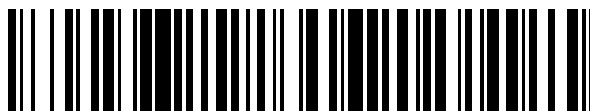


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 776 462**

51 Int. Cl.:

C07D 413/12 (2006.01)
A61K 31/538 (2006.01)
A61P 1/16 (2006.01)
A61P 1/18 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 13/12 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
A61P 31/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **19.05.2016 PCT/EP2016/061173**
- 87 Fecha y número de publicación internacional: **01.12.2016 WO16188827**
- 96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **19.05.2016 E 16723363 (4)**
- 97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2019 EP 3298009**

54 Título: **Derivados del ácido 3-(6-cloro-3-oxo-3,4-dihidro-(2H)-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico y su uso como inhibidores de KMO**

30 Prioridad:

22.05.2015 GB 201508864

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
30.07.2020

73 Titular/es:

**GLAXOSMITHKLINE INTELLECTUAL PROPERTY
DEVELOPMENT LIMITED (100.0%)
980 Great West Road, Brentford
Middlesex TW8 9GS, GB**

72 Inventor/es:

**BOUILLOT, ANNE MARIE JEANNE;
DENIS, ALEXIS;
LIDDLE, JOHN;
MIRGUET, OLIVIER y
WALKER, ANN, LOUISE**

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 776 462 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Derivados del ácido 3-(6-cloro-3-oxo-3,4-dihidro-(2H)-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico y su uso como inhibidores de KMO

Campo de la invención

La presente invención se refiere a compuestos de 6-clorobenzoxazina, procesos para su preparación, composiciones farmacéuticas que comprenden compuestos de 6-clorobenzoxazina y a su uso en el tratamiento de diversas afecciones o trastornos tales como pancreatitis aguda y otras afecciones o trastornos mediados por KMO.

Antecedentes de la invención

La quinurenina monooxigenasa (KMO) es una monooxigenasa dependiente de flavín adenín dinucleótido (FAD) localizada sobre la membrana mitocondrial exterior. Se sabe que KMO oxida la L-quinurenina (KYN) a 3-hidroxiquinurenina (3HK) como parte de la ruta principal del catabolismo de triptófano. A continuación, 3HK se convierte en ácido 3-hidroxiantranílico y ácido quinólico por quinureninasa (KYN) y 3-hidroxiantranilato 3,4-dioxigenasa (3-HAAO).

KMO se expresa altamente en tejidos incluyendo el hígado, la placenta, el riñón [Alberati-Giani, *FEBS Lett.* 410: 407-412(1997)] células endoteliales y monocitos y a un nivel inferior en microglía y macrófagos en el cerebro.

Niveles incrementados de 3HK y ácido quinolínico y niveles reducidos de ácido quinurénico (KYNA), el cual se forma a partir de quinurenina por una ruta alternativa, han estado implicados en un número de enfermedades incluyendo la enfermedad de Huntington, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, esclerosis lateral amiotrófica (ELA) [Amaral, Outeiro et al. *Journal of Molecular medicine* 2013: 91(6): 705-713] y pancreatitis aguda [Mole, McFerran et al. *British Journal of Surgery* 2008: 95: 855-867]. En el SNC se ha mostrado que 3-HK y el ácido quinolínico son neurotóxicos y KYNA tiene efectos neuroprotectores. Por lo tanto, la inhibición de la actividad oxidativa de KMO se esperaría que diera como resultado niveles reducidos de 3-HK y ácido quinolínico y niveles incrementados de KYNA y que mostrara de manera potencial beneficio para estas enfermedades.

Hay un gran volumen de evidencias que muestran que el metabolismo del triptófano también se altera en un rango de casos de lesión aguda. Por ejemplo, los niveles incrementados de quinurenina se han asociado con el desarrollo de sepsis después de trauma [Pellegrin, 2005, Logters, 2009], mientras que los niveles incrementados de tanto quinurenina como 3-HK se correlacionan con el desarrollo de insuficiencia orgánica en pancreatitis aguda [Mole, McFerran et al. *British Journal of Surgery* 2008: 95: 855-867]. Esta desregulación del metabolismo de triptófano se explica en parte por la inducción de indolamina 2,3 dioxigenasa (IDO, la enzima que convierte el triptófano en N-formil quinurenina)) como parte de la cascada inflamatoria, pero el desarrollo de la disfunción orgánica parece dependiente de los metabolitos posteriores [Mole, McFerran et al. *British Journal of Surgery* 2008: 95: 855-867].

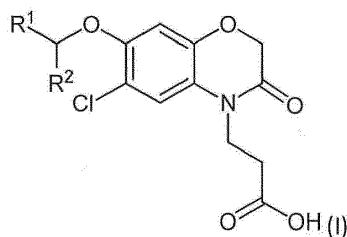
La pancreatitis aguda (PA) resulta de la lesión local al órgano conducida por factores tales consumo excesivo de alcohol o cálculos biliares. El dolor abdominal resultante es extremadamente grave, y los pacientes se presentarán constantemente a urgencias rápidamente después de la aparición de un ataque, con aumento de amilasa en suero usada como un diagnóstico. En la mayoría de los casos, la enfermedad es autolimitante, y el dolor se resuelve en 24-36 horas. Sin embargo, para el 20-30 % restante de los pacientes se da una respuesta inflamatoria sistémica, dando como resultado rápida progresión a disfunción orgánica múltiple (DOM). Esto conduce a una estancia prolongada en la UCI (un promedio de 17 días), con una tasa de mortalidad de por encima del 30 %. A pesar de esta alta necesidad insatisfecha y la seriedad de la enfermedad, no hay tratamientos eficaces disponibles, con protocolo corriente de cuidado que sea meramente de apoyo.

Los documentos WO2013016488, WO2011091153, WO2010017132, WO2010017179, WO2010011302, WO2008022286 y WO2008022281 describen inhibidores de KMO guiados a trastornos o enfermedades neurodegenerativos; los documentos EP1475385, EP1424333 describen inhibidores de KMO guiados a afecciones degenerativas e inflamatorias. El documento WO2013/151707 revela inhibidores de KMO guiados a trastornos neurodegenerativos tales como la enfermedad de Huntington. El documento WO97/17317 revela derivados de 4-fenil-4-oxo-butanóico como inhibidores de KMO para su uso en la prevención y/o el tratamiento de enfermedades neurodegenerativas. Esto deja una necesidad de inhibidores de KMO para su uso en el tratamiento de diversas afecciones o trastornos mediados por KMO tales como pancreatitis aguda y otras afecciones asociadas con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS).

Actualmente se ha encontrado una clase de compuestos que son inhibidores de KMO. Los inhibidores de KMO pueden ser útiles en el tratamiento de diversas afecciones o trastornos tales como, por ejemplo, pancreatitis aguda y afecciones agudas asociadas con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS).

Compendio de la invención

La invención se dirige a compuestos de fórmula (I):



en donde R¹ y R² son como se definen más adelante;

o una sal de los mismos.

Se ha demostrado que ciertos compuestos son inhibidores de KMO: Los compuestos que inhiben KMO pueden ser útiles en el tratamiento de diversos trastornos, por ejemplo, pancreatitis aguda, enfermedad renal crónica, enfermedad renal aguda, lesión renal aguda, otras afecciones asociadas con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, ataxias espinocerebelosas, enfermedad de Parkinson, complejo de demencia asociada a SIDA, infección de VIH, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), depresión, esquizofrenia, sepsis, choque cardiovascular, trauma grave, lesión pulmonar aguda, síndrome de dificultad respiratoria aguda, colecistitis aguda, quemaduras graves, neumonía, procedimientos quirúrgicos prolongados, enfermedad intestinal isquémica, enfermedad hepática aguda grave, encefalopatía hepática aguda grave o insuficiencia renal aguda.

Por consiguiente, la descripción además se dirige a métodos de tratamiento de una afección o trastorno mediado por KMO, dicho método comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

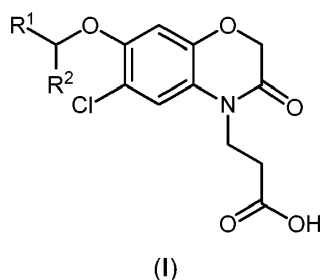
La invención además se dirige a una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La invención además se dirige a un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia.

La invención además se dirige al uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección o trastorno mediado por KMO.

Descripción detallada de la invención

En un primer aspecto, se proporcionan compuestos de fórmula (I):



en donde:

R¹ es heteroarilo opcionalmente sustituido con metilo, etilo, halo u =O; y

R² es H, metilo o etilo.

o una sal de los mismos.

En una realización, R¹ es un heteroarilo de 5 miembros que comprende un átomo de nitrógeno o un átomo de oxígeno y que comprende además un átomo de nitrógeno, o un heteroarilo de 6 miembros que comprende uno, dos o tres átomos de nitrógeno, en donde dicho heteroarilo está opcionalmente sustituido con metilo, etilo, halo u =O.

En una realización, R¹ se selecciona de la lista que consiste en oxazolilo, piridinilo, pirimidinilo, piridazinilo, e imidazolilo, en donde el oxazolilo, piridinilo, pirimidinilo, y piridazinilo pueden estar opcionalmente sustituidos con metilo, etilo, cloro o fluoro.

- 5 En una realización, R¹ se selecciona de la lista que consiste en oxazolilo (opcionalmente sustituido con metilo), piridinilo (opcionalmente sustituido con metilo, etilo, cloro o fluoro), pirimidinilo (opcionalmente sustituido con metilo o cloro), piridazinilo (opcionalmente sustituido con metilo o cloro) e imidazolilo.

En una realización, R¹ se selecciona de la lista que consiste en piridin-2-ilo, 6-metilpiridazin-3-ilo, 5-metilpirimidin-2-ilo, pirimidin-2-ilo, imidazol-2-ilo, 6-cloropiridazin-3-ilo, piridazin-3-ilo, 5-metilpiridin-2-ilo, 5-cloropirimidin-2-ilo, 2-metiloxazol-5-ilo, oxazol-2-ilo, 5-cloropiridin-2-ilo, 5-etilpiridin-2-ilo, y 5-fluoropiridin-2-ilo.

- 10 En una realización, R¹ es piridinilo opcionalmente sustituido con metilo, etilo, cloro o fluoro.

En una realización, R¹ es 2-piridinilo opcionalmente sustituido con metilo, etilo, cloro o fluoro.

En una realización, R¹ es 5-cloropiridin-2-ilo.

En una realización, R² es metilo.

En una realización, R² es etilo.

- 15 En una realización, R¹ es 5-cloropiridin-2-ilo y R² es etilo.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) se selecciona de la lista que consiste en:

ácido 3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico;

ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-7-[1-(2-metil-1,3-oxazol-5-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

- 20 ácido 3-{6-cloro-7-[1-(1,3-oxazol-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-7-[1-(1H-imidazol-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-(piridin-2-ilmetoxi)-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-7-[1-(5-metilpiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

- 25 ácido 3-{6-cloro-7-[1-(5-cloropiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-7-[1-(5-fluoropiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridazin-3-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-7-[(6-metilpiridazin-3-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-7-[1-(6-metilpiridazin-3-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

- 30 ácido 3-{6-cloro-7-[1-(5-metilpiridin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-7-[(5-cloropiridin-2-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-7-[(5-metilpiridin-2-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-7-[1-(5-etilpiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

- 35 ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-7-[1-(5-metilpirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-7-[1-(5-cloropirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridazin-3-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; y

ácido 3-{6-cloro-7-[1-(6-metilpiridazin-3-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

- 40 o una sal de los mismos.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) se selecciona de la lista que consiste en:

ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico;

- ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido 3-{6-cloro-7-[1-(2-metil-1,3-oxazol-5-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido (R)-3-{6-cloro-7-[1-(1,3-oxazol-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido (S)-3-{6-cloro-7-[1-(1,3-oxazol-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 5 ácido 3-{6-cloro-7-[1-(1H-imidazol-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido (R)-3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido (S)-3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-(piridin-2-ilmetoxi)-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-metilpiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 10 ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-cloropiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridazin-3-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido 3-{6-cloro-7-[(6-metilpiridazin-3-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(6-metilpiridazin-3-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 15 ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-metilpiridin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido 3-{6-cloro-7-[(5-cloropiridin-2-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido 3-{6-cloro-7-[(5-metilpiridin-2-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-etilpiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 20 ácido (R)-3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido (S)-3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido (R)-3-{6-cloro-7-[1-(5-metilpirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido (S)-3-{6-cloro-7-[1-(5-metilpirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido (R)-3-{6-cloro-7-[1-(5-cloropirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 25 ácido (S)-3-{6-cloro-7-[1-(5-cloropirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido (R)-3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridazin-3-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido (S)-3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridazin-3-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido (R)-3-{6-cloro-7-[1-(6-metilpiridazin-3-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; y
 ácido (S)-3-{6-cloro-7-[1-(6-metilpiridazin-3-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- 30 o una sal de los mismos, por ejemplo, una sal farmacéuticamente aceptable.

En una realización, el compuesto se selecciona de la lista que consiste en:

- ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il}propanoico;
 2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 35 ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 clorhidrato de ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido (2S)-2-amino-5-carbamimidamidopentanoico; ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 40 ácido (2S)-2,6-diaminohexanoico; ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
 ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; bencil[2-(bencilamino)etil]amina;
 ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; ácido sulfúrico;

- ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; ácido metanosulfónico;
- ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; ácido 4-metilbencen-1-sulfónico;
- 5 ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; bencil(2-feniletil)amina;
- ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; bis(2-aminoetil)amina;
- 10 (2R,3R,4R,5S)-6-(metilamino)hexane-1,2,3,4,5-pentol; ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoato de sodio;
- 2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido 3-{6-cloro-7-[1-(2-metil-1,3-oxazol-5-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- 15 2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido (R)-3-{6-cloro-7-[1-(1,3-oxazol-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- 2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido (S)-3-{6-cloro-7-[1-(1,3-oxazol-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- 2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido 3-{6-cloro-7-[1-(1H-imidazol-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- 20 2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido (R)-3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- 2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido (S)-3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-(piridin-2-ilmetoxi)-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- 25 ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-metilpiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-cloropiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridazin-3-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido 3-{6-cloro-7-[(6-metilpiridazin-3-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- 30 ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(6-metilpiridazin-3-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-metilpiridin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido 3-{6-cloro-7-[(5-cloropiridin-2-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido 3-{6-cloro-7-[(5-metilpiridin-2-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- 35 ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-etilpiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido (R)-3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido (S)-3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido (R)-3-{6-cloro-7-[1-(5-metilpirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido (S)-3-{6-cloro-7-[1-(5-metilpirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- 40 ácido (R)-3-{6-cloro-7-[1-(5-cloropirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido (S)-3-{6-cloro-7-[1-(5-cloropirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido (R)-3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridazin-3-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido (S)-3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridazin-3-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;
- ácido (R)-3-{6-cloro-7-[1-(6-metilpiridazin-3-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; y
- 45 ácido (S)-3-{6-cloro-7-[1-(6-metilpiridazin-3-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) es:

ácido 3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico o una sal del mismo.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) es:

5 ácido 3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) es:

ácido 3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) es:

10 ácido 3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) es:

ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico o una sal del mismo.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) es:

15 ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) es:

ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico.

