

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 372 307**

51 Int. Cl.:
C07D 231/06 (2006.01)
A61K 31/4155 (2006.01)
A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **06762612 .7**
96 Fecha de presentación: **15.07.2006**
97 Número de publicación de la solicitud: **1910299**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **16.04.2008**

54 Título: **COMPUESTOS DE PIRAZOLINA SUSTITUIDA, SU PREPARACIÓN Y USO COMO MEDICAMENTOS.**

30 Prioridad:
15.07.2005 EP 05384005
05.08.2005 US 705481 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
18.01.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
18.01.2012

73 Titular/es:
LABORATORIOS DEL DR. ESTEVE S.A.
AVDA. MARE DE DÉU DE MONTSERRAT, 221
08041 BARCELONA, ES

72 Inventor/es:
CUBERES ALTISEN, María Rosa

74 Agente: **Carpintero López, Mario**

ES 2 372 307 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

Compuestos de pirazolina sustituida, su preparación y uso como medicamentos

5 La presente invención se refiere a compuestos de pirazolina sustituida, a procedimientos para su preparación, medicamentos que comprenden estos compuestos, así como a su uso para la preparación de un medicamento para el tratamiento de seres humanos y animales.

Los cannabinoides son compuestos que proceden de la planta *Cannabis sativa*, comúnmente conocida como marihuana. El compuesto químico más activo de los cannabinoides naturales es el tetrahidrocannabinol (THC), concretamente, el Δ^9 -THC.

10 Estos cannabinoides naturales, así como sus análogos sintéticos, potencian sus efectos fisiológicos mediante la unión a receptores acoplados a proteínas G específicos, los denominados receptores de cannabinoides.

Actualmente, se han identificado y clonado dos tipos diferentes de receptores que se unen tanto a cannabinoides naturales como sintéticos. Estos receptores, que se denominan CB₁ y CB₂, participan en una variedad de procesos fisiológicos o patofisiológicos en seres humanos y animales, p.ej., procesos relacionados con el sistema nervioso central, sistema inmune, sistema cardiovascular, sistema endocrino, sistema respiratorio, tracto gastrointestinal o la reproducción, según lo descrito, por ejemplo, en Hollister, *Pharm. Rev.* 38, 1986, 1–20; Reny y Singha, *Prog. Drug. Res.*, 36, 71–114, 1991; Consroe y Sandyk, en "Marijuana/Cannabinoