(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 234 439**

(21) Número de solicitud: 200400581

(51) Int. Cl.:
C07D 495/14 (2006.01)
A61K 31/53 (2006.01)
C07D 333/00 (2006.01)
C07D 253/00 (2006.01)
C07D 213/00 (2006.01)

(12) PATENTE DE INVENCIÓN CON EXAMEN PREVIO B2

(22) Fecha de presentación: **07.08.2002**

(43) Fecha de publicación de la solicitud: **16.06.2005**

Fecha de la concesión: **04.08.2006**

Fecha de modificación de las reivindicaciones: **28.07.2006**

(45) Fecha de anuncio de la concesión: **01.11.2006**

(45) Fecha de publicación del folleto de la patente: **01.11.2006**

(62) Número de la solicitud inicial: **200201878**

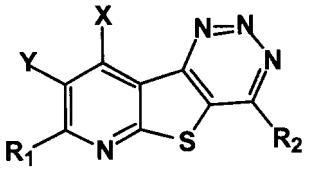
(73) Titular/es:
Universidade de Santiago de Compostela
Edificio CACTUS-CITT-Campus Sur
15782 Santiago de Compostela, A Coruña, ES

(72) Inventor/es: **Riguera Vega, Ricardo y Quintela López, José María**

(74) Agente: **No consta**

(54) Título: **Piridotienotriazinas sustituidas de formula general I como antiprotozoarios para acuicultura y procedimiento de preparación.**

(57) 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 B2

Aviso: Se puede realizar consulta prevista por el art. 37.3.8 LP.

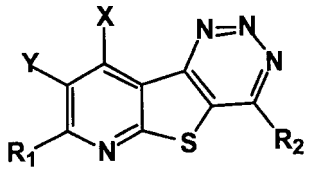
Venta de fascículos: Oficina Española de Patentes y Marcas. Pº de la Castellana, 75 – 28071 Madrid

DESCRIPCIÓN

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

Piridotienotriazinas sustituidas de fórmula general I como antiprotozoarios para acuicultura.

La presente invención se refiere a la 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.

La invención se refiere también a la preparación y actividad antiprotozoaria frente al ciliado de *Philasterides dicentrarchi* de pirido[3',2':4,5]tieno[3,2-d]-1,2,3-triazinas, de fórmula general I, donde el sustituyente R_1 puede ser un grupo piperidino, morfolino, tiomorfolino, 4-bencilpiperacino y 4-metilpiperidino; donde el sustituyente Y es un grupo ciano (CN); donde el sustituyente X es un hidrógeno (H); y donde el sustiyuyente R_2 es un grupo 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.; Sanmartin M. L. *Dis. Aquat. Org*. **2001**, *46*, 47-55. Iglesias R.; Paramá A.; Alvarez 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 formula 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, de fórmula general I, donde el sustituyente R_1 puede ser un grupo piperidino, morfolino, tiomorfolino, 4-bencilpiperacino y 4-metilpiperidino; donde el sustituyente Y es un grupo ciano (CN); donde el sustituyente X es un hidrógeno (H); y donde el sustiyuyente R_2 es un grupo piperacino, se desarrolla según el siguiente ejemplo:

Ejemplo 1

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

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 R_1, 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).

Después de mantenerla en agitación durante 3 h. 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.

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 refluyó 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-piperacinopirido[3',2':4,5] tieno[3,2-d]-1,2,3-triazina se purifica por recristalización en el disolvente adecuado o por cromatografía.

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.

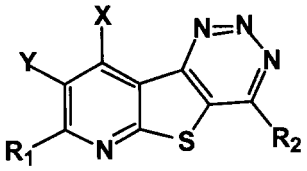
Los DL obtenidos indican que piridotienotriazinas IV indicadas aquí y muy especialmente las que contienen al menos un grupo piperacino como sustituyente del heterociclo muestran gran actividad antiprotozoaria frente al ciliado *Philasterides dicentrarchi*. Ejemplos específicos de algunos de estos nuevos agentes parasitarios son las pyridotienotriazina 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**).

La acción inhibidora 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**).

REIVINDICACIONES

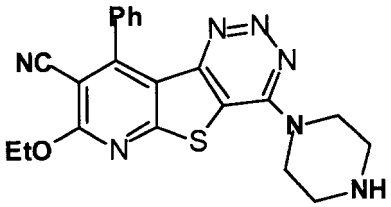
1. Uso de las piridotienotriazinas sustituidas de fórmula general I



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 H o un grupo arilo; donde el sustituyente Y puede ser H ó 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, 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.

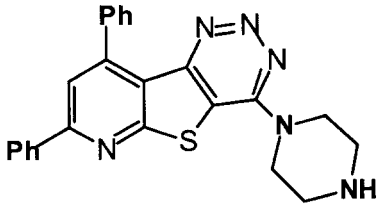
2. Piridotienotriazina sustituida, según la reivindicación 1, de fórmula 1,



1

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

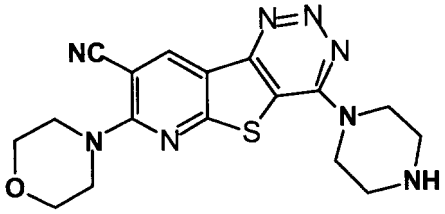
3. Piridotienotriazina sustituida, según la reivindicación 1, de fórmula 2,



2

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

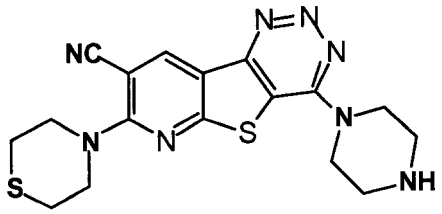
4. Piridotienotriazina sustituida, según la reivindicación 1, de fórmula 3,



3

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

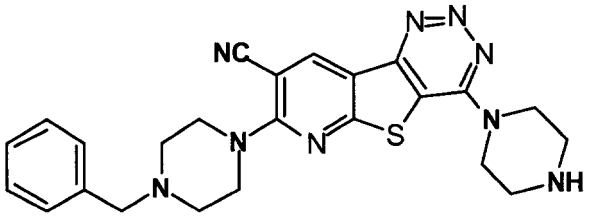
5. Piridotienotriazina sustituida, según la reivindicación 1, de fórmula 4,



4

donde el sustituyente R_1 es un grupo piperidino, X es 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,



5

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

OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) ES 2 234 439

(21) Nº de solicitud: 200400581

(22) Fecha de presentación de la solicitud: **07.08.2002**

(32) Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TÉCNICA

(51) **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 antifugal activity of pyrido[3',2':4,5]thieno[3,2-d]-1,2,3-triazine derivatives. Il 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	Examinador	Página
12.05.2005	G. Esteban García	1/1