En una realización, el compuesto de fórmula (I) es:

20 ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico en la forma de una sal farmacéuticamente aceptable.

Términos y definiciones

Los compuestos de fórmula (I) y sus sales se refieren más adelante como "Compuestos de la invención".

25 El término "halógeno" o "halo" usado en la presente memoria se refiere a flúor (F), cloro (Cl), bromo (Br), o yodo (I). Ejemplos de halógenos adecuados son flúor y cloro.

30 El término "heteroarilo" como se usa en la presente memoria se refiere a un anillo aromático de 5 o 6 miembros que comprende uno o más (por ejemplo, 1, 2 o 3) heteroátomos independientemente seleccionados de oxígeno, nitrógeno o azufre. Por ejemplo, cuando "heteroarilo" representa un anillo de 5 miembros, el anillo contiene un heteroátomo seleccionado de oxígeno, nitrógeno o azufre y opcionalmente puede contener además uno, dos o tres átomos de nitrógeno. Cuando "heteroarilo" representa un anillo de 6 miembros, el anillo puede contener uno, dos o tres átomos de nitrógeno. Ejemplos de tales anillos de heteroarilo de 5 o 6 miembros incluyen, pero no se limitan a, pirrolilo, triazolilo, tiadiazolilo, tetrazolilo, imidazolilo, pirazolilo, isotiazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, oxazolilo, oxadiazolilo, furazanilo, furanilo, tienilo, piridilo, pirimidinilo, pirazinilo, piridazinilo y triazinilo.

35 "Exceso enantiomérico" (ee) es el exceso de un enantiómero por encima del otro expresado como porcentaje. En una modificación racémica, puesto que ambos enantiómeros están presentes en cantidades iguales, el exceso enantiomérico es cero (0 % ee). Sin embargo, si un enantiómero estuviera enriquecido de modo que constituía el 95 % del producto, entonces el exceso enantiomérico sería del 90 % ee (la cantidad del enantiómero enriquecido, 95 %, menos la cantidad del otro enantiómero, 5 %).

40 "Enantioméricamente enriquecido" se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico (ee) es mayor de cero. Por ejemplo, "enantioméricamente enriquecido" se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico es mayor del 50 % ee, mayor del 75 % ee, y mayor del 90 % ee.

"Enantioméricamente puro" se refiere a productos cuyo exceso enantiomérico es del 99 % o mayor.

"Opcionalmente sustituido" significa sustituido o no sustituido.

45 Los compuestos de la invención son capaces de formar sales de adición de base. Tales bases se pueden formar mediante reacción con la base apropiada, opcionalmente en un disolvente adecuado tal como un disolvente orgánico, para dar la sal que se puede aislar por cristalización y filtración.

Los compuestos de la invención son capaces de formar sales de adición de ácido. Tales sales se pueden formar mediante reacción con el ácido apropiado, opcionalmente en un disolvente adecuado tal como un disolvente orgánico, para dar la sal que se puede aislar por cristalización y filtración.

Se entiende que las referencias en la presente memoria a compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos cubre los compuestos de fórmula (I) como bases libres, ácidos libres o como sales de los mismos, por ejemplo, como sales farmacéuticamente aceptables de los mismos. Por tanto, en una realización, la invención se dirige a compuestos de fórmula (I) como el ácido libre. En otra realización, la invención se dirige a compuestos de fórmula (I) como la base libre. En otra realización, la invención se dirige a compuestos de fórmula (I) y sales de los mismos. En una realización adicional, la invención se dirige a compuestos de fórmula (I) y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Debido a su uso potencial en la medicina, se apreciará que para su uso en la medicina las sales de los compuestos de la invención deberían ser farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables serán evidentes para los expertos en la técnica e incluyen aquellas descritas en Berge, *J. Pharm. Sci.*, 1977, 66, 1-19. Sales de adición de base farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, sales de amonio, sales de metal alcalino tales como aquellas de sodio y potasio, sales de metal alcalinotérreo tales como aquellas de calcio y magnesio y sales con bases orgánicas, incluyendo sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, tales como *t*-butilamina, ciclohexilamina, dimetilamina, trimetilamina, dietiltriaina, 2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol (TRIS), etanolamina, colina y *N*-metil-D-glutamina. Sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables incluyen, pero no se limitan a, clorhidrato, bromohidrato, nitrato, metilnitrato, sulfato, bisulfato, sulfamato, fosfato, acetato, hidroxiacetato, fenilacetato, propionato, butirato, isobutirato, valerato, maleato, hidroximaleato, acrilato, fumarato, malato, tartrato, citrato, salicilato, *p*-aminosalicilato, glicolato, lactato, heptanoato, ftalato, oxalato, succinato, benzoato, *o*-acetoxibenzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, mandelato, tanato, formato, estearato, ascorbato, palmitato, oleato, piruvato, pamoato, malonato, laurato, glutarato, glutamato, estolato, metanosulfonato (mesilato), etanosulfonato (esilato), 2-hidroxietanosulfonato, bencenosulfonato (besilato), *p*-aminobencenosulfonato, *p*-toluenosulfonato (tosilato), naftaleno-2-sulfonato, etanodisulfonato, y 2,5-dihidroxibenzoato.

En una realización, la sal es una sal farmacéuticamente aceptable.

Ciertos compuestos de la invención pueden contener un centro asimétrico (también referido como un centro quiral) y puede, por lo tanto, existir como enantiómeros individuales, o como mezclas de los mismos. Cuando la estereoquímica de un centro quiral presente en la fórmula (I), o en cualquier estructura ilustrada en la presente memoria, no está especificada, la estructura pretende abarcar cualquier estereoisómero y todas sus mezclas. Por tanto, los compuestos según la fórmula (I) que contienen uno o más centros quirales se pueden usar como modificaciones racémicas que incluyen mezclas racémicas y racematos, mezclas enantioméricamente enriquecidas, o como estereoisómeros individuales enantioméricamente puros. Se entenderá que la invención abarca todos los isómeros geométricos y ópticos de estos compuestos y las mezclas de los mismos que incluyen racematos. La invención también se extiende a cualquier forma tautomérica y mezclas de las misma.

Los estereoisómeros individuales de un compuesto según la fórmula (I) que contienen un centro asimétrico se pueden resolver por métodos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, tal resolución se puede llevar a cabo (1) mediante la formación de sales diastereoisoméricas, complejos u otros derivados; (2) mediante la reacción selectiva con un reactivo específico a estereoisómero, por ejemplo, por oxidación o reducción enzimática; o (3) por cromatografía de gas-líquido o líquida en un ambiente quiral, por ejemplo, sobre un soporte quiral tal como sílice con un ligando quiral unido o en presencia de un disolvente quiral. Se apreciará que cuando el estereoisómero deseado se convierte en otra entidad química mediante uno de los procedimientos de separación anteriormente descritos, se requiere una etapa adicional para liberar la forma deseada. Alternativamente, los estereoisómeros específicos se pueden sintetizar por síntesis asimétrica usando reactivos ópticamente activos, sustratos, catalizadores o disolventes, o convirtiendo un enantiómero en el otro mediante transformación asimétrica.

En un aspecto, se proporciona un compuesto de fórmula (I) en donde R^2 no es H, y en donde el enantiómero (R) está presente en exceso enantiomérico ("ee") de más del 90 %.

En una realización, el enantiómero (R) está presente en más del 95 % ee.

En una realización, el enantiómero (R) está presente en más del 99 % ee.

La invención incluye dentro de su alcance todas las formas estequiométricas y no estequiométricas posibles de las sales de los compuestos de fórmula (I).

Ciertos compuestos de la invención pueden existir en la forma de solvatos. Como se usa en la presente memoria, el término "solvato" se refiere a un complejo de estequiometría variable formado por un soluto (en esta invención, un compuesto de fórmula (I) o una sal del mismo) y un disolvente. Tales disolventes con el propósito de la invención no pueden interferir con la actividad biológica del soluto. Ejemplos de disolventes adecuados incluyen agua, metanol, etanol y ácido acético. Si el disolvente usado es agua, el solvato se puede referir como hidrato.

Además se apreciará que ciertos compuestos de la invención que existen en forma cristalina, incluyendo diversos solvatos de los mismos, pueden presentar polimorfismo (es decir, la capacidad de darse en diferentes estructuras cristalinas). Estas diferentes formas cristalinas generalmente se conocen como "polimorfos". La invención incluye tales polimorfos. Las polimorfos tienen la misma composición química pero difieren en el empaquetamiento, la disposición geométrica, y otras propiedades descriptivas del estado sólido cristalino. Las polimorfos, por lo tanto, pueden tener diferentes propiedades físicas tales como forma, densidad, dureza, deformabilidad, estabilidad y propiedades de solución. Las polimorfos generalmente presentan diferentes puntos de fusión, espectros de IR, y patrones de difracción de Rayos X de polvo, los cuales se pueden usar para la identificación. Se apreciará que se pueden producir diferentes polimorfos, por ejemplo, cambiando o ajustando las condiciones de reacción o los reactivos, usados en la producción del compuesto. Por ejemplo, cambios en la temperatura, presión, o el disolvente pueden dar como resultado polimorfos. Además, una polimorfa puede convertirse espontáneamente en otra polimorfa bajo ciertas condiciones.

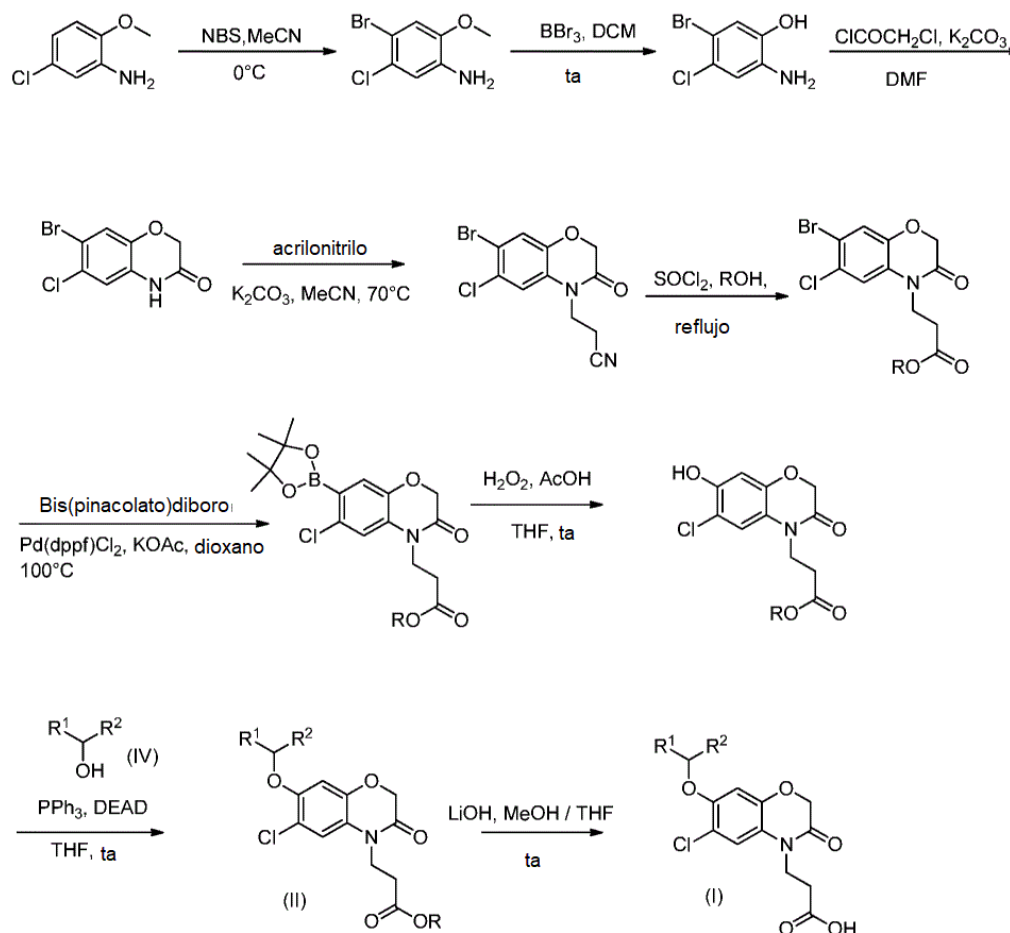
Los compuestos de fórmula (I) y sus sales se pueden marcar isotópicamente y así son idénticos a los compuestos de la invención, pero habiendo sido reemplazados uno o más átomos por un átomo que tiene una masa atómica o un número másico diferentes de la masa atómica o el número másico más comúnmente encontrados en la naturaleza. Ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en los compuestos de la invención son isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, flúor, tales como ^3H , ^{11}C , ^{14}C y ^{18}F . Tales compuestos isotópicamente marcados son útiles en ensayos de distribución en tejido de fármaco y/o sustrato. Por ejemplo, los isótopos ^{11}C y ^{18}F son particularmente útiles en PET (tomografía de emisión de positrones). PET es útil en la toma de imágenes del cerebro. Los compuestos isotópicamente marcados de la invención generalmente se pueden preparar llevando a cabo los procedimientos descritos más adelante, sustituyendo un reactivo isotópicamente marcado fácilmente disponible con un reactivo no isotópicamente marcado.

Abreviaturas

	conc.	concentrado
25	DCM	diclorometano
	DEAD	dietilazodicarboxilato
	DMF	N,N-dimetilformamida
	DMSO	dimetilsulfóxido
	EDCI	3-etil-1(N,N-dimetil)aminopropilcarbodiimida
30	ESI	ionización por electropulverización
	h	hora(s)
	HOBT	1-hidroxibenzotriazol
	HPLC	cromatografía líquida de alta resolución
	LCMS	cromatografía líquida-espectrometría de masas
35	MeCN	acetonitrilo
	min	minutos
	ml	mililitro
	Ms/mesyl	metanosulfonilo
	NBS	N-bromosuccinamida
40	NMR	resonancia magnética nuclear
	$\text{Pd}(\text{dppf})\text{Cl}_2$	[1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno] dicloro paladio II
	R-CBS	(R)-3,3-difenil-1-metilpirrolidino[1,2-c]-1,3,2-oxazaborol
	TA	temperatura ambiente
	tR	tiempo de retención
45	SFC	cromatografía fluida supercrítica
	THF	tetrahidrofurano
	TFA	ácido trifluoroacético
	TRIS	2-amino-2-(hidroximetil)-1,3-propanodiol

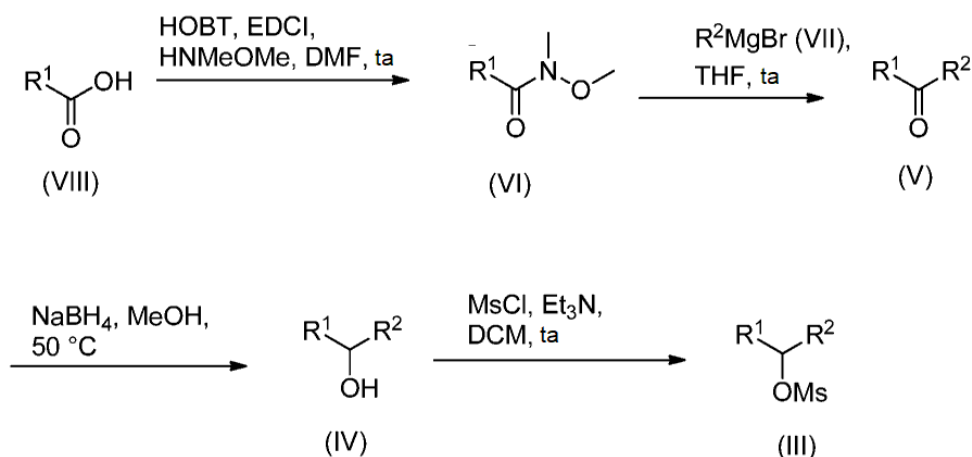
Preparación de compuestos

- Los compuestos de fórmula (I) (en donde R¹ y R² son como se han definido anteriormente en la presente memoria) se pueden sintetizar básicamente según el Esquema de Reacción 1 a partir del correspondiente éster de fórmula (II) (en donde R es, por ejemplo, metilo o etilo) por hidrólisis mediada por ácido o saponificación. El éster de fórmula (II) se puede obtener mediante tratamiento de 3-(6-cloro-7-hidroxi-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de alquilo con un alcohol de fórmula (IV) bajo condiciones de Mitsunobu.



