de que cuando R_8 es C_1 - C_3 alquilo, R_9 no es C_1 - C_3 alquilo,

R es un grupo seleccionado de (a) – (c)



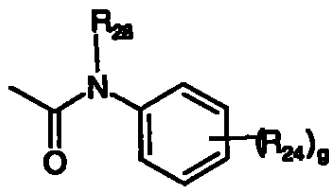
en donde

cada L es independientemente hidrógeno, C_1 - C_6 alquilo, halógeno, o trifluorometil,

cada U es independientemente hidrógeno, C_1 - C_6 alquilo, CHO, halógeno $-(CH_2)_bOH$, ó $-(CH_2)_bOC_1$ - C_6 alquilo en donde b es 1 ó 2,

cada K es independientemente hidrógeno, cada U es independientemente hidrógeno, C_1 - C_6 alquilo, CHO, halógeno, $-(CH_2)_bOH$, ó $-(CH_2)_bOC_1$ - C_6 alquilo en donde b es como se definió anteriormente,

W es hidrógeno ó



en donde R_{23} es hidrógeno ó C_1 - C_6 alquilo,

cada R_{24} es independientemente trifluorometil,

trifluorometoxi, C_1 - C_6 alquilo o halógeno, y g es 0,

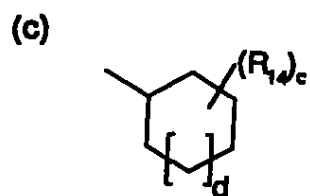
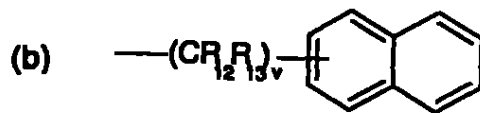
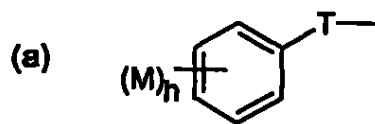
1 ó 2,

p es 0, 1 ó 2,

e es 0, 1 ó 2,

f es 0, 1, ó 2,

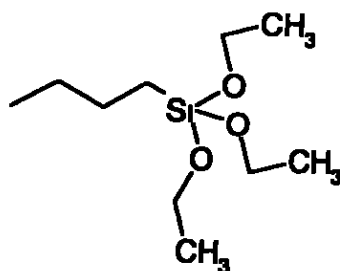
R_2 es un grupo seleccionado de (a) – (t)



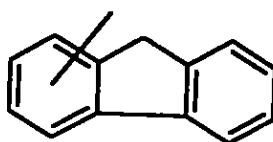
(d)



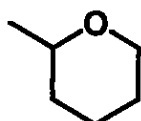
(e)

(f) C_1-C_{12} alquilo(g) $-(CR_{15}R_{16})_8-CO_2C_1-C_6$ alquilo

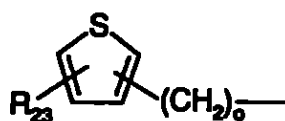
(h)



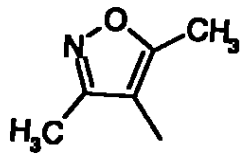
(i)



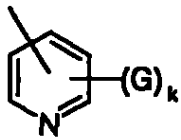
(j)



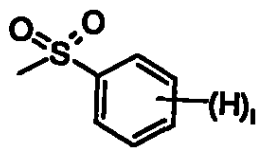
(k)

(l) $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{SO}_2\text{CH}_3$ (m) $-(\text{CR}_{17}\text{R}_{18})_r \text{OC}_1\text{-C}_2\text{alquilo}$ (n) $-(\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OPh}$ (o) $-(\text{CR}_{19}\text{R}_{20})_q\text{CZ}_3$ (p) $-\text{CO}_2\text{Ph}$ (q) $-\text{COCV}_3$

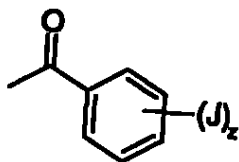
(r)



(s)



(t)



en donde

-T- se selecciona de (i) ó (ii)

