



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



① Número de publicación: **2 234 439**

② Número de solicitud: 200400581

⑤ Int. Cl.7: **C07D 495/14**

A61K 31/53

// (C07D 495/14

C07D 333:00

C07D 253:00

C07D 213:00)

⑫

SOLICITUD DE PATENTE

A1

② Fecha de presentación: **07.08.2002**

④ Fecha de publicación de la solicitud: **16.06.2005**

④ Fecha de publicación del folleto de la solicitud:
16.06.2005

⑥ Número de la solicitud inicial: **200201878**

⑦ Solicitante/s:
**Universidade de Santiago de Compostela
Edificio CACTUS-CITT-Campus sur
15782 Santiago de Compostela, A Coruña, ES**

⑦ Inventor/es: **Riguera Vega, Ricardo y
Quintela López, José Maria**

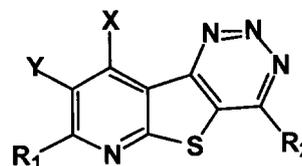
⑦ Agente: **No consta**

⑤ Título: **Piridotienotriazinas sustituidas de fórmula general I como antiprotozoarios para acuicultura y procedimiento de preparación.**

⑤ Resumen:

Piridotienotriazinas sustituidas de fórmula general I como antiprotozoarios para acuicultura y procedimiento de preparación.

La presente invención se refiere al procedimiento de preparación de piridotienotriazinas sustituidas, de fórmula general I, y a sus aplicaciones en acuicultura para el tratamiento de la scuticociliatosis en moluscos, crustáceos y peces.

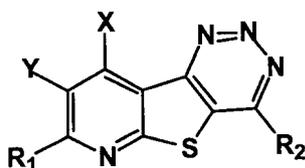


ES 2 234 439 A1

DESCRIPCIÓN

Piridotienotriazinas sustituidas de fórmula general I como antiprotozoarios para acuicultura y procedimiento de preparación.

La presente invención se refiere a la preparación y actividad antiprotozoaria frente al ciliado *Philasterides dicentrarchi* de pirido [3',2':4,5]tieno[3,2-d]-1,2,3-triazinas sustituidas, de fórmula general I, que son útiles como antiprotozoarios en acuicultura, y son eficaces para el tratamiento de la scuticociliatosis en moluscos, crustáceos y peces,



Fórmula general I

donde el sustituyente R_1 puede ser un grupo arilo, especialmente fenilo con o sin sustituyentes, un grupo alcoxi (OR), especialmente con cadena carbonada de 1 hasta 4 carbonos, o un grupo amino mono, di o trisustituido, (NH_2 , NRH, NRR'), de cadena abierta o cíclica, incluidos los grupos piperidino, morfolino, tiomorfolino, y preferentemente piperacino; donde el sustituyente X puede ser hidrógeno (H) o un grupo arilo; donde el sustituyente Y puede ser hidrógeno (H) o un grupo ciano (CN); y donde el sustituyente R_2 es un grupo amino mono, di o trisustituido, (NH_2 , NRH, NRR'), de cadena abierta o cíclica, incluidos los grupos piperidino, morfolino, tiomorfolino, y preferentemente piperacino.

Entre las enfermedades que mayores daños económicos producen a la acuicultura, debido a la facilidad con la que los agentes patógenos se transmiten en los tanques de circulación cerrada, figura la scuticociliatosis, que es una enfermedad propia de peces, crustáceos y moluscos, que afecta tanto a los criados en instalaciones de acuicultura como a los especímenes libres, y que está producida por parásitos ciliados del orden Scuticociliatida tales como *Uronema marinum*, *Uronema nigricans*, *Anophryoides haemophila* y *Mesanophrys sp* (Cheung P. J.; Nigrelli R. F.; Ruggieri D. *J. Fish. Dis.* **1980**, 3, 295-303. Morado J. F.; Small E. B. *Reviews in Fisheries Science* **1995**, 3, 275-354. Cawthorn R.J.; Lynn D.H.; Despres B.; MacMillan R.; Maloney R.; Loughlin M.; Bayer R. *Dis. Aquat. Org.* **1996**, 24, 143-148. Munday B.L.; O'Donoghue P.J.; Watts M.; Rough K.; Hawkesford T. *Dis. Aquat. Org.* **1997**, 30, 17-25).