Esquema de Reacción 1

- El mesilato de fórmula (III) se puede sintetizar básicamente según el Esquema de Reacción 2 a partir del ácido carboxílico de fórmula (VIII). El tratamiento del ácido carboxílico de fórmula (VIII) con N,O-dimetilhidroxilamina en presencia de agentes de acoplamiento adecuados, por ejemplo, HOBT y EDCI, para proporcionar la amida de Weinreb de fórmula (VII), seguido de tratamiento con el reactivo de Grignard de fórmula (VI) proporciona la cetona de fórmula (V). La reducción de la cetona de fórmula (V) con un agente reductor adecuado, por ejemplo, borohidruro de sodio proporciona el alcohol aquiral (IV), el cual se puede activar opcionalmente, por ejemplo, como el mesilato de fórmula (III) mediante la introducción de un grupo activador adecuado, por ejemplo, mesilato, mediante tratamiento con un agente activador, por ejemplo, mediante tratamiento con cloruro de mesilo (MsCl), en un disolvente adecuado, por ejemplo, diclorometano (DCM), usando una base adecuada, por ejemplo, trietilamina (Et₃N), a una temperatura adecuada, por ejemplo, temperatura ambiente.



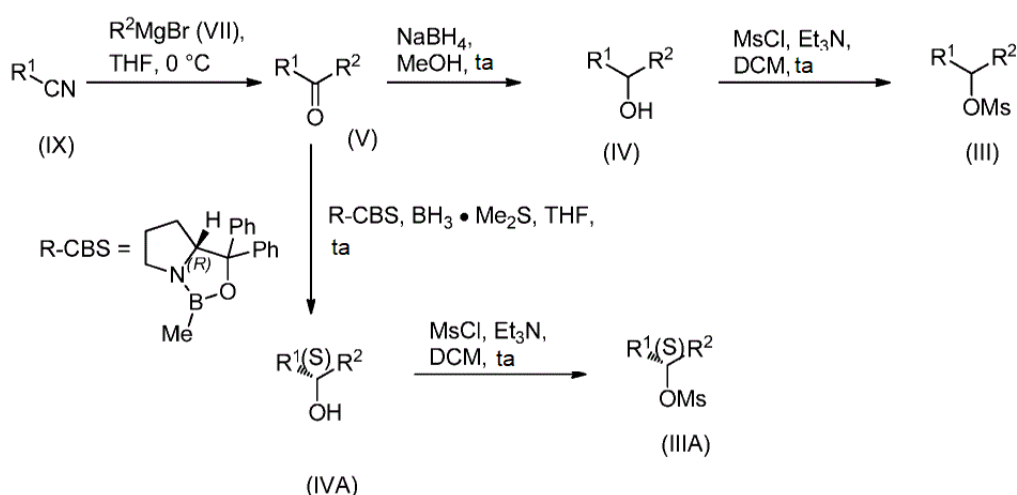
Esquema de Reacción 2

Alternativamente, el mesilato de fórmula (III) se puede sintetizar básicamente según el Esquema de Reacción 3, mediante tratamiento del compuesto ciano de fórmula (IX) con un reactivo de Grignard de fórmula (VII) en un disolvente adecuado, por ejemplo, THF, a una temperatura adecuada, por ejemplo, 0 °C, para proporcionar la cetona o el aldehído de fórmula (V).

La reducción del aldehído o la cetona de fórmula (V) bajo condiciones aquirales, por ejemplo, usando borohidruro de sodio en un disolvente adecuado, por ejemplo, metanol, proporciona el alcohol aquiral de fórmula (IV).

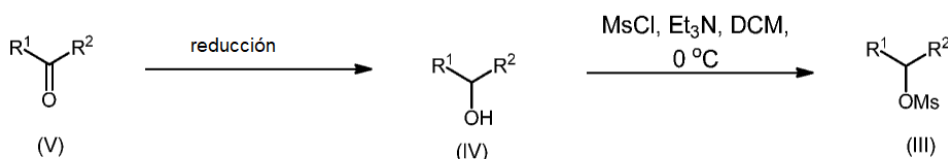
La reducción de la cetona de fórmula (V) (R^2 no es H) bajo condiciones quirales, por ejemplo, usando R-CBS ((R)-3,3-difenil-1-metilpirrolidino[1,2-c]-1,3,2-oxazaborol) y borano-dimetilsulfuro en un disolvente adecuado, por ejemplo, THF, proporciona el alcohol quiral (IVA).

El alcohol quiral de fórmula (IV) o el alcohol aquiral de fórmula (IVA) se pueden activar opcionalmente, por ejemplo, como el correspondiente mesilato de fórmula (III) o fórmula (IIIA) mediante la introducción de un grupo activador adecuado, por ejemplo, mesilato, mediante tratamiento con un agente activador, por ejemplo, mediante tratamiento con cloruro de mesilo (MsCl), en un disolvente adecuado, por ejemplo, diclorometano (DCM), usando una base adecuada, por ejemplo, trietilamina (Et_3N), a una temperatura adecuada, por ejemplo, temperatura ambiente.

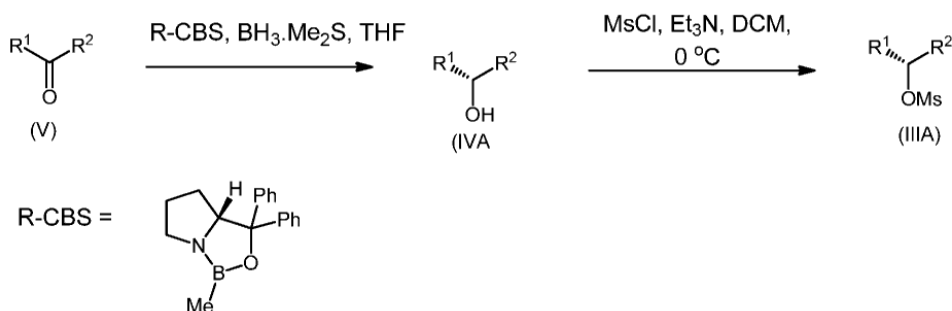


Esquema de Reacción 3

El alcohol activado $\text{CH}(\text{R}^1)(\text{R}^2)\text{OMs}$ de fórmula (III) o (IIIA) se puede sintetizar a partir del alcohol racémico de fórmula (IV), obtenido a partir de la reducción del aldehído o la cetona de fórmula (VI), básicamente según el Esquema de Reacción 4 (para producir alcohol activado racémico de fórmula (III)) o del alcohol quiral de fórmula (IVA) obtenido a partir de la reducción quiral de la cetona de fórmula (V) básicamente según el Esquema de Reacción 5 (para producir básicamente de forma quiral alcohol activado puro $\text{CH}(\text{R}^1)(\text{R}^2)\text{OMs}$ de fórmula (IIIA)).



Esquema de Reacción 4



Esquema de Reacción 5

El alquil éster de fórmula (II) también se puede obtener mediante tratamiento de 3-(6-cloro-7-hidroxi-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de alquilo con un alcohol activado de fórmula (III) o (IIIA) bajo condiciones de alquilación, en un disolvente adecuado, por ejemplo, acetonitrilo, en presencia de una base adecuada, por ejemplo, carbonato de potasio.

Los expertos en la técnica apreciarán que puede ser necesario proteger ciertos sustituyentes reactivos durante algunos de los anteriores procedimientos. Se pueden usar técnicas de protección y desprotección estándar, tales como las descritas en "Greene T.W. *Protective groups in organic synthesis*, Nueva York, Wiley (1981)". Por ejemplo, se pueden proteger aminas primarias como ftalimida, trifluoroacetilo, bencilo, terc-butiloxycarbonilo, benciloxycarbonilo o derivados de tritilo. Los grupos de ácido carboxílico se pueden proteger como ésteres. Los grupos aldehído o cetona se pueden proteger como acetales, cetales, tioacetales o tiocetales. La desprotección de tales grupos se consigue usando procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, los grupos protectores tales como terc-butiloxycarbonilo se pueden separar usando un ácido tal como el ácido clorhídrico o trifluoroacético en un disolvente adecuado tal como diclorometano, dietiléter, 1,4-dioxano, isopropanol o mezclas de los mismos.

Para cualquiera de las reacciones o los procesos descritos anteriormente en la presente memoria, se pueden emplear métodos convencionales de calentamiento y enfriamiento, por ejemplo, baños de aceite regulados por temperatura o bloques calientes regulados por temperatura, y baños de hielo/sal o baños de hielo seco/acetona respectivamente. Se pueden usar métodos convencionales de aislamiento, por ejemplo, extracción de o dentro de disolventes acuosos o no acuosos. Se pueden emplear métodos convencionales de secado de disolventes orgánicos, soluciones o extractos, tales como agitación con sulfato de magnesio anhidro, o sulfato de sodio anhidro, o pasando a través de una fritada hidrófoba. Se pueden usar como sea requerido métodos convencionales de purificación, por ejemplo, cristalización y cromatografía, por ejemplo, cromatografía de sílice o cromatografía de fase inversa. Se puede realizar cristalización usando disolventes convencionales tales como acetato de etilo, metanol, etanol, o butanol, o mezclas acuosas de los mismos. Se apreciará que los tiempos de reacción y las temperaturas específicos se pueden determinar generalmente por técnicas de monitoreo de la reacción, por ejemplo, cromatografía de capa fina y LCMS.

Métodos generales

A menos que se indique lo contrario, los materiales de partida estaban comercialmente disponibles. Todos los disolventes y los reactivos comerciales eran de laboratorio y se usaron tal como se recibieron.

Cuando los diastereoisómeros están representados y solamente se refiere a la estereoquímica relativa, o cuando un enantiómero está representado y la estereoquímica absoluta es desconocida, el uso de "or1" en el centro quiral indica que la estereoquímica absoluta del compuesto particular es desconocido, es decir, el compuesto dibujado puede ser o bien el enantiómero R o el enantiómero S. Cuando se conoce la estereoquímica absoluta y el compuesto es un enantiómero sencillo, el símbolo de cuña en negrita o rayada () se usa como sea apropiado, sin el uso de "or1" en el centro quiral.

Métodos analíticos

Condiciones de LCMS

Agilent 1200-6110,

Tabla de señal: Señal A: 214 nm, Señal B: 254 nm;

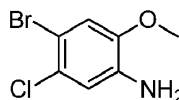
5 Temperatura de la columna: 40 °C

Columna: HALO C18 4,6*50 mm, 2,7 µm

Disolventes	Gradiente	Polaridad
Disolvente A: H ₂ O (ácido fórmico al 0,1%) Disolvente B: CH ₃ CN (ácido fórmico al 0,1%)	0,00 min: A: 95,0 % B: 5,0 %	Positiva
	1,00 min: A: 5,0 % B: 95,0 %	
	2,00 min: A: 5,0 % B: 95,0 %	
	2,01 min: A: 95,0 % B: 5,0 %	
	2,50 min: A: 95,0 % B: 5,0 %	

Los nombres de los intermediarios y los ejemplos se han obtenido usando el programa de nombramiento de compuesto dentro de "ChemBioDraw Ultra v12", o alternativamente usando "ACD Name Pro 6.02".

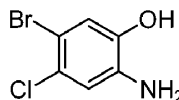
10 Intermediario 1: 4-Bromo-5-cloro-2-metoxianilina



15 A 5-cloro-2-metoxianilina (132 g, 0,84 mol) en acetonitrilo (1.000 ml), se añadió N-bromosuccinimida (150 g, 0,84 mol) en porciones a 0 °C durante 1 h. Después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16 h. Esta reacción se repitió 3 veces y se combinaron las 4 reacciones. La mezcla se vertió en hielo/agua (4 kg x 2) y se agitó durante 1 h. La mezcla se basificó con bicarbonato de sodio sólido a entre pH 7 y 8. Se extrajo la capa acuosa con acetato de etilo (2 l x 3), la capa orgánica combinada se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y el disolvente se evaporó bajo vacío. El residuo se purificó por cromatografía en columna (sílice, 200-300 malla, 4 kg, éter de petróleo/acetato de etilo 50:1 para separar el subproducto de dibromo, luego, éter de petróleo/acetato de etilo 10:1) para dar 4-bromo-5-cloro-2-metoxianilina como un sólido marrón claro (380 g).

20 LCMS: tR 1,57 min, MH⁺ 236/238.

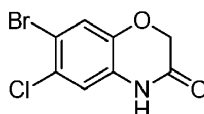
Intermediario 2: 2-Amino-5-bromo-4-clorofenol



25 A cada uno de 2 matraces enfriados con hielo/agua, que contenían 4-bromo-5-cloro-2-metoxianilina (120 g, 507,42 mmol) en DCM (1.000 ml) se añadió tribromuro de boro (382 g, 1.522,26 mmol). Después de la adición, la mezcla se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 2 h. Las mezclas de reacción se vertieron en hielo/agua (2 l), se basificaron con bicarbonato de sodio sólido a pH 7 y se extrajeron con acetato de etilo (1.000 ml x 6). Los compuestos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio y el disolvente se separó para dar 2-amino-5-bromo-4-clorofenol como un sólido marrón (220 g).

LCMS: tR 1,35 min, MH⁺ 222/224.

30 Intermediario 3: 7-Bromo-6-cloro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona

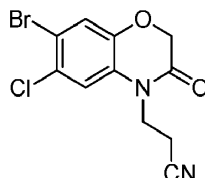


35 A 2-amino-5-bromo-4-clorofenol (218 g, 979,9 mmol) en DMF (1.000 ml) se añadió cloruro de 2-cloroacetilo (121,7 g, 1.077,9 mmol) a temperatura ambiente y la mezcla se agitó a esta temperatura durante 3 h. Se añadió carbonato de potasio (270,5 g, 1.959,8 mmol) a la mezcla, y se continuó la agitación durante 16 h. Se añadió carbonato de potasio (135 g, 979,9 mmol) a la mezcla y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante unas 16 h

adicionales. Se añadió agua (2 l) y se aisló el producto por filtración para proporcionar 7-bromo-6-cloro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona como un sólido marrón (225 g).