(i) $-(CR_{10}R_{11})_u$

en donde

u es 0, 1 ó 2, y

cada R_{10} y R_{11} es independientemente
hidrógeno o C_1-C_6 alquilo,

(ii)



cada M, G, H y J es independientemente
seleccionado de

(1) hidrógeno,

(2) halógeno,

(3) C_1-C_6 alquilo,

(4) C_1-C_6 alcoxi,

(5) fenoxi,

(6) fenil,

(7) trifluorometil,

(8) trifluorometoxi,

(9) $-CO_2-R_{19}$ en donde R_{19} es hidrógeno o
 C_1-C_6 alquilo,

(10) COC_1-C_6 alquilo,

(11) hidroxi,

(12) $-(CH_2)-OR_{20}$ en donde R_{20} es
hidrógeno o C_1-C_6 alquilo,

(13) $-C(CH_2)CH_3$,

(14) $-NO_2$,

(15) $-\text{SCH}_3$,

(16) benziloxi, y

(17) $-\text{CN}$,

cada R_{12} y R_{13} es independientemente hidrógeno o

$\text{C}_1\text{-C}_8$ alquilo,

v es 0 ó 1,

R_{14} es hidrógeno ó $\text{C}_1\text{-C}_8$ alquilo,

c es 0, 1 ó 2,

d es 0 ó 1,

cada R_{15} y R_{16} es independientemente hidrógeno ó

$\text{C}_1\text{-C}_8$ alquilo,

s es 0, 1, 2, 3, 4 ó 5,

o es 1 ó 2,

Cada R_{17} y R_{18} es independientemente hidrógeno,

$\text{C}_1\text{-C}_8$ alquilo ó $\text{CO}_2\text{C}_1\text{-C}_2$ alquilo,

r es 2 ó 3,

cada R_{19} y R_{20} es independientemente hidrógeno ó

$\text{C}_1\text{-C}_2$ alquilo,

R_{23} es hidrógeno ó $\text{C}_1\text{-C}_4$ alquilo,

Z es cloruro o fluoruro,

q es 0 ó 1,

V es cloruro o fluoruro, y

h, k, l, y z son 0, 1, 2, ó 3

2 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde X es O, Y es NH y $-\text{B}-$ es el grupo (a)

3 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 en donde R_2 es el grupo (a)

- 4 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 3 en donde m es 4, M es hidrógeno, C₁-C₆alquilo, C₁-C₆alcoxi, ó fenil y T es (i) en donde u es 0 ó 1
- 5 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2 en donde R₂ es el grupo (c)
- 6 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 5 en donde m es 4, d es 1 y R₁₄ es C₁-C₆alquilo
- 7 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde X es O, Y es NH y -B- es el grupo (b)
- 8 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 6 en donde R₂ es el grupo (a)
- 9 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 7 en donde R₆, R₇, R₈ ó R₉ son hidrógeno, M es hidrógeno, C₁-C₆alquilo, C₁-C₆alcoxi, ó fenil, y T es 0 ó 1
- 10 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 6 en donde R₂ es el grupo (c)
- 11 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 9 en donde R₆, R₇, R₈ ó R₉ son hidrógeno, d es 1, y R₁₄ es C₁-C₆alquilo
- 12 El compuesto de la reivindicación 1 que es 1-(metoxi-fenil)-3-{4[4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-il]-butil]urea
- 13 El compuesto de la reivindicación 1 que es 1-p-tolil-3-{4[4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-il]-butil]urea

14 El compuesto de la reivindicación 1 que es 1-{4[4-(2,6-difluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-il]-butil}-3-p-tolil-urea

15 El compuesto de la reivindicación 1 que es 1-{4[4-(2-cloro-6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-il]-butil}-3(4-cloro-fenil)-urea.