En los últimos años se han venido detectando brotes de scuticociliatosis causados por el protozoo *Philasterides dicentrarchi* causante de gran mortandad en los criaderos de lubina, dentón y rodaballo (Dragesco A.; Dragesco J.; Coste F.; Gasc C.; Romestand B.; Raymond J.; Bouix G. *Europ. J. Protistol.* **1995**, 31, 327-340. Iglesias R.; Paramá A.; Alvarez M.F.; Leiro J.; Fernández J.; Sanmartín M. L. *Dis. Aquat. Org.* **2001**, 46, 47-55. Iglesias R.; Paramá A.; Álvarez M.F.; Leiro J.; Sanmartín M.L. *Dis. Aquat. Org.* **2002**) hasta el punto de constituir una de las parasitosis de mayor incidencia en la acuicultura, responsable de grandes pérdidas económicas, y que permanece sin un tratamiento realmente eficaz, habiéndose demostrado la falta de actividad de muchos fármacos.

Descripción detallada y preparación de las sustancias de fórmula general I

En esta memoria, por "alcoxi de C_{1-4} " se entiende cualquier radical de cadena lineal o ramificada saturado que contiene oxígeno y de 1 a 4 átomos de carbono, en el que el radical está centrado en el oxígeno. Están incluidos en el alcance de esta expresión los grupos metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, isobutoxi, t-butoxi y similares.

Para la preparación de las pirido[3',2':4,5]tieno[3,2-d]-1,2,3-triazinas con estructura general I, donde el sustituyente R_1 puede ser un grupo arilo, especialmente fenilo con o sin sustituyentes, un grupo alcoxi (OR), especialmente con cadena carbonada de 1 hasta 4 carbonos, o un grupo amino mono, di o trisustituido, (NH_2 , NRH, NRR'), de cadena abierta o cíclica, incluidos los grupos piperidino, morfolino, tiomorfolino, y preferentemente piperacino; donde el sustituyente X puede ser H o un grupo arilo; donde el sustituyente Y puede ser H o CN; y donde el sustituyente R_2 es un grupo amino mono, di o trisustituido, (NH_2 , NRH, NRR'), de cadena abierta o cíclica, incluidos los grupos piperidino, morfolino, tiomorfolino, y preferentemente piperacino, se partió de un 3-aminotieno[2,3-b]piridin-2-carbonitrilo que contiene los sustituyentes R_1 , X e Y seleccionados (Quintela J.M.; Peinador C.; Veiga C.; Botana L.; Alfonso A.; Riguera R. *Eur. J. Med. Chem.*, **1998**, 33, 887-897) (Quintela J.M.; Peinador C.; González L.; Riguera R.; Rioja I.; Terencio M.C.; Ubeda A.; Alcaraz M. J. *J. Med. Chem.*, **1999**, 42, 4720-4724), y que cicla, por diazotación en presencia de ClH, para dar lugar a la 4-cloro pirido[3',2':4,5]tieno[3,2-d]-1,2,3-triazina correspondiente (fórmula general I, $R_2 = Cl$) que, mediante reacción de sustitución del cloro con diversos nucleófilos, permite la introducción del sustituyente R_2 .

El procedimiento de la invención para la síntesis de las piridotienotriazinas se desarrolla según el siguiente ejemplo:

Ejemplo 1

Preparación de la 8-ciano-7-(4-metilpiperidino)-4-piperacino-3',2':4,5-tieno[3,2-d]-1,2,3-triazina

5 a) A una solución enfriada en un baño de hielo conteniendo el β -enaminonitrilo (Quintela J.M.; Peinador C.; González L.; Riguera R.; Rioja I.; Terencio M.C.; Ubeda A.; Alcaraz M. J. *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 4720-4724) con los sustituyentes R₁, X e Y adecuados (p. eje. 3-amino-2,5-diciano-6-(4-metilpiperidino)-tieno[2,3-b]piridina-2-carbonitrilo), (6.73 mmol), en 1:1 (v/v) HCl/AcOH o HBr/AcOH (50 mL), se le añadió gota a gota una solución de nitrito sódico (10.1 mmol) en agua (10 mL).