LCMS: tR 1,56 min, MH⁺ 261.

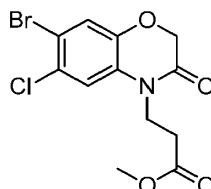
Intermediario 4: 3-(7-Bromo-6-cloro-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanonitrilo



A 7-bromo-6-cloro-2H-benzo[b][1,4]oxazin-3(4H)-ona (227 g, 865 mmol) en MeCN (1.000 ml) se añadieron acrilonitrilo (138 g, 2,595 mol) y carbonato de potasio (358,11 g, 2,595 mol). Después de la adición, la mezcla de reacción se agitó a 70 °C durante 16 h, el disolvente se separó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (sílice: 200-300 malla, 1.000 g, éter de petróleo/acetato de etilo 5:1) para dar 3-(7-bromo-6-cloro-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanonitrilo como un sólido marrón (230 g).

¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,28 (s, 1H), 7,10 (s, 1H), 4,63 (s, 2H), 4,19 (t, J=7,0 Hz, 2H), 2,78 (t, J=7,1 Hz, 2H).

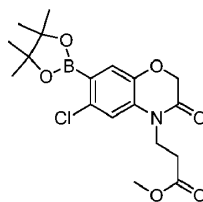
Intermediario 5: 3-(7-bromo-6-cloro-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo



A 3-(7-bromo-6-cloro-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanonitrilo (100 g, 317 mmol) en metanol (600 ml) se añadió cloruro de tionilo (300 ml) a 0 °C. Después de la adición, la reacción se calentó a 70 °C durante 16 h. El disolvente se separó y el residuo se vertió en agua (1.000 ml), se extrajo con DCM (800 ml x 4), se concentró y se purificó por cromatografía en columna (sílice: 200-300 malla, 800 g, DCM/MeOH 100:1) para dar 3-(7-bromo-6-cloro-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo como un sólido marrón (108 g).

LCMS: tR 1,59 min, MH⁺ 348/350; ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) δ 7,24 (s, 1H), 7,12 (s, 1H), 4,60 (s, 2H), 4,18 (t, J=6, 2H), 3,71 (s, 3H), 3,65 (s, 1H), 2,70 (t, J=6, 2H).

Intermediario 6: 3-(6-cloro-3-oxo-7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo

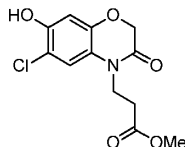


A 3-(7-bromo-6-cloro-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo (108 g, 310 mmol) en 1,4-dioxano (600 ml), se añadió 4,4,4',4',5,5,5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (236 g, 930 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno] dicloro paladio (II) (11,34 g, 15,5 mmol), acetato de potasio (61 g, 620 mmol) y la mezcla de reacción se agitó a 100 °C bajo argón durante 16 h.

Se añadieron más 4,4,4',4',5,5,5'-octametil-2,2'-bi(1,3,2-dioxaborolano) (131,2 g, 516,4 mmol), [1,1'-bis(difenilfosfino)ferroceno] dicloro paladio(II) (6,4 g, 8,6 mmol) y acetato de potasio (34 g, 344,24 mmol), la mezcla de reacción se agitó a 100 °C bajo argón durante 16 h. El disolvente se separó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (sílice, 200-300 malla, 2.000 g, éter de petróleo/acetato de etilo 30:1 a DCM/MeOH=200:1) para dar 3-(6-cloro-3-oxo-7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo como un sólido amarillo (86 g, crudo).

LCMS: tR 1,75 min, MH⁺ 396.

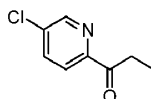
Intermediario 7: 3-(6-cloro-7-hidroxi-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo



A 3-(6-cloro-3-oxo-7-(4,4,5,5-tetrametil-1,3,2-dioxaborolan-2-il)-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo (86 g, 217,4 mmol) en THF (1.000 ml), se añadió ácido acético (150 ml), peróxido de hidrógeno (30 %, 150 ml) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. La mezcla se vertió en agua (1.000 ml), se extrajo con diclorometano (500 ml x 3) y los compuestos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio. El residuo se purificó por cromatografía en columna (sílice, 200-300 malla, 600 g, éter de petróleo/acetato de etilo 5:1 a DCM/MeOH 200:1). El sólido amarillo resultante (25,5 g) se recristalizó a partir del acetato de etilo (200 ml) para proporcionar 3-(6-cloro-7-hidroxi-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo como un sólido amarillo (13,89 g).

LCMS: tR 1,41 min, MH⁺ 286.

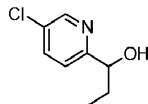
Intermediario 8: 1-(5-cloropiridin-2-il)propan-1-ona



A una solución de 5-cloropicolonitrilo (12,5 g, 90,2 mmol) disuelta en THF (200 ml) a 0 °C se añadió gota a gota bromuro de etilmagnesio (3 M en THF, 54 ml, 162 mmol). Después de la adición, la mezcla se agitó a 0 °C durante 2 h. Después de la finalización de la reacción, se añadió gota a gota agua (500 ml) a 0 °C, la mezcla se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 3) y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio. La mezcla se filtró y se separó el disolvente. El residuo se purificó por cromatografía en columna (sílice: 200-300 malla, 40 g, éter de petróleo/acetato de etilo 10:1, 800 ml) para dar 1-(5-cloropiridin-2-il)propan-1-ona como un aceite amarillo (10 g).

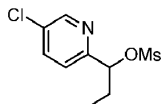
LCMS: tR 1,59 min, MH⁺ 170/172.

Intermediario 9: 1-(5-cloropiridin-2-il)propan-1-ol



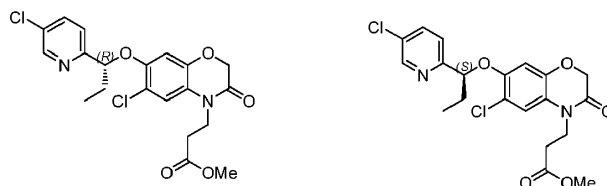
A una solución de 1-(5-cloropiridin-2-il)propan-1-ona (9,5 g, 56 mmol) en metanol (100 ml), se añadió borohidruro de sodio (2,12 g, 56 mmol) lentamente a temperatura ambiente. Se añadió agua (500 ml), la mezcla se extrajo con acetato de etilo (100 ml x 4) y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de sodio. El disolvente se separó para dar 1-(5-cloropiridin-2-il)propan-1-ol como un aceite amarillo (9,6 g).

Intermediario 10: 1-(5-cloropiridin-2-il)propil metanosulfonato



Se mezcló 1-(5-cloropiridin-2-il)propan-1-ol (9,6 g, 56,1 mmol), trietilamina (6,8 g, 67,4 mmol) en DCM (150 ml) a 0 °C. Se añadió gota a gota cloruro de metanosulfonilo (6,43 g, 56,1 mmol) y, después de la adición, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se separó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (sílice: 200-300 malla, 40 g, éter de petróleo/acetato de etilo 4:1, 1.500 ml) para dar 1-(5-cloropiridin-2-il)propil metanosulfonato como un aceite amarillo (13,97 g).

Intermediarios 11 y 12: (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo (Intermediario 11) y (S)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo (Intermediario 12)



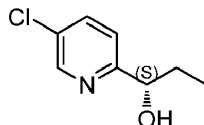
5 Se mezclaron 1-(5-cloropiridin-2-il)propil metanosulfonato (13,97 g, 56,1 mmol), 3-(6-cloro-7-hidroxi-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo (16 g, 56,1 mmol), carbonato de potasio (9,3 g, 67,3 mmol) y MeCN (250 ml) y se agitaron a 80 °C durante 16 h. El disolvente se separó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (sílice: 200-300 malla, 80 g, éter de petróleo/acetato de etilo 4:1, 2.500 ml) para dar 3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo como un aceite amarillo (23 g).

10 Los enantiómeros se separaron por quiral-prep-HPLC [chiralpak- AD-H, 250x20 mm, 5 µm, eluyente: dióxido de carbono, IPA (ácido fórmico + DEA)] para dar (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo como un aceite amarillo (9,0 g) y (S)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo como un aceite amarillo (8,4 g).

15 (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo (Intermediario 11). HPLC quiral: tR=3,33 min.

(S)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo (Intermediario 12). HPLC quiral: tR=5,55 min.

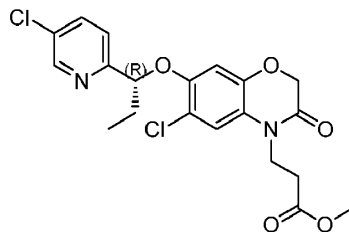
Intermediario 13: (S)-1-(5-cloropiridin-2-il)propan-1-ol



20 Se enfrió (R)-3,3-difenil-1-metilpirrolidino[1,2-c]-1,3,2-oxazaborol (1N en tolueno, 10,61 ml, 10,61 mmol) en THF (50 ml) a 0 °C, se añadió el complejo de borano-sulfuro de metilo (2 N en THF, 5,3 ml, 10,6 mmol) y la mezcla se agitó a 0 °C durante 1 h. Se añadió 1-(5-cloropiridin-2-il)propan-1-ona (1,8 g, 10,61 mol) en THF (5 ml) a 0 °C, y la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. Se añadió metanol (2 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 15 min. El disolvente se separó y el residuo se purificó por cromatografía en columna (sílice, 200-300 malla, 30 g, éter de petróleo/acetato de etilo 5:1) para dar (S)-1-(5-cloropiridin-2-il)propan-1-ol como un aceite incoloro (0,52 g).

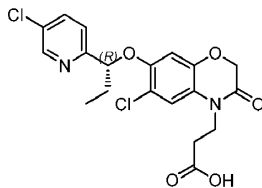
LCMS: tR 1,33 min, MH⁺ 172.

Intermediario 14: (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo



30 A 3-(6-cloro-7-hidroxi-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo (intermediario 7; 1,3 g) en THF (100 ml) a 0 °C se añadieron (S)-1-(5-cloropiridin-2-il)propan-1-ol (520 mg, 3,03 mmol), trifenilfosfina (1,6 g, 6,06 mmol), y azodicarboxilato de dietilo (1,1 g, 6,06 mmol). Después de la adición, la mezcla de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante 16 h. El disolvente se separó y el residuo se purificó por cromatografía en columna [sílice, 200-300 malla, 50 g, éter de petróleo/acetato de etilo 4:1] para dar (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo como un aceite amarillo (10,8 g).

LCMS: tR 1,70 min, MH⁺ 439/441.

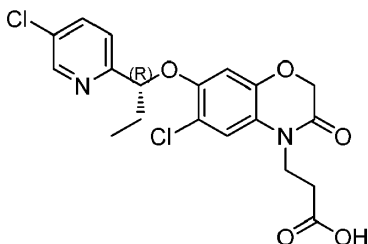
Ejemplo 1: Ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico

Se mezclaron (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo (9,0 g, 20,5 mmol), THF (50 ml) e hidróxido de litio (0,5 N en agua, 50 ml) y la reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. Se añadió agua (150 ml) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 3). La fase acuosa separada se ajustó a pH 6-7 con ácido clorhídrico (0,5 N). La mezcla se filtró y el sólido se recogió y se secó sobre aire para dar ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico como un sólido blanco (6,5 g).

LCMS: tR 1,59 min, MH⁺ 425/427;

¹H NMR (300 MHz, d₆-DMSO) δ 12,37 (s, 1H), 8,63 (d, J=2,4 Hz, 1H), 7,95 (dd, J=8,4, 2,5 Hz, 1H), 7,46 (d, J=8,4 Hz, 1H), 7,38 (s, 1H), 6,66 (s, 2H), 5,36 (t, J=6,2 Hz, 1H), 4,04 (t, J=7,4 Hz, 2H), 2,10-1,88 (m, 3H), 0,92 (t, J=7,3 Hz, 3H).

Ejemplo 1 (preparación alternativa): ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico

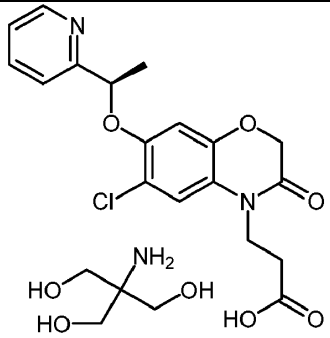
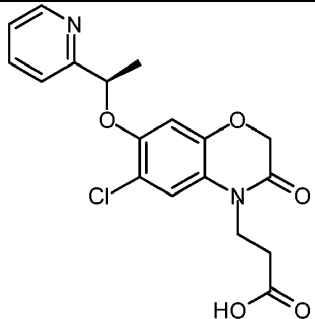
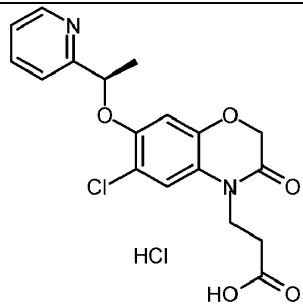
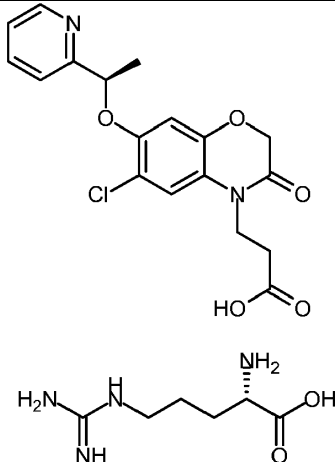


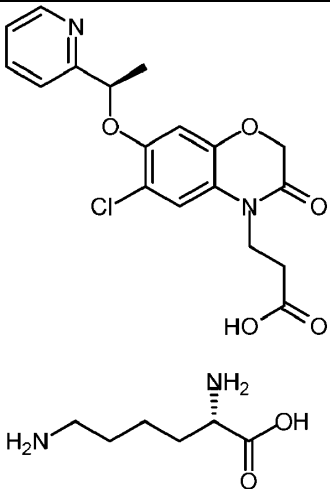
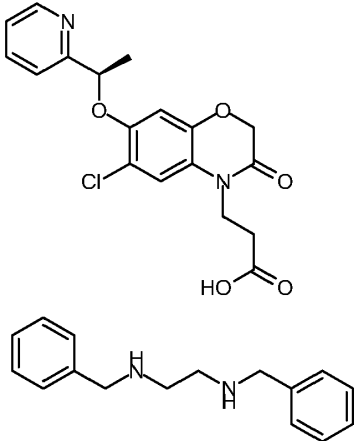
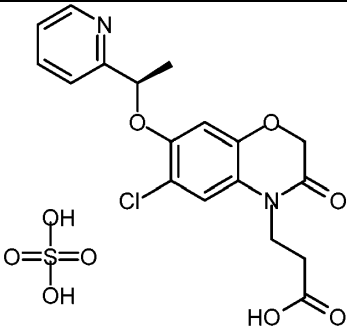
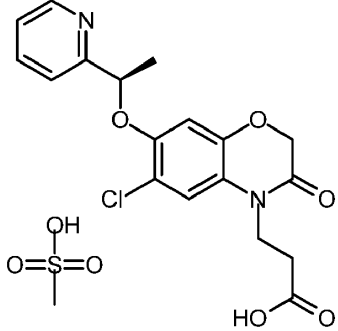
A (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo (0,8 g, 2,05 mmol) en THF (50 ml) se añadió hidróxido de litio (1 N, 8,2 ml, 8,2 mmol) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 2 h. El disolvente se separó, se añadió ácido clorhídrico (0,5 N) para ajustar la mezcla a pH 5 y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (20 ml x 5). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de sodio, el disolvente se separó y el residuo se purificó con prep-HPLC (columna: Diasogel C18 250x50 mm, 10 μm; eluyente: ACN-H₂O=50-80, ácido fórmico al 0,1 %) para dar ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico como un sólido blanco (590 mg).