16 El compuesto de la reivindicación 1 que es 1-(4-acetil-fenil)-3-{4-(4-tienol[2,3-d]isoxazol-3-il)-piperidin-1-il}-butil}-urea

17 El compuesto de la reivindicación 1 que es 1-(4-etoxi-fenil)-3-{4-(4-tienol[2,3-d]isoxazol-3-il)-piperidin-1-il}-butil}-urea

18 El compuesto de la reivindicación 1 que es 1-(4-etoxi-fenil)-3-{4-[4-(6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-[1,4]diazepan-1-il]-butil}-urea

19 El compuesto de la reivindicación 1 que es 1-{4-[4-(6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-[1,4]diazepan-1-il]-butil}-3-(2-fluoro-fenil)-urea

20 El compuesto de la reivindicación 1 que es 1-{4-[4-(6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-[1,4]diazepan-1-il]-butil}-3-(3-trifluorometil-fenil)-urea

21 El compuesto de la reivindicación 1 que es 1-{4-[4-(6-fluoro-benzo[b]tiofen-3-il)-[1,4]diazepan-1-il]-butil}-3-(4-metoxi-fenil)-urea

22 El compuesto de la reivindicación 1 que es 1-(3-imidazol-1-il-propil)-3-((1R,2R)-2-[4-(6-trifluorometil-benzo[b]tiofen-3-il)-piperazina-1-ilmetil]-cicloropropilmetil)-urea

23 Un método para modular la actividad de los receptores D₃ de dopamina, método que comprende contactar los receptores de dopamina D₃ asociados con células con una concentración de un compuesto de la reivindicación 1

24 Un método para tratar condiciones o trastornos del sistema nervioso central que comprende administrar a un paciente que lo necesita una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1

25 El método de la reivindicación 23, en donde el trastorno del sistema nervioso central se selecciona entre los Trastornos Sicóticos, Dependencia de Sustancias, Abuso de Sustancias, Desórdenes Disquinéticos, Demencia, Trastornos de Ansiedad, Trastornos del sueño, Trastornos del Ritmo Circadiano, Trastornos del Estado de Animo y Náusea

26 El método de la reivindicación 24 en donde el Trastorno Sicótico es la Esquizofrenia

27 El método de la reivindicación 24 en donde el compuesto de la reivindicación 1 se administra junto con uno o más antagonistas de receptores D₁, D₂, D₄, D₅, de dopamina o 5HT

28 Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 con un vehículo o diluyente farmacéuticamente aceptable

29 Una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la reivindicación 1 con un vehículo o diluyente aceptable farmacéuticamente junto con uno o más antagonistas de receptores D₁, D₂, D₄, D₅, de dopamina o 5HT

30 Una composición farmacéutica base, que comprende un vehículo farmacéuticamente aceptable y una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la reivindicación 1, en donde el compuesto contiene un grupo hidroxil acilado, o un grupo amino acilado

31 La composición farmacéutica base de la reivindicación 29, en donde el grupo hidroxil es acilado, o el grupo amino es acilado con el grupo (C₄-C₁₈)alcanil o un grupo (C₄-C₁₈)alcoxycarbonil

32 La composición de la reivindicación 29 que contiene un aceite farmacéuticamente aceptable

33 La composición de la reivindicación 31 en donde el aceite se selecciona del grupo que consiste en aceite de coco, aceite de mani, aceite de ajonjolí, aceite de semillas de algodón, aceite de maíz, aceite de soya, aceite de oliva, y ésteres sintéticos de ácidos grasos y alcoholes polifuncionales

34 Un método para proporcionar un efecto antiséptico de larga acción, que comprende inyectar en un mamífero una cantidad de la composición de la reivindicación 29 suficiente para producir un efecto antiséptico de larga acción

35 Un método para proporcionar un efecto antiséptico de larga acción, que comprende inyectar en un mamífero una cantidad de la composición de la reivindicación 30 suficiente para producir un efecto antiséptico de larga acción

36 Un método para proporcionar un efecto antiséptico de larga acción, que comprende inyectar en un mamífero una cantidad de la composición de la reivindicación 31 suficiente para producir un efecto antiséptico de larga acción

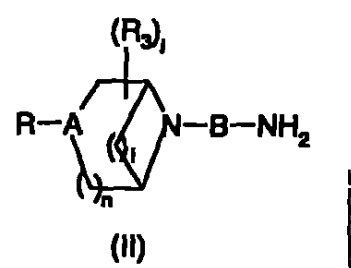
37 Un compuesto de la reivindicación 1 en donde uno o más de los átomos contenidos en él es un radionucleido