10 Después de mantenerla en agitación durante 3h. a temperatura ambiente, la mezcla se vertió sobre agua (200 mL), se filtró el sólido resultante y la 8-ciano-4-cloro-7-(4-metilpiperidino)-pirido[3',2':4,5]tieno[3,2-d]-1,2,3-triazina resultante se purificó por cromatografía en columna.

15 b) Una solución conteniendo el compuesto anterior (0.60 mmol) y la amina seleccionada (p. eje. piperazina, 0.35 mmol) en 3:1 (v/v) THF/EtOH (15 mL) se refluxó hasta la desaparición del producto de partida. El sólido obtenido por enfriamiento de la mezcla de reacción se filtra y la 8-ciano-7-(4-metilpiperidino)-4-piperacino-3',2':4,5-tieno[3,2-d]-1,2,3-triazina se purifica por recristalización en el disolvente adecuado o por cromatografía.

20 *Actividad antiprotozoaria*

Los compuestos objeto de la invención son activos frente al protozoo *Philasterides dicentrarchi*, causante de la scutiliacitosis en peces, moluscos y crustáceos. La actividad fue medida en los ciliados obtenidos de la cavidad natural mantenidos en condiciones de cultivo que aseguran su capacidad de infección de rodaballo, lubina y otras especies de interés en acuicultura. Los test de actividad se llevaron a cabo en DMSO/PBS y en DMSO/agua de mar, y se expresan en DL (Dosis Letal): concentración mínima (mg/L) necesaria para la eliminación del 99% de los ciliados.

Los DL obtenidos indican que piridotienotriazinas IV indicadas aquí y muy especialmente las que contienen al menos un grupo piperacino como sustituyente del heterociclo muestran gran actividad antiprotozoaria frente al ciliado *Philasterides dicentrarchi*. Ejemplos específicos de algunos de estos nuevos agentes parasitarios son las piridotienotriazina 1 (DL=3,125-6,125 mg/L), 2, 3, 4, 5 y 6 (las cinco con un DL=12,5 mg/L) y muy en particular 7 (DL= 0,78-1,56 mg/L) que presenta una actividad comparable a la de los conocidos antiparasitarios niclosamida y oxyclozanida (DL=0,8 mg/L) (Iglesias R.; Paraná, A.; Alvarez, M.F.; Leiro, J.; Sanmartín, M.L. *Dis. Aquat. Org.* **2002**).

35 La acción inhibitoria de liberación de histamina (Quintela J.M.; Peinador C.; Botana L.; Estévez M.; Riguera R. *Bioorganic Med. Chem.*, **1997**, *5*, 1543-1533. Quintela J.M.; Peinador C.; Veiga C.; González L.; Botana L.; Alfonso A.; Riguera R. *Bioorganic Med. Chem.*, **1998**, *6*, 1911-1925. Quintela J.M.; Peinador C.; Veiga C.; Botana L.; Alfonso A.; Riguera R. *Eur. J. Med. Chem.*, **1998**, *33*, 887-897) y la actividad antiinflamatoria (Quintela J.M.; Peinador C.; González L.; Riguera R.; Rioja I.; Terencio M.C.; Ubeda A.; Alcaraz M. J. *J. Med. Chem.*, **1999**, *42*, 4720-4724) de algunos de estos compuestos ha sido descrita por los autores de esta invención con anterioridad.

Asimismo, compuestos que poseen el grupo piperacino unido a diversos heterociclos tales como benzoisoquinolinas y nitroimidazoles son conocidos por poseer actividad antiprotozoaria y han sido objeto de patentes anteriores (Wade, P.; Vogt Berthold R.; US Patent 4,070,465, **1978**. Makovec, F.; Senin, P.; Rovati, L.; Brit. UK Pat. Appl. GB 79-1661719790514, **1979**).