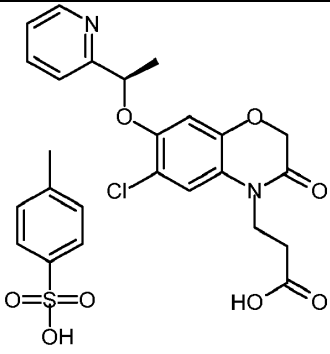
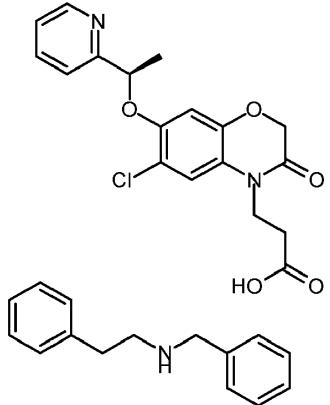
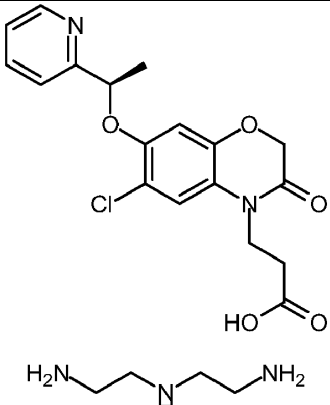
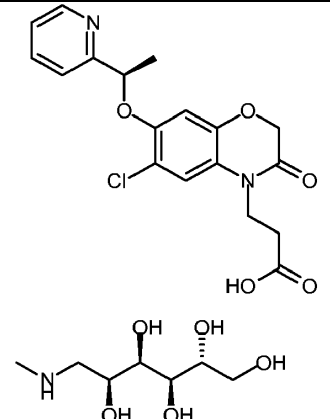
LCMS: tR 1,60 min, MH⁺ 425/427;

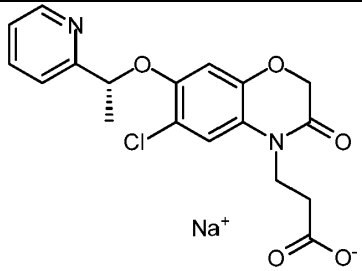
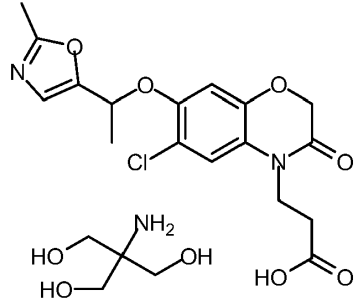
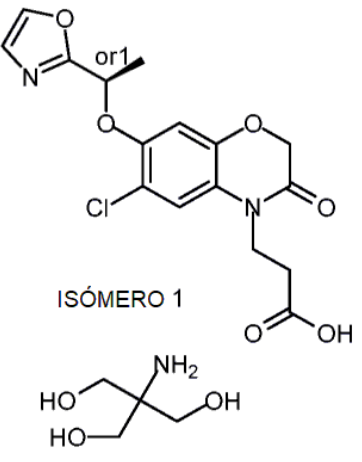
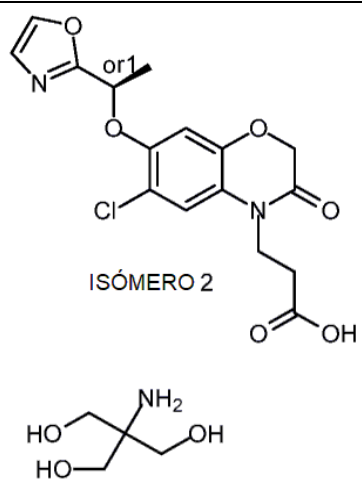
¹H NMR (300 MHz, CD₃OD) δ 8,54 (d, J=2,4 Hz, 1H), 7,83 (dd, J=8,4, 2,5 Hz, 1H), 7,46 (d, J=8,5 Hz, 1H), 7,27 (s, 1H), 6,52 (s, 1H), 5,27-5,16 (m, 1H), 4,51 (d, J=1,5 Hz, 2H), 4,20-4,09 (m, 2H), 2,66-2,54 (m, 2H), 2,04 (dd, J=13,0, 5,9 Hz, 2H), 1,03 (t, J=7,4 Hz, 3H).

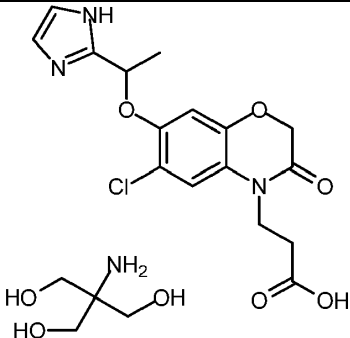
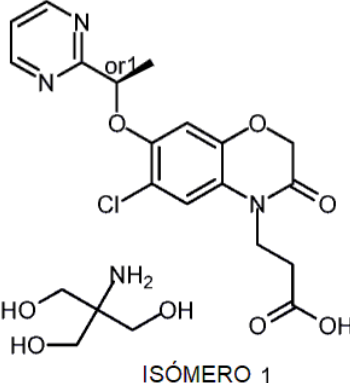
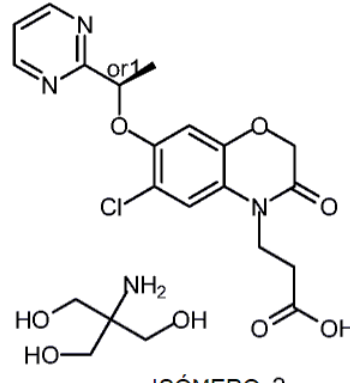
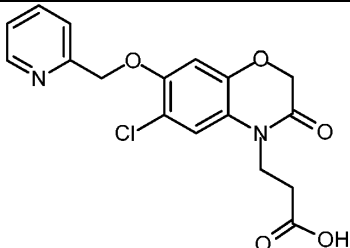
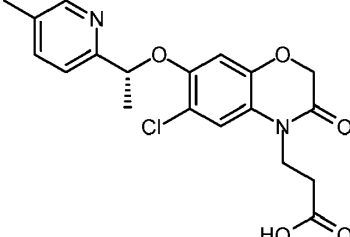
Los Ejemplos 2-30 se prepararon básicamente según el Esquema de Reacción 1 usando 3-(6-cloro-7-hidroxi-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoato de metilo y el alcohol o el mesilato apropiados, los cuales pueden estar comercialmente disponibles o prepararse básicamente según los Esquemas de Reacción 2, 3, 4 o 5.

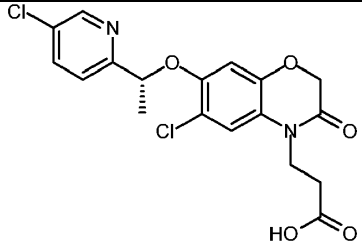
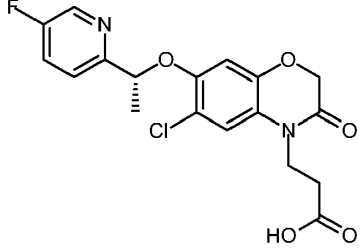
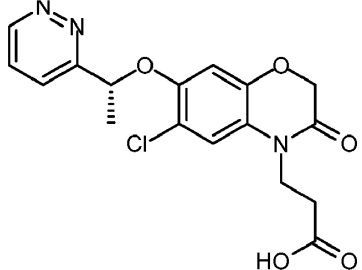
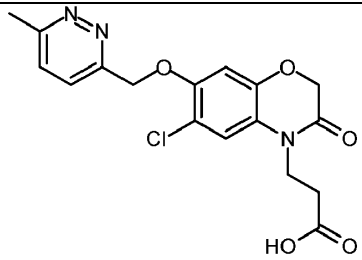
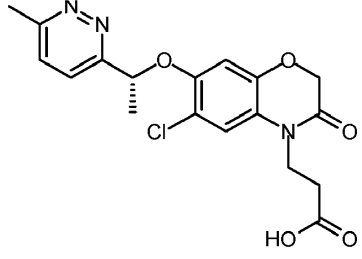
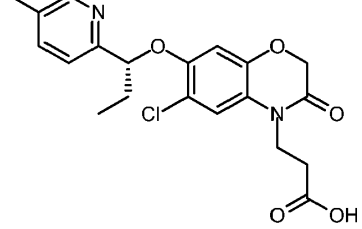
N.º de Ejemplo	Nombre	Estructura	Identidad ion + molecular	Tiempo de retención (min)
2	2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		377 (MH ⁺)	1,37
2a	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		377 (MH ⁺)	1,35
2b	clorhidrato de ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		377 (MH ⁺)	1,36
2c	ácido (2S)-2-amino-5-carbamimidamido pentanoico; ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		377 (MH ⁺)	1,36

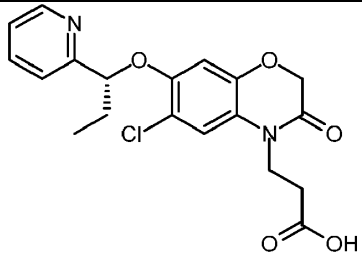
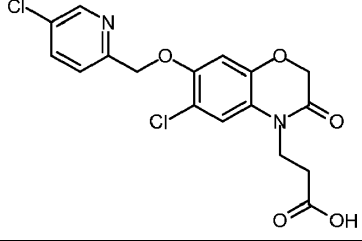
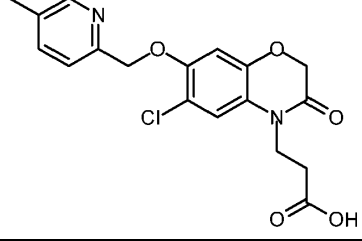
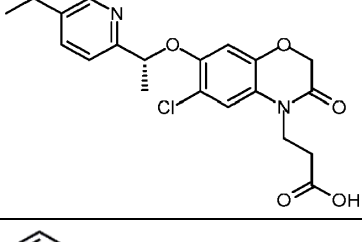
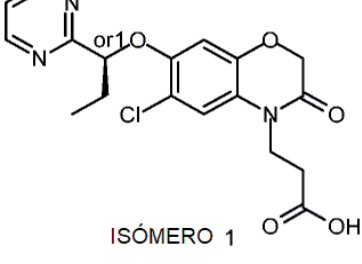
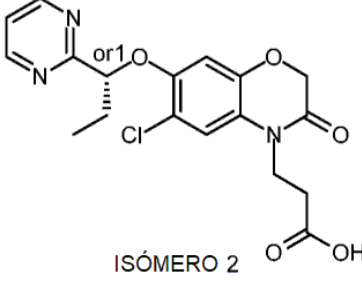
2d	ácido (2S)-2,6-diaminohexanoico; ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		377 (MH ⁺)	1,36
2e	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; bencil[2-(bencilamino)etil]amina		377 (MH ⁺)	1,36
2f	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; ácido sulfúrico		377 (MH ⁺)	1,45
2g	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; ácido metanosulfónico		377 (MH ⁺)	1,46

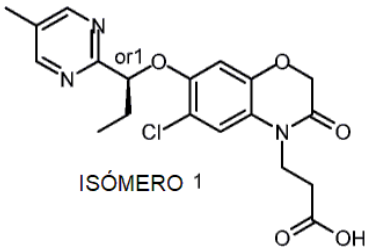
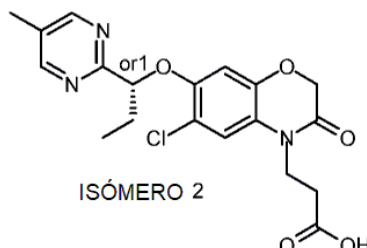
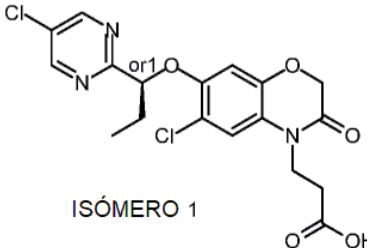
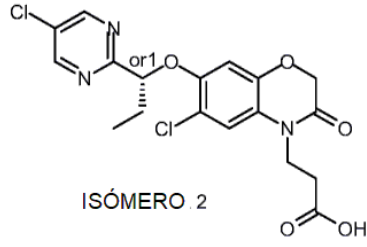
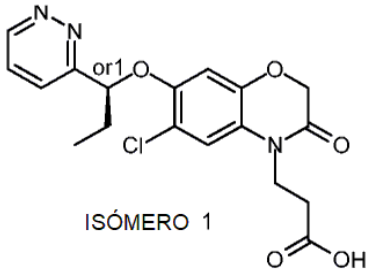
2h	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; ácido 4-metilbenceno-1-sulfónico		377 (MH ⁺)	1,28
2i	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; bencil(2-feniletíl)amina		377 (MH ⁺)	1,36
2j	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico; bis(2-aminoetil)amina		377 (MH ⁺)	1,37
2k	(2R,3R,4R,5S)-6-(metilamino)hexano-1,2,3,4,5-pentol; ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		377 (MH ⁺)	1,36

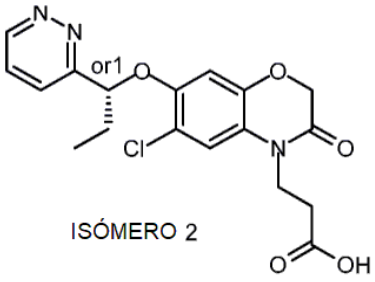
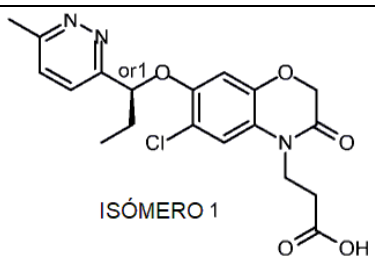
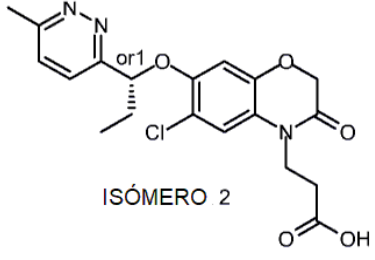
2l	3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoato de sodio		377 (MH ⁺)	1,36
3	2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido 3-{6-cloro-7-[1-(2-metil-1,3-oxazol-5-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - racemato		381/383 (MH ⁺)	1,35
4	2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido 3-{6-cloro-7-[1-(1,3-oxazol-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo		367/369 (MH ⁺)	1,43
5	2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido 3-{6-cloro-7-[1-(1,3-oxazol-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo		367/369 (MH ⁺)	1,43