38 Un compuesto de la reivindicación 1 en donde R es el grupo (a) con un radioetiquetado ^{14}C en la 3ª posición del anillo benzo[b]trófeno, L es trifluorometil, p es , R_3 es hidrógeno, n es 1, i es 0, y A es N

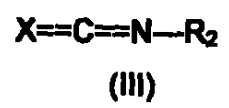
39 Un método de diagnóstico para monitorear las funciones neurales en un mamífero que comprende introducir en un mamífero un compuesto radioetiquetado de acuerdo con la reivindicación 36

40 Un método de la reivindicación 38 en donde dicho método de diagnóstico se realiza usando tomografía computarizada de emisión individual de positrones (SPECT) o tomografía de emisión de positrones (PET)

41 Un proceso para preparar un compuesto de la reivindicación 1 en donde Y es N que comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (II)

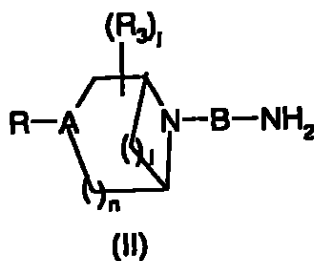


en donde R, R_3 , j, n, i, B y A se definen como se definen en la fórmula I de la reivindicación 1 con un compuesto de la la fórmula (III)

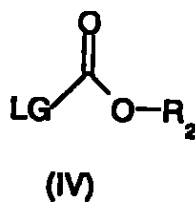


en donde X y R_2 son como se definen en la fórmula 1 de la reivindicación 1

42 Un proceso para preparar un compuesto de la fórmula I en donde Y es O que comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (II)

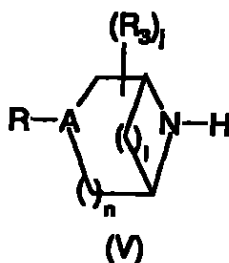


en donde R, R₃, j, n, i, B y A se definen como se definen en la fórmula I de la reivindicación 1 con un compuesto de la fórmula (IV)

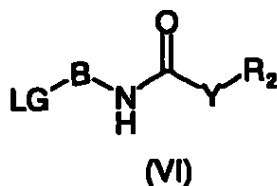


en donde "LG" es un grupo de residuos adecuado seleccionado de bromo, cloro o yodo y R₂ se define como se define en la fórmula I de la reivindicación 1

43 Un proceso para preparar compuestos e la fórmula I que comprende hacer reaccionar un compuesto de la fórmula (V)



en donde en donde R_3 , j, R, A, i y n se definen como se definen en la fórmula I de la reivindicación 1 con un compuesto de la fórmula (VI)



en donde "LG" es un grupo de residuos adecuado seleccionado de cloro, bromo, yodo o mesil y B, Y y R_2 se definen en la fórmula I de la reivindicación 1

- 44 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde R es el grupo (a)
- 45 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde R es el grupo (b)
- 46 Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1 en donde R es el grupo (c)
- 47 Un método para tratar la disfunción renal que comprende administrar a un paciente que lo necesite una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto de la reivindicación 1



493

Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

2° EXAMEN DE FORMA, PATENTE DE INVENCION

Radicación N° **02-13030**

Folio ~~518~~

Concepto Técnico N° **234**

Clasificación Internacional de Patentes **A61K 31/16**

Practicado el examen de acuerdo a lo establecido en el Art 38 de la Decisión 486, se determinó que esta solicitud de **Patente**

- SI [☒] NO [] Contiene un resumen de la invención (Art 26-e)
- SI [☒] NO [] Contiene el título o nombre de la invención (Art 27-d)
- SI [☒] NO [] Contiene la descripción de la invención (Art 26-b)
- SI [☒] NO [] NO ES APLICABLE [] Contiene los dibujos necesarios para comprender la invención (Art 26-d)
- SI [☒] NO [] Contiene una o más reivindicaciones (Art 26-c)
- SI [] NO [] NO ES APLICABLE [☒] Han sido desarrollados los productos a partir de recursos genéticos o de sus productos derivados de los que cualquiera de los Países Miembros es país de origen (Art 26-h)
- SI [] NO [] NO ES APLICABLE [☒] Los productos y o procedimientos han sido obtenidos o desarrollados a partir a partir de los conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas, afro americanas, o locales de los Países Miembros, de acuerdo a lo establecido en la Decisión 391 y sus modificaciones y reglamentaciones vigentes (Art 26-i)
- SI [] NO [☒] La invención se refiere a un producto relativo a un material biológico (Art 26-j)
- SI [☒] NO [] NO ES APLICABLE [] La prioridad coincide con la materia reivindicada
- SI [☒] NO [] **CUMPLE LOS REQUISITOS TÉCNICOS**