50

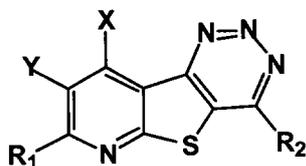
55

60

65

REIVINDICACIONES

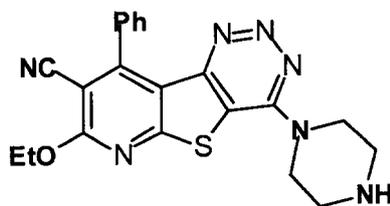
1. Piridotienotriazinas sustituidas de fórmula general I



Fórmula general I

15 donde el sustituyente R_1 puede ser un grupo arilo, especialmente fenilo con o sin sustituyentes, un grupo alcoxi (OR), especialmente con cadena carbonada de 1 hasta 4 carbonos, o un grupo amino mono, di o trisustituido, (NH_2 , NRH, NRR'), de cadena abierta o cíclica, incluidos los grupos piperidino, morfolino, tiomorfolino, y preferentemente piperacino; donde el sustituyente X puede ser H o un grupo arilo; donde el sustituyente Y puede ser H o CN; y donde el sustituyente R_2 es un grupo amino mono, di o trisustituido, (NH_2 , NRH, NRR'), de cadena abierta o cíclica, incluidos los grupos piperidino, morfolino, tiomorfolino, y preferentemente piperacino.

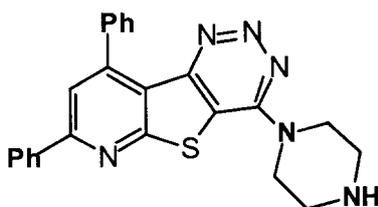
2. Piridotienotriazina sustituida, según la reivindicación 1, de fórmula 1,



1

35 donde el sustituyente R_1 es un grupo etoxi ($R_1 = OEt$), el sustituyente X es un grupo fenilo ($X = Ph$), Y es un grupo ciano ($Y = CN$) y donde el sustituyente R_2 es un grupo piperacino.

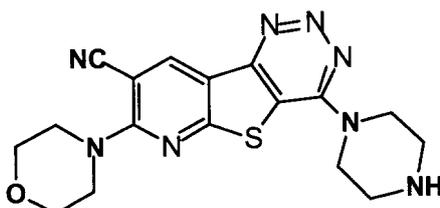
3. Piridotienotriazina sustituida, según la reivindicación 1, de fórmula 2,



2

50 donde los sustituyentes X y R_1 son grupos fenilo (X y $R_1 = Ph$), el sustituyente grupo Y es un hidrógeno ($Y = H$) y el sustituyente R_2 es un grupo piperacino.

4. Piridotienotriazina sustituida, según la reivindicación 1, de fórmula 3,



3

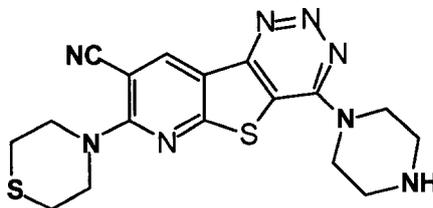
ES 2 234 439 A1

donde el sustituyente R_1 es un grupo morfolino, el sustituyente X es un hidrógeno ($X = H$), Y es un grupo ciano ($Y = CN$) y donde el sustituyente R_2 es un grupo piperacino.

5. Piridotienotriazina sustituida, según la reivindicación 1, de fórmula 4,

5

10



15

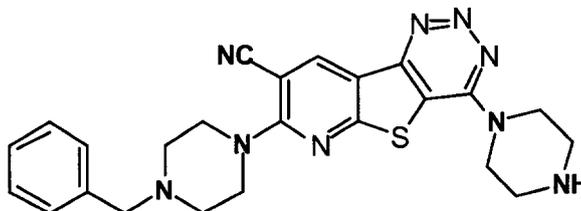
4

20 donde el sustituyente R_1 es un grupo tiomorfolino, el sustituyente X es un hidrógeno ($X = H$), Y es un grupo ciano ($Y = CN$) y donde el sustituyente R_2 es un grupo piperacino.

6. Piridotienotriazina sustituida, según la reivindicación 1, de fórmula 5,

25

30



35

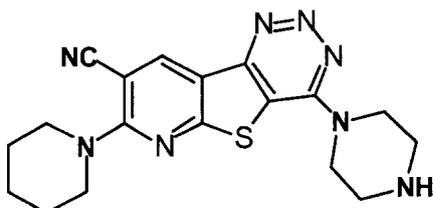
5

donde el sustituyente R_1 es un grupo 4-bencilpiperacino, el sustituyente X es un hidrógeno ($X = H$), Y es un grupo ciano ($Y = CN$) y donde el sustituyente R_2 es un grupo piperacino.