6	2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido 3-{6-cloro-7-[1-(1H-imidazol-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - racemato		366 (MH ⁺)	1,18
7	2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo	 ISÓMERO 1	378 (MH ⁺)	1,32
8	2-amino-2-(hidroximetil)propano-1,3-diol; ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo	 ISÓMERO 2	378 (MH ⁺)	1,32
9	ácido 3-[6-cloro-3-oxo-7-(piridin-2-ilmetoxi)-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il]propanoico		363/365 (MH ⁺)	1,31
10	ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-metilpiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		391 (MH ⁺)	1,40

11	ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-cloropiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		411 (MH ⁺)	1,58
12	ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-fluoropiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		395 (MH ⁺)	1,45
13	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridazin-3-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		378/380 (MH ⁺)	1,28
14	ácido 3-{6-cloro-7-[(6-metilpiridazin-3-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		378 (MH ⁺)	1,49
15	ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(6-metilpiridazin-3-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		392 (MH ⁺)	1,29
16	ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-metilpiridin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		405 (MH ⁺)	1,48

17	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[(1R)-1-(piridin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		391 (MH ⁺)	1,44
18	ácido 3-{6-cloro-7-[(5-cloropiridin-2-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		397/399 (MH ⁺)	1,49
19	ácido 3-{6-cloro-7-[(5-metilpiridin-2-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		377/379 (MH ⁺)	1,35
20	ácido 3-{6-cloro-7-[(1R)-1-(5-etilpiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico		405 (MH ⁺)	1,48
21	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo		392/394 (MH ⁺)	1,37
22	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo		392/394 (MH ⁺)	1,37

23	ácido 3-{6-cloro-7-[1-(5-metilpirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo	 ISÓMERO 1	406/408 (MH ⁺)	1,44
24	ácido 3-{6-cloro-7-[1-(5-metilpirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo	 ISÓMERO 2	406/408 (MH ⁺)	1,44
25	ácido 3-{6-cloro-7-[1-(5-cloropirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo	 ISÓMERO 1	426/428 (MH ⁺)	1,50
26	ácido 3-{6-cloro-7-[1-(5-cloropirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo	 ISÓMERO 2	426/428 (MH ⁺)	1,53
27	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridazin-3-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo	 ISÓMERO 1	392 (MH ⁺)	1,33

28	ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridazin-3-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo	 ISÓMERO 2	392 (MH ⁺)	1,33
29	ácido 3-{6-cloro-7-[1-(6-metilpiridazin-3-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo	 ISÓMERO 1	406 (MH ⁺)	1,37
30	ácido 3-{6-cloro-7-[1-(6-metilpiridazin-3-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico - enantiómero no identificado sencillo	 ISÓMERO 2	406 (MH ⁺)	1,37

Métodos de uso

Ciertos compuestos de la invención son inhibidores de KMO. Los compuestos que inhiben KMO pueden ser útiles en el tratamiento de diversas afecciones o trastornos mediados por KMO, por ejemplo, pancreatitis aguda, enfermedad renal crónica, enfermedad renal aguda, lesión renal aguda, otras afecciones asociadas con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, ataxias espinocerebelosas, enfermedad de Parkinson, complejo de demencia asociada al SIDA, infección de VIH, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), depresión, esquizofrenia, sepsis, choque cardiovascular, trauma grave, lesión pulmonar aguda, síndrome de dificultad respiratoria aguda, coleocistitis aguda, quemaduras graves, neumonía, procedimientos quirúrgicos prolongados, enfermedad intestinal isquémica, enfermedad hepática aguda grave, encefalopatía hepática aguda grave o insuficiencia renal aguda.

Afecciones o trastornos adicionales incluyen enfermedades hiperproliferativas de comportamiento benigno o maligno, en las cuales las células de diversos tejidos y órganos presentan patrones aberrantes de crecimiento, proliferación, migración, señalización, senescencia y muerte. Generalmente la enfermedad hiperproliferativa se refiere a enfermedades y trastornos asociados con la proliferación descontrolada de las células, incluyendo pero no limitándose a crecimiento descontrolado de órgano y células tisulares dando como resultado cánceres y tumores benignos. Los trastornos hiperproliferativos asociados con células endoteliales pueden dar como resultado enfermedades de angiogénesis tales como angiomas, endometriosis, obesidad, degeneración macular relacionada con la edad y diversas retinopatías, así como la proliferación de EC y células del músculo liso que causan restenosis como consecuencia de la colocación de stent en el tratamiento de aterosclerosis. Los trastornos hiperproliferativos que implican a los fibroblastos (es decir, fibrogénesis) incluyen pero no se limitan a trastornos de cicatrización excesiva (es decir, fibrosis) tal como degeneración macular relacionada con la edad, remodelación cardíaca e insuficiencia asociada con el infarto de miocardio, curación excesiva de herida tal como normalmente ocurre como consecuencia de cirugía o lesión, queloides, y tumores fibroides y colocación de stent.

Tales afecciones o trastornos adicionales incluyen rechazo de trasplante (supresión de linfocitos T) e injerto frente a enfermedad del hospedador, trastornos inflamatorios sistémicos, trastornos inflamatorios del cerebro incluyendo malaria y tripanosomiasis africana, y meningitis neumocócica.

Tales afecciones o trastornos adicionales incluyen cirrosis, pancreatitis crónica, fibrosis de hígado, fibrosis pulmonar y lesión por isquemia-reperfusión.

Tales afecciones o trastornos adicionales incluyen, por ejemplo, enfermedades neurodegenerativas, enfermedades o trastornos psiquiátricos o neurológicos, enfermedad de Creutzfeld-Jacob, neurodegeneración inducida por trauma, síndrome neurológico por alta presión, distonía, atrofia olivopontocerebelosa, esclerosis múltiple, epilepsia, consecuencias de la apoplejía, isquemia cerebral, trastornos isquémicos incluyendo apoplejía (isquemia focal), hipoxia, demencia multi-infarto, consecuencias del trauma o daño cerebral, daño a la médula espinal, demencia tal como demencia senil, encefalopatía inducida por SIDA, otra encefalopatía relacionada con infección, meningitis bacteriana o viral, enfermedades infecciosas causadas por virus, bacterias y otros parásitos, (por ejemplo, infecciones generales del sistema nervioso central (SNC) tales como infección viral, bacteriana o parasitaria, por ejemplo, poliomieltitis, enfermedad de Lyme (infección de *Borrelia burgdorferi*)) choque séptico, y cánceres, cánceres con localización cerebral, encefalopatía hepática, lupus sistémico, síntomas de abstinencia de analgesia y opiáceos, comportamiento alimentario, trastornos psiquiátricos, tales como insomnio, déficit grave en el funcionamiento de la memoria, déficit grave en el almacenamiento de la memoria a largo plazo, descenso cognitivo, déficit de atención grave, déficit grave en el funcionamiento ejecutivo, lentitud en el procesamiento de la información, lentitud en la actividad neural, ansiedad, trastornos de ansiedad generalizada, ataques de pánico, trastornos obsesivos compulsivos, fobia social, ansiedad de ejecución, trastorno del estrés postraumático, reacción aguda al estrés, reacción a la adaptación, trastorno de ansiedad de separación, ansiedad por abstinencia de alcohol, trastornos depresivos, trastornos del desarrollo o cerebro envejecido, diabetes, y sus complicaciones, síndrome de Tourette, síndrome de X Frágil, trastornos del espectro del autismo, trastornos que causan deterioro grave y generalizado en el sentido del pensamiento, lenguaje y la capacidad de relacionarse con otros, trastornos del estado de ánimo, trastornos psicológicos caracterizados por anomalías del estado emocional, tales como, sin limitación, trastorno bipolar, depresión unipolar, gran depresión, depresión endógena, depresión involutiva, depresión reactiva, depresión psicótica, depresión causada por enfermedades subyacentes, trastornos ciclotímicos, trastornos distímicos, trastornos del estado de ánimo debidos a la enfermedad general, trastornos del estado de ánimo no de otro modo especificados y trastornos del estado de ánimo inducidos por sustancias.

Tales afecciones o trastornos adicionales también incluyen, por ejemplo, pancreatitis necrotizante aguda, SIDA (enfermedad), meningitis aséptica, enfermedad del cerebro, por ejemplo, síndrome de Gilles de la Tourette, síndrome de Asperger, síndrome de Rett, trastornos generalizados del desarrollo, enfermedad del cerebro relacionada con el envejecimiento, y enfermedad del cerebro del desarrollo, síndrome del degaste, envenenamiento por monóxido de carbono, paro o insuficiencia cardíaca y choque hemorrágico (isquemia cerebral global), formación de cataratas y envejecimiento del ojo, enfermedad del sistema nervioso central, enfermedad cerebrovascular, síndrome de la fatiga crónica, estrés crónico, trastornos cognitivos, trastornos convulsivos, tales como variantes de epilepsia de grand mal o petit mal y Epilepsia Compleja Parcial, diabetes mellitus, enfermedad del sistema nervioso (por ejemplo, disquinesia, trastornos del movimiento inducido por L-DOPA, adicción a droga, dolor y catarata), dependencia de droga, abstinencia de droga, trastornos alimentarios, Síndrome de Guillain Barr y otras neuropatías, enfermedad inmune, trastornos inmunitarios y tratamiento terapéutico dirigido a modificar las respuestas biológicas (por ejemplo, administraciones de interferones o interleuquinas), enfermedades inflamatorias del sistema nervioso central y/o periférico, lesión (trauma, politrauma), trastornos mentales y de comportamiento, enfermedad metabólica, enfermedad de dolor, o trastorno seleccionado de un grupo de dolor inflamatorio, dolor neuropático o migraña, alodinia, dolor hiperalgesia, dolor fantasma, dolor neuropático relacionado con neuropatía diabética, insuficiencia orgánica múltiple, casi ahogamiento, necrosis, neoplasmas del cerebro, trastornos neoplásicos incluyendo linfomas y otros trastornos de sangre malignos, enfermedad del sistema nervioso (síndrome neurológico de alta presión, infección), adicción a la nicotina y otros trastornos adictivos incluyendo alcoholismo, dependencia al cannabis, benzodiazepina, barbitúricos, morfina y cocaína, cambio en el apetito, trastornos del sueño, cambios en el patrón del sueño, falta de energía, fatiga, baja autoestima, culpa injustificada autorreproche, pensamientos frecuentes de muerte o suicidio, planes o intentos de cometer suicidio, sentimientos de desesperanza e inutilidad, agitación o retardo psicomotor, capacidad disminuida de pensamiento, concentración o decisión, como un agente neuroprotector, enfermedad de la médula espinal, lupus eritematoso sistémico, daño traumático al cerebro y la médula espinal, y síndromes de temblor, escaso equilibrio, bradicinesia, rigidez, temblor, cambio en el habla, pérdida de expresión facial, micrografía, dificultad al tragar, babear, confusión, temor, disfunción sexual, deterioro del lenguaje, deterioro en la realización de decisiones, arrebatos violentos, agresión, alucinación, apatía, deterioro en el pensamiento abstracto.

Tales afecciones o trastornos adicionales también incluyen, por ejemplo, enfermedades cardiovasculares, las cuales se refieren a enfermedades y trastornos del corazón y el sistema circulatorio. Estas enfermedades con frecuencia están asociadas a dislipoproteinemias y/o dislipidemias. Los trastornos cardiovasculares incluyen, pero no se limitan a, cardiomegalia, aterosclerosis, infarto de miocardio, e insuficiencia cardíaca congestiva, enfermedad coronaria del corazón, hipertensión e hipotensión.

En particular, tales afecciones o trastornos incluyen afecciones o trastornos en los que se han correlacionado los niveles elevados de metabolitos de triptófano con la gravedad de la enfermedad y la escasa prognosis, incluyendo choque, trauma en pacientes con insuficiencia orgánica múltiple, pancreatitis aguda grave y enfermedad renal crónica (Logters, T.T., et al. (2009) *Shock* 32: 29-34, Dabrowski et al (2014) *Inflammation* 37: 223-234, Changsirivathanathamrong et al (2011) *Critical Care Medicine* 39: 2.678-2.683, Mole, D.J., et al.(2008) *Br. J. Surg.* 95: 855-867, Zhao (2013) *Renal Failure* 35: 648-653, Pawlak, K. et al (2009) *Blood Coagulation and Fibrinolysis* 20: 590-594, Kabayashi, T. et al (2014) *Biochemical and Biophysical Research Communications* 445: 412-416).

Los métodos de tratamiento revelados en la presente memoria comprenden administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos, a un paciente en necesidad del mismo. Realizaciones individuales de la invención incluyen métodos de tratamiento de uno cualquiera de los trastornos anteriormente mencionados administrando una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, a un paciente en necesidad del mismo.

Como se usa en la presente memoria, “tratar” o “tratamiento” en referencia a un trastorno significa: (1) mejorar o prevenir el trastorno o una o más de las manifestaciones biológicas del trastorno, (2) interferir con (a): uno o más puntos en la cascada biológica que conduce a o es responsable del trastorno, o (b): una o más de las manifestaciones biológicas del trastorno, (3) mejorar uno o más de los síntomas o efectos asociados con el trastorno, o (4) frenar la progresión del trastorno o una o más de las manifestaciones biológicas del trastorno.

Como se ha indicado anteriormente, “tratamiento” de un trastorno incluye prevención o profilaxis del trastorno. Se apreciará que “prevención” no es un término absoluto. En medicina, “prevención” se entiende que se refiere a la administración profiláctica de un fármaco para disminuir básicamente la probabilidad o la gravedad de un trastorno o manifestación biológica del mismo, o para retrasar la aparición de dicho trastorno o manifestación biológica del mismo.

Como se usa en la presente memoria, “cantidad eficaz” en referencia a un compuesto de fórmula (I), o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, u otro principio farmacéuticamente activo significa una cantidad del compuesto suficiente para tratar la afección del paciente dentro del alcance del firme criterio médico. Una cantidad eficaz de un compuesto variará con el compuesto particular elegido (por ejemplo, se tendrán en cuenta la potencia, eficacia, y semivida del compuesto); la ruta de administración elegida; el trastorno a tratar; la gravedad del trastorno a tratar; la edad, tamaño, peso, y condición física del paciente a tratar; el historial médico del paciente a tratar; la duración del tratamiento; la naturaleza de la terapia concurrente; el efecto terapéutico deseado; y factores similares, pero no obstante pueden ser determinados de forma rutinaria por los expertos.

Como se usa en la presente memoria “paciente” se refiere a un ser humano (incluyendo adultos y niños) u otros mamíferos. En una realización, “paciente” se refiere a un ser humano.

También se revela un método para el tratamiento de una afección o trastorno mediado por KMO (tal como los trastornos anteriormente mencionados), cuyo método comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

También se revela un método para el tratamiento de pancreatitis aguda, enfermedad renal crónica, enfermedad renal aguda, lesión renal aguda, otras afecciones asociadas con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, ataxias espinocerebelosas, enfermedad de Parkinson, complejo de demencia asociada a SIDA, infección de VIH, esclerosis lateral amiotrófica, depresión, esquizofrenia, sepsis, choque cardiovascular, trauma grave, lesión pulmonar aguda, síndrome de dificultad respiratoria aguda, coleocistitis aguda, quemaduras graves, neumonía, procedimientos quirúrgicos prolongados, enfermedad intestinal isquémica, enfermedad hepática aguda grave, encefalopatía hepática aguda grave o insuficiencia renal aguda, cuyo método comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

También se revela un método para el tratamiento de pancreatitis aguda, cuyo método comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

También se revela un método para el tratamiento de la enfermedad renal crónica, cuyo método comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente eficaz del mismo.