OBSERVACIONES Y OTROS SI [] NO [] Ver hoja(s) anexa(s)

- Nuevo capítulo descriptivo, folios 321 - 500
- Nuevo capítulo reivindicativo, folios 501 - 516

EXAMINADOR TÉCNICO 202051

Bogotá D C, febrero 13 de 2004

2020
Bogotá D C

Doctor(a)
GUSTAVO HOLLMANN RESTREPO
Apoderado(a)

REFERENCIA	Radicación N°	02-13030
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	416
	Oficio N°	256
	Folios	001

Teniendo en cuenta que la solicitud de privilegio de patente que se tramita bajo el expediente indicado en la referencia, reúne los requisitos de forma establecidos en los artículos 26 y 27 de la Decisión 486, de la Comisión de la Comunidad Andina, y en las demás disposiciones vigentes sobre la materia, se envía el extracto de la solicitud a la oficina de comunicaciones para efecto de su publicación en la Gaceta de Propiedad Industrial, conforme lo establece el artículo 40 de la Decisión 486

Cúmplase
Dado en Bogotá D C, 18 FEB 2004


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe División de Nuevas Creaciones

202051

DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

RADICACIÓN EXPEDIENTE No 02-013030

EL EXTRACTO DE LA PRESENTE SOLICITUD DE PATENTE DE INVENCION

FUE PUBLICADO EN LA GACETA DE PROPIEDAD INDUSTRIAL No 539 DE

FECHA 30 DE ABRIL DEL 2004 EL TERMINO HABIL SEÑALADO POR LA LEY

EXPIRA EL 02 DE AGOSTO DEL 2004

NOTA. Dentro del plazo de los seis (6) meses siguientes a partir de la fecha de publicación en la gaceta de Propiedad Industrial, deberá solicitar y cancelar el examen de patentabilidad so pena de que la solicitud calga en abandono, de acuerdo con lo establecido en el Artículo 44 de la Decisión 486/2000

SE PRESENTARON OPOSICIONES POR PARTE DE TERCEROS

SI

NO **X**

Bogotá D C, AGOSTO DE 2006

SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO

496

RADICACIÓN 2-13030

EDICTO No 13733

**LA SECRETARÍA GENERAL AD-HOC
HACE SABER**

Que esta Superintendencia profirió Resolución No 23282 de 31-AGO-2006 Que el contenido de la parte resolutive es como sigue: El Superintendente de Industria y Comercio

RESUELVE

ARTICULO PRIMERO: Declarar abandonada la solicitud de privilegio de patente de invención contenida en el expediente de la referencia

ARTICULO SEGUNDO Notificar personalmente el contenido de la presente resolución al doctor Gustavo Holmann Restrepo, o a quien haga sus veces, en su calidad de apoderado de Aventis Pharmaceuticals Inc. entregándole copia de la misma, advirtiéndole que contra ella procede el recurso de reposición interpuesto ante el Superintendente de Industria y Comercio al momento de la notificación o dentro de los 5 días hábiles siguientes a ella

NOTIFÍQUESE Y CUMPLASE

Dada en Bogotá, D.C., a los 31 Ato. 2006

EL SUPERINTENDENTE DE INDUSTRIA Y COMERCIO


JAIME RESTREPO

Para notificar a los interesados, se fija el presente EDICTO en lugar visible al público en la SUPERINTENDENCIA DE INDUSTRIA Y COMERCIO por el término de (10) diez días hábiles contados a partir de las 8 30 a.m. de hoy

Secretaría General Ad-Hoc 15-SEP-2006 Este edicto se desliza hoy 28-SEP-2006 a las cinco (5 00 p.m.)
Secretaría General Ad-Hoc
EDICTO No 13733