7. Piridotienotriazina sustituida, según la reivindicación 1, de fórmula 6,

40

45



50

6

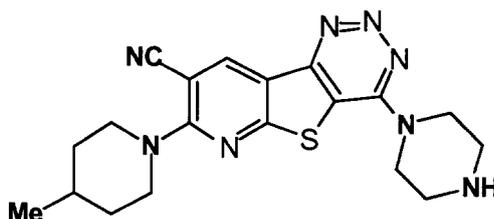
donde el sustituyente R_1 es un grupo piperidino, el sustituyente X es un hidrógeno ($X = H$), Y es un grupo ciano ($Y = CN$) y donde el sustituyente R_2 es un grupo piperacino.

55

8. Piridotienotriazina sustituida, según la reivindicación 1, de fórmula 7,

60

65

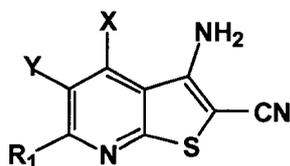


7

ES 2 234 439 A1

donde el sustituyente R_1 es un grupo 4-metilpiperidino, el sustituyente X es un hidrógeno ($X = H$), Y es un grupo ciano ($Y = CN$) y donde el sustituyente R_2 es un grupo piperacino.

9. Procedimiento de preparación de piridotienotriazinas sustituidas de fórmula general I, **caracterizado** por la ciclación, mediante reacción de diazotación en presencia de ClH, de un aminotieno[2,3-*b*]piridin-2-carbonitrilo de fórmula general A,



A

20 donde el sustituyente R_1 puede ser un grupo arilo, especialmente fenilo con o sin sustituyentes, un grupo alcoxi (OR), especialmente con cadena carbonada de 1 hasta 4 carbonos, o un grupo amino mono, di o trisustituido, (NH_2 , NRH, NRR'), de cadena abierta o cíclica, incluidos los grupos piperidino, morfolino, tiomorfolino, y preferentemente piperacino; donde el sustituyente X puede ser hidrógeno (H) o un grupo arilo; y donde el sustituyente Y puede ser hidrógeno (H) o un grupo ciano (CN), y que conduce a la 4-cloro pirido[3',2':4,5]tieno[3,2-*d*]-1,2,3-triazina correspondiente (fórmula general I, $R_2 = Cl$), que, por sustitución del cloro con agentes nucleófilos, permite la introducción del sustituyente R_2 , que puede ser un grupo amino mono, di o trisustituido, (NH_2 , NRH, NRR'), de cadena abierta o cíclica, incluidos los grupos piperidino, morfolino, tiomorfolino, y preferentemente piperacino.

10. Uso de las piridotienotriazinas de fórmula general I, solas o en combinación con otros agentes, en la preparación de cualquier clase de forma farmacéutica, de aditivos alimentarios o en la elaboración de piensos destinados al tratamiento de enfermedades protozoarias en cultivo de peces, crustáceos y moluscos y actividades de acuicultura.



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

① ES 2 234 439

② Nº de solicitud: 200400581

③ Fecha de presentación de la solicitud: **07.08.2002**

④ Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

⑤ **Int. Cl.7:** C07D 495/14, A61K 31/53 // (C07D 495/14, 333:00, 253:00, 213:00)

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	QUINTELA, J.M. et al. Synthesis, antihistaminic and cytotoxic activity of pyridothieno- and pyridodithienotriazines. European Journal of Medicinal Chemistry, 1998, Vol. 33, páginas 887-897. Ver especialmente figura 2; tabla 1; compuestos 7h,7n.	1-3,9
X	GUERRA, F. et al. Synthesis and antifungal activity of pyrido[3',2':4,5]thieno[3,2-d]-1,2,3-triazine derivatives. II Farmaco, 1993, Vol. 48, Nº 12, páginas 1725-1733. Esquema 1.	1,9
X	WAGNER, G. et al. Synthese neuer Pyrido[3',2':4,5]thieno[3,2-d]-1,2,3-triazin-Derivative als Antianaphylaktika. Pharmazie, 1993, Vol. 48, Nº 7, páginas 514-518. Esquema y tabla 6; compuesto I.1.	1,9
A	US 4239887 A (YOUSSEFYEH, R.D. & WILSON, J.D.) 16.12.1980, todo el documento.	1-9

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe

12.05.2005

Examinador

G. Esteban García

Página

1/1