También se revela un método para el tratamiento de pancreatitis aguda, cuyo método comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

También se revela un método para el tratamiento de la enfermedad renal crónica, cuyo método comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad terapéuticamente eficaz de ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

En un aspecto adicional, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en terapia.

En una realización, se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de una afección o trastorno mediado por KMO.

- En una realización se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de pancreatitis aguda, enfermedad renal crónica, enfermedad renal aguda, lesión renal aguda, otras afecciones asociadas con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, ataxias espinocerebelosas, enfermedad de Parkinson, complejo de demencia asociada a SIDA, infección de VIH, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), depresión, esquizofrenia, sepsis, choque cardiovascular, trauma grave, lesión pulmonar aguda, síndrome de dificultad respiratoria aguda, coleocistitis aguda, quemaduras graves, neumonía, procedimientos quirúrgicos prolongados, enfermedad intestinal isquémica, enfermedad hepática aguda grave, encefalopatía hepática aguda grave o insuficiencia renal aguda.
- En una realización se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de pancreatitis aguda.
- En una realización se proporciona un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la enfermedad renal crónica.
- En una realización se proporciona ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de pancreatitis aguda.
- En una realización se proporciona ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para su uso en el tratamiento de la enfermedad renal crónica.
- También se revela el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una afección o trastorno mediado por KMO.
- También se revela el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de pancreatitis aguda, enfermedad renal crónica, enfermedad renal aguda, lesión renal aguda, otras afecciones asociadas con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, ataxias espinocerebelosas, enfermedad de Parkinson, complejo de demencia asociada a SIDA, infección de VIH, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), depresión, esquizofrenia, sepsis, choque cardiovascular, trauma grave, lesión pulmonar aguda, síndrome de dificultad respiratoria aguda, coleocistitis aguda, quemaduras graves, neumonía, procedimientos quirúrgicos prolongados, enfermedad intestinal isquémica, enfermedad hepática aguda grave, encefalopatía hepática aguda grave o insuficiencia renal aguda.
- También se revela el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de pancreatitis aguda.
- También se revela el uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de la enfermedad renal crónica.
- También se revela el uso de ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de pancreatitis aguda.
- También se revela el uso de ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo en la fabricación de un medicamento para su uso en el tratamiento de la enfermedad renal crónica.
- Un compuesto particular de la invención para su uso en los métodos anteriormente mencionados de tratamiento es el ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Composiciones

- Los compuestos de la invención se formularán normalmente, pero no necesariamente, en composiciones farmacéuticas antes de la administración a un paciente. Por consiguiente, en otro aspecto, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. La composición farmacéutica de la invención, la cual se puede preparar por mezcla, adecuadamente a temperatura ambiente y presión atmosférica, se adapta normalmente para administración oral, parenteral o rectal y, así, puede estar en forma de comprimidos, cápsulas, preparaciones líquidas orales, polvos, gránulos, pastillas para chupar, polvos que se pueden rehidratar, soluciones inyectables o infundidas o suspensiones o supositorios.

Excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados variarán dependiendo de la forma farmacéutica particular elegida. Además, se pueden elegir excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados para una función particular que pueden servir en la composición. Por ejemplo, se pueden elegir ciertos excipientes farmacéuticamente

aceptables por su capacidad de facilitar la producción de formas farmacéuticas uniformes. Se pueden elegir ciertos excipientes farmacéuticamente aceptables por su capacidad de facilitar la producción de formas farmacéuticas estables. Se pueden elegir ciertos excipientes farmacéuticamente aceptables por su capacidad de facilitar el soporte o el transporte del compuesto o compuestos de fórmula (I) o sales farmacéuticamente aceptables de los mismos una vez que se administra al paciente desde un órgano, o parte del cuerpo, a otro órgano, o parte del cuerpo. Se pueden elegir ciertos excipientes farmacéuticamente aceptables por su capacidad de aumentar el cumplimiento del paciente.

Excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados incluyen los siguientes tipos de excipientes: diluyentes, rellenos, aglutinantes, desintegrantes, lubricantes, deslizantes, agentes granuladores, agentes de revestimiento, agentes humectantes, disolventes, codisolventes, agentes de suspensión, emulsionantes, edulcorantes, agentes aromatizantes, agentes enmascarantes del sabor, agentes colorantes, agentes antiaglomerantes, humectantes, agentes quelantes, plastificantes, agentes incrementadores de la viscosidad, antioxidantes, conservantes, estabilizantes, tensioactivos, y agentes tampón. El experto apreciará que ciertos excipientes farmacéuticamente aceptables pueden servir a más de una función y pueden servir a funciones alternativas dependiendo de cuánto del excipiente está presente en la formulación y qué otros excipientes están presentes en la formulación.

Los expertos en la técnica poseen el conocimiento y la habilidad en la técnica para permitirlos seleccionar los excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados en cantidades apropiadas para su uso en la invención. Además, hay un número de recursos que están disponibles para el experto en la técnica que describen excipientes farmacéuticamente aceptables y pueden ser útiles en la selección de excipientes farmacéuticamente aceptables adecuados. Ejemplos incluyen "Remington's Pharmaceutical Sciences" (Mack Publishing Company), "The Handbook of Pharmaceutical Additives" (Gower Publishing Limited), y "The Handbook of Pharmaceutical Excipients" (American Pharmaceutical Association y Pharmaceutical Press).

Las composiciones farmacéuticas de la invención se preparan usando técnicas y métodos conocidos por los expertos en la técnica. Algunos de los métodos comúnmente usados en la técnica se describen en "Remington's Pharmaceutical Sciences" (Mack Publishing Company).

La composición farmacéutica de la invención, la cual se puede preparar por mezcla, adecuadamente a temperatura ambiente y presión atmosférica, normalmente está adaptada para la administración oral, parenteral o rectal y, así, puede estar en forma de comprimidos, cápsulas, preparaciones líquidas orales, polvos, gránulos, pastillas para chupar, polvos que se pueden rehidratar, soluciones inyectables o infundidas o suspensiones o supositorios.

La composición farmacéutica de la invención puede contener de 0,1 % a 99 % en peso, del material activo, dependiendo del método de administración. La dosis del compuesto usado en el tratamiento de las afecciones anteriormente mencionadas o trastornos variarán de la manera usual con la gravedad de las afecciones o los trastornos, el peso del sujeto, y otros factores similares. Sin embargo, como dosis unitaria adecuada guía general puede ser de 0,05 a 5.000 mg, 1,0 a 500 mg o 1,0 a 200 mg y dicha dosis unitaria se puede administrar más de una vez al día, por ejemplo, dos o tres veces al día. Tal terapia se puede ampliar durante un número de semanas, meses o años.

En una realización se prefieren las soluciones inyectables o infundidas, o los polvos que se pueden rehidratar.

En una realización, se prefiere una composición adaptada para la formulación oral.

Los comprimidos y las cápsulas para la administración oral pueden estar en forma farmacéutica de dosis unitaria, y pueden contener excipientes convencionales, tales como agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón de maíz pregelatinizado, polivinilpirrolidona o hidroxipropilmetilcelulosa); rellenos (por ejemplo, lactosa, celulosa microcristalina o hidrogenofosfato de calcio); lubricantes de formación de comprimido (por ejemplo, estearato de magnesio, talco o sílice); desintegrantes (por ejemplo, almidón de patata o almidón glicolato sódico); y agentes humectantes aceptables (por ejemplo, lauril sulfato sódico). Los comprimidos se pueden revestir según los métodos bien conocidos en la práctica farmacéutica normal.

Las preparaciones líquidas orales pueden estar en la forma de, por ejemplo, suspensión acuosa o aceitosa, soluciones, emulsiones, jarabes o elixires, o pueden estar en la forma de un producto seco para la rehidratación con agua u otro vehículo adecuado antes de su uso. Tales preparaciones líquidas pueden contener aditivos convencionales tales como agentes de suspensión (por ejemplo, jarabe de sorbitol, derivados de celulosa o grasas comestibles hidrogenadas), agentes emulsionantes (por ejemplo, lecitina o acacia), vehículos no acuosos (lo cuales pueden incluir aceites comestibles, por ejemplo, aceite de almendra, ésteres aceitosos, alcohol etílico o aceites vegetales fraccionados), conservantes (por ejemplo, metil o propil-p-hidroxibenzoatos o ácido sórbico), y, si se desea, aromatizantes o colorantes convencionales, sales tampón y agentes edulcorantes como sea apropiado. Las preparaciones para la administración oral se pueden formular adecuadamente para dar liberación controlada del compuesto activo.

Para la administración parenteral, las formas farmacéuticas de dosis unitaria fluidas se preparan utilizando un compuesto de la invención o sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo estéril. Las formulaciones para la inyección se pueden presentar en forma farmacéutica de dosis unitaria, por ejemplo, en ampollas o en multidosis, utilizando un compuesto de la invención o sal farmacéuticamente aceptable del mismo y un vehículo

- estéril, opcionalmente con un conservante añadido. Las composiciones pueden tomar tales formas como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos aceitosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el principio activo puede estar en forma de polvo para su constitución con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua sin pirógeno estéril, antes de su uso. El compuesto, dependiendo del vehículo y la concentración usada, puede estar o bien suspendido o disuelto en el vehículo. En soluciones de preparación, el compuesto se puede disolver para inyección y se esteriliza por filtro antes de rellenar en un vial o ampolla adecuados y sellar. De manera ventajosa, los adyuvantes tales como anestésicos locales, conservantes y agentes tampón se disuelven en el vehículo. Para aumentar la estabilidad, la composición se puede congelar después de rellenar en el vial y el agua se separa bajo vacío. Las suspensiones parenterales se preparan básicamente de la misma manera, excepto que el compuesto está suspendido en el vehículo en lugar de estar disuelto, y la esterilización no se puede llevar a cabo por filtración. El compuesto se puede esterilizar por exposición a óxido de etileno antes de la suspensión en un vehículo estéril. De manera ventajosa, se incluye un tensioactivo o agente humectante en la composición para facilitar la distribución uniforme del compuesto.
- Se pueden formular lociones con una base acuosa o aceitosa y en general también contendrán uno o más agentes emulsionantes, agentes estabilizantes, agentes dispersantes, agentes de suspensión, agentes espesantes, o agentes colorantes. Se pueden formular gotas con una base acuosa o no acuosa comprendiendo también uno o más agentes dispersantes, agentes estabilizantes, agentes solubilizantes o agentes de suspensión. También pueden contener un conservante.
- Los compuestos de la invención también se pueden formular en composiciones rectales tales como supositorios o enemas de retención, por ejemplo, conteniendo bases de supositorio convencionales tales como manteca de cacao u otros glicéridos.
- Los compuestos de la invención también se pueden formular como preparaciones ("depot") de liberación prolongada. Tales formulaciones de larga actuación se pueden administrar por implantación (por ejemplo, subcutáneamente o intramuscularmente) o por inyección intramuscular. Por tanto, por ejemplo, los compuestos de la invención se pueden formular con materiales poliméricos o hidrófobos adecuados (por ejemplo, como una emulsión en un aceite aceptable) o resinas de intercambio iónico, o como derivados moderadamente solubles, por ejemplo, como una sal moderadamente soluble.
- Para la administración intranasal, los compuestos de la invención se pueden formular como soluciones para la administración por un dispositivo adecuado de dosis medida o unitaria o alternativamente como una mezcla en polvo con un portador adecuado para la administración usando un dispositivo de administración adecuado. Por tanto, los compuestos de fórmula (I) se pueden formular para la administración oral, bucal, parenteral, tópica (incluyendo oftálmica y nasal), administración de liberación prolongada o rectal o en una forma adecuada para la administración por inhalación o insuflación (a través de la boca o la nariz).
- Los compuestos de la invención se pueden formular para la administración tópica en forma de pomadas, cremas, geles, lociones, pesarios, aerosoles o gotas (por ejemplo, gotas de ojos, oído o nariz). Las pomadas y las cremas, por ejemplo, se pueden formular con una base acuosa o aceitosa con la adición de agentes espesantes y/o gelificantes adecuados. Las pomadas para la administración al ojo se pueden fabricar de una manera estéril usando componentes esterilizados.
- La invención proporciona una composición farmacéutica para su uso en el tratamiento de pancreatitis aguda, enfermedad renal crónica, enfermedad renal aguda, lesión renal aguda, otras afecciones asociadas con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, ataxias espinocerebelosas, enfermedad de Parkinson, complejo de demencia asociada a SIDA, infección de VIH, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), depresión, esquizofrenia, sepsis, choque cardiovascular, trauma grave, lesión pulmonar aguda, síndrome de dificultad respiratoria aguda, colecistitis aguda, quemaduras graves, neumonía, procedimientos quirúrgicos prolongados, enfermedad intestinal isquémica, enfermedad hepática aguda grave, encefalopatía hepática aguda grave o insuficiencia renal aguda la cual comprende un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo y uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.

Datos biológicos

- La inhibición de KMO se puede determinar por el ensayo MS Rapidfire realizado sobre la enzima clonada humana como se describe en la presente memoria. Los compuestos de fórmula (I) han demostrado actividad inhibidora en la enzima KMO, usando el ensayo funcional MS Rapidfire descrito en la presente memoria, o un ensayo básicamente similar.

Protocolo del ensayo MS Rapidfire de KMO

Materiales y métodos

Materiales

- 5 L-Quinurenina (Kyn), 3-hidroxi-DL-quinurenina (3-HK), sal hidrato de tetrasodio reducida con β -Nicotinamida adenina dinucleótido 2'-fosfato (NADPH), ácido 4-(2-hidroxi-etil)piperazin-1-etanosulfónico (HEPES), DL-ditiotreitol (DTT), ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), CHAPS y ácido trifluoroacético (TFA) se compraron a Sigma-Aldrich Ltd. (Gillingham, Dorset, GB). El acetonitrilo de grado HPLC y el ácido fórmico fueron suministrados por Fisher Scientific (Loughborough, GB).

Clonación y expresión de KMO humana

- 10 Se amplificó KMO humana de longitud completa por PCR a partir de pcDNA5/FRT/V5-His-TOPO/hKMO (vector suministrado por la Universidad de Edimburgo) y se clonó en pGEX6P-1 (GE Healthcare) usando los sitios de restricción BamH1 y Sal1. El ADN que codifica la etiqueta de Glutación-S-transferasa (GST) N-terminal, seguido por un sitio de escisión de proteasa Pre-Scission, y la KMO de longitud completa se amplificó por PCR a partir de pGEX6P-1-KMO y se clonó en pFastbac1 (Invitrogen) usando los sitios de restricción Xba1 y EcoR1.
- 15 pFastbac1 GST-KMO se sometió a transposición en el genoma del baculovirus usando la tecnología BAC-a-BAC (Invitrogen) y se preparó el ADN bácmido y se sometió a transfección en células de *Spodoptera frugiperda* (Sf9) usando Cellfectin II (Invitrogen). La expresión de una proteína del peso molecular esperado (Mr 82.634) se vio por análisis por transferencia Western usando anti-conjugado GST-peroxidasa.

Preparación de membranas a partir de células Sf9 que expresan GST-KMO humano

- 20 Se generó una reserva de virus P1 a partir de un clon sencillo y se usó para infectar 3x 1,5 l de cultivos de células Sf9 en matraces Corning Fernbach de 3 l. Las células Sf9 se cultivaron en medios Hyclone SFX (Thermo Scientific) a aproximadamente 3×10^6 células/ml y se infectaron a una multiplicidad nominal de infección de 3. Se recogieron las células después de 48 horas y se alteraron mezclando en HEPES 50 mM, pH 7,4, tampón EDTA 1 mM que contenía inhibidores de proteasa. Se usó una centrifuga a baja velocidad (400 g) para separar los restos celulares, seguido de
- 25 una centrifuga a alta velocidad (75.000 g) para sedimentar las membranas. Las membranas se purificaron en un gradiente de densidad de sacarosa discontinuo por resuspensión en sacarosa al 10 % (p/v) y formando capas sobre sacarosa al 40 % (p/v), ambos en el tampón anterior. Esto se centrifugó a 150.000 g y las membranas purificadas se tomaron de la interfaz, se recogieron por centrifugación a 100.000 g, se resuspendieron en tampón y se pusieron en alícuotas para almacenamiento a -80 °C. Se encontró que la actividad de KMO está asociada con la fracción de
- 30 membrana solamente y no se detectó actividad de KMO en membranas preparadas a partir de células Sf9 no infectadas. Un lote de 104 mg de KMO-membranas de Sf9 purificadas (determinadas por el ensayo de proteína BCA Pierce usando albúmina bovina de suero como patrón) se preparó y se validó en el ensayo de espectrometría de masas de alta resolución RapidFire (RF MS).

Ensayo de espectrometría de masas de alta resolución RapidFire

- 35 Método 1

Se prepararon diluciones en serie triple, 11 puntos de los compuestos de ensayo en DMSO y 100 nl de estas soluciones se repartieron en placas de polipropileno de base en V de 384 pocillos (Greiner Bio-one Stonehouse, GB) usando un dispensador acústico Echo 555 (Labcyte, Sunnyvale, CA). Esto dio un intervalo de concentración de ensayo entre 100 μ M y 1,7 nM en 10 μ l de volumen de ensayo final (véase más adelante). 100 nl de DMSO se

40 repartieron en las columnas 6 y 18 para los controles alto y bajo, respectivamente, con inactivación anterior de la enzima en la columna 18 por reparto previo de 30 μ l de TFA al 0,5 % (v/v).

Las condiciones para el ensayo de KMO humana usando KMO-membranas aisladas era HEPES 50 mM, pH 7,5, DTT 2 mM, EDTA 1 mM, CHAPS 100 μ M, NADPH 200 μ M, Quinurenina 10 μ M y 8 μ g/ml de KMO-membranas en un volumen de reacción total de 10 μ l.

- 45 Los ensayos se realizaron repartiendo inicialmente 5 μ l de una 2x solución de enzima (16 μ g/ml de KMO-membranas en HEPES 50 mM, pH 7,5, DTT 2 mM, EDTA 2 mM, CHAPS 200 μ M) en placas que contenían 100 nl de compuestos e incubando durante 10 min a temperatura ambiente. Las reacciones se iniciaron mediante la adición de 5 μ l de 2x solución de sustrato (NADPH 400 μ M, Quinurenina 20 μ M en HEPES 50 mM, pH 7,5, DTT 2 mM) y se incubaron durante 2 h a temperatura ambiente antes de apagar la reacción con 30 μ l de TFA al 0,5 % (v/v). Las
- 50 placas se centrifugaron a 2.500 rpm durante 10 min antes del análisis. Todas las adiciones se realizaron usando un dispensador MultiCrop Combi (Thermo Fisher Scientific).

Las placas de ensayo apagado se transfirieron a un automuestreador integrado RapidFire200 de alta resolución/sistema de extracción de fase sólida (SPE) (Agilent Technologies, Wakefield, MA). Las muestras se aspiraron de cada pocillo durante 500 ms y se cargaron 10 μ l directamente sobre un cartucho de SPE C18 de

microescala RapidFire (tipo C), el cual se lavó durante 3 s con agua de grado HPLC que contenía ácido fórmico al 0,1 % (v/v) para separar los componentes no orgánicos. A continuación, los analitos se eluyeron en el espectrómetro de masas, en un ciclo de elución de 3 s, usando 80 % (v/v) acetonitrilo/agua que contenía ácido fórmico al 0,1 % (v/v) y, a continuación, el cartucho se equilibró lavándolo con agua que contenía ácido fórmico al 0,1 % (v/v) durante 500 ms. Esto dio un tiempo de ciclo total de 7 s, permitiendo el análisis de una placa de 384 pocillos en aproximadamente 45 min.

Tanto Kyn como 3-HK se detectaron usando un espectrómetro de masas triple cuádruple Sciex API4000 (Applied Biosystems, Concord, Ontario, Canadá), equipado con una interfaz de electropulverización y hecho funcionar en modo de ion positivo. Se usó monitoreo de reacción múltiple (MRM) para detectar tanto Kyn como 3-HK usando transiciones Q1/Q3 a m/z 209,4 a 192,0 y m/z 225,3 a 208,2, respectivamente. El espectrómetro de masas usó un voltage de ESI de 5.500 V y una temperatura de fuente de 600 °C, con un tiempo de reposo de 50 ms para cada transición.

Análisis de datos

Las transiciones individuales de MRM se guardaron como archivos text y los cromatogramas iónicos extraídos se integraron y procesaron usando el programa informático de integración de pico RapidFire® (versión 3.6).

Usando el área de pico integrado para los datos de 3-HK se analizaron dentro de la ActivityBase (ID Business Solutions Ltd, Surrey, GB). Las curvas de respuesta de dosis se ajustaron a la ecuación (1):

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{(a-d)}{1 + \left(\frac{[I]}{IC_{50}}\right)^S} + d \quad (1)$$

En donde a es la respuesta no inhibida, d es la respuesta completamente inhibida, $[I]$ es la concentración inhibitoria, IC_{50} es $[I]$ que da $0,5 \times (a-d)$ y S es la pendiente de Hill.

Método 2

Se prepararon diluciones en serie triples, 11 puntos de los compuestos de ensayo en DMSO y 100 nl de estas soluciones se repartieron en placas de polipropileno de base en V de 384 pocillos (Greiner Bio-one Stonehouse, GB) usando un dispensador acústico Echo 555 (Labcyte, Sunnyvale, CA). Esto dio un intervalo de concentración de ensayo final entre 10 µM y 0,17 nM en 10 µl de volumen de ensayo final (véase más adelante). 100 nl de DMSO se repartieron en las columnas 6 y 18 para los controles alto y bajo, respectivamente, con inactivación anterior de la enzima en la columna 18 por reparto previo de 50 µl de TFA al 0,5 % (v/v).

Las condiciones para el ensayo de KMO humana usando KMO-membranas aisladas era HEPES 50 mM, pH 7,5, DTT 2 mM, EDTA 1 mM, CHAPS 100 µM, NADPH 200 µM, Quinurenina 10 µM y 4 µg/ml de KMO-membranas en un volumen de reacción total de 10 µl.

Los ensayos se realizaron repartiendo inicialmente 5 µl de una 2x solución de enzima (8 µg/ml de KMO-membranas en HEPES 50 mM, pH 7,5, DTT 2 mM, EDTA 2 mM, CHAPS 200 µM) en placas que contenían 100 nl de compuestos e incubando durante 30 min a temperatura ambiente. Las reacciones se iniciaron mediante adición de 5 µl de 2x solución de sustrato (NADPH 400 µM, Quinurenina 20 µM en HEPES 50 mM, pH 7,5, DTT 2 mM) y se incubaron durante 2 h a temperatura ambiente antes de apagar la reacción con 50 µl de TFA al 0,5 % (v/v). Las placas se centrifugaron a 3.000 rpm durante 10 min antes del análisis. Todas las adiciones se realizaron usando un dispensador MultiCrop Combi (Thermo Fisher Scientific).

Las placas de ensayo apagadas se transfirieron a un automuestreador integrado RapidFire200 de alta resolución/sistema de extracción de fase sólida (SPE) (Agilent Technologies, Wakefield, MA). Las muestras se aspiraron de cada pocillo durante 650 ms y aproximadamente 10 µl se cargaron directamente sobre un cartucho de SPE C18 de microescala RapidFire (tipo C), el cual se lavó durante 1.500 s con agua de grado HPLC que contenía ácido fórmico al 0,1 % (v/v) para separar los componentes no orgánicos. A continuación, los analitos se eluyeron en el espectrómetro de masas, en un ciclo de elución de 1.500 ms, usando 80 % (v/v) acetonitrilo/agua que contenía ácido fórmico al 0,1 % (v/v) y, a continuación, el cartucho se equilibró lavándolo con agua que contenía ácido fórmico al 0,1 % (v/v) durante 500 ms. Esto dio un tiempo de ciclo total de 7 s, permitiendo el análisis de una placa de 384 pocillos en aproximadamente 45 min.

Tanto Kyn como 3-HK se detectaron usando un espectrómetro de masas triple cuádruple Sciex API4000 (Sciex, Warrington, Cheshire, GB), equipado con una interfaz de electropulverización y hecho funcionar en modo de ion positivo. Se usó monitoreo de reacción múltiple (MRM) para detectar tanto Kyn como 3-HK usando transiciones Q1/Q3 a m/z 209,2 a 192,0 y m/z 225,2 a 208,1, respectivamente. El espectrómetro de masas usó un voltage de ESI de 5.500 V y una temperatura de fuente de 650 °C, con un tiempo de reposo de 50 ms para cada transición.

Análisis de datos

Las transiciones de MRM individuales se guardaron como archivos text y los cromatogramas iónicos extraídos se integraron y se procesaron usando el programa informático de integración de pico RapidFire® (versión 4.0).

- 5 Usando el área de pico integrado para los datos de 3-HK se analizaron dentro de la ActivityBase (ID Business Solutions Ltd, Surrey, UK). Las curvas de respuesta de dosis se ajustaron a la ecuación (1):

$$\text{Inhibición (\%)} = \frac{(a-d)}{1 + \left(\frac{[I]}{IC_{50}}\right)^S} + d \quad (1)$$

En donde a es la respuesta no inhibida, d es la respuesta completamente inhibida, $[I]$ es la concentración inhibitoria, IC_{50} es $[I]$ que da $0,5 \times (a-d)$ y S es la pendiente de Hill.

- 10 Los compuestos de los Ejemplos 1 a 30 se ensayaron básicamente como se ha descrito en al menos uno de los ensayos anteriores. Los expertos en la técnica reconocerán que los ensayos de unión *in vitro* y los ensayos basados en célula para la actividad funcional están sujetos a variabilidad experimental. Por consiguiente, se entiende que los valores de pIC_{50} dados más adelante son únicamente ilustrativos.

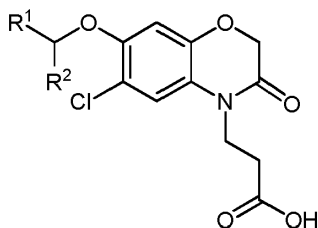
Los compuestos ilustrados de la invención tiene valores de pIC_{50} medios de $\geq 5,5$ en al menos uno de los anteriores ensayos Rapidfire MS.

- 15 Los Ejemplos 1, 2, 2a-2l, 3, 4, 6, 7, 9, 10-20, 21, 23, 26, 28 y 29 tenían valores de pIC_{50} medios de $\geq 7,5$ en al menos uno de los ensayos de MS Rapidfire anteriores.

El Ejemplo 1 tenía un valor de pIC_{50} medio de 9,0 en al menos uno de los ensayos MS Rapidfire anteriores.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



(I)

en donde:

R¹ es heteroarilo opcionalmente sustituido con metilo, etilo, halo u =O; y

R² es H, metilo o etilo.

o una sal del mismo.

2. Un compuesto o una sal del mismo según la reivindicación 1 en donde R¹ se selecciona del grupo que consiste en oxazolilo, piridinilo, pirimidinilo, piridazinilo, e imidazolilo, en donde el oxazolilo, piridinilo, pirimidinilo y piridazinilo se pueden sustituir opcionalmente con metilo, etilo, cloro o fluoro.

3. Un compuesto o una sal del mismo según la reivindicación 1 o la reivindicación 2 en donde R¹ es piridinilo opcionalmente sustituido con etilo, metilo, cloro o fluoro.

4. Un compuesto o una sal del mismo según una cualquiera de las reivindicaciones precedentes en donde R² es etilo.

5. Un compuesto según la reivindicación 1 seleccionado del listado que consiste en:

ácido 3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[1-(2-metil-1,3-oxazol-5-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[1-(1,3-oxazol-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-(1H-imidazol-2-il)etoxi)-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-3-oxo-7-(piridin-2-il)metoxi)-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[1-(5-metilpiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[1-(5-cloropiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[1-(5-fluoropiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridazin-3-il)etoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[(6-metilpiridazin-3-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[1-(6-metilpiridazin-3-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[1-(5-metilpiridin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[(5-cloropiridin-2-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[(5-metilpiridin-2-il)metoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[1-(5-etilpiridin-2-il)etoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-3-oxo-7-[1-(pirimidin-2-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[1-(5-metilpirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

ácido 3-(6-cloro-7-[1-(5-cloropirimidin-2-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il)propanoico;

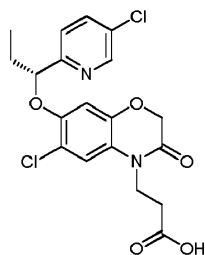
ácido 3-{6-cloro-3-oxo-7-[1-(piridazin-3-il)propoxi]-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

y

ácido 3-{6-cloro-7-[1-(6-metilpiridazin-3-il)propoxi]-3-oxo-3,4-dihidro-2H-1,4-benzoxazin-4-il}propanoico;

o una sal del mismo.

- 5 6. Un compuesto según la reivindicación 1 que es el ácido (R)-3-(6-cloro-7-(1-(5-cloropiridin-2-il)propoxi)-3-oxo-2H-benzo[b][1,4]oxazin-4(3H)-il)propanoico de fórmula



o una sal del mismo.

7. El compuesto de fórmula 6 como el ácido libre.

- 10 8. Un compuesto como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

9. Una composición farmacéutica que comprende: a) una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto como se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo; y b) un excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 15 10. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.

11. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de una afección o trastorno mediado por KMO.

- 20 12. Un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento de pancreatitis aguda, enfermedad renal crónica, enfermedad renal aguda, lesión renal aguda, otras afecciones asociadas con el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SRIS), enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, ataxias espinocerebelosas, enfermedad de Parkinson, complejo de demencia asociada a SIDA, infección de VIH, esclerosis lateral amiotrófica (ELA), depresión, esquizofrenia, sepsis, choque cardiovascular, trauma grave, lesión pulmonar aguda, síndrome de dificultad respiratoria aguda, colecistitis aguda, quemaduras graves, neumonía, procedimientos quirúrgicos prolongados, enfermedad intestinal isquémica, enfermedad hepática aguda grave, encefalopatía hepática aguda grave o insuficiencia renal aguda.
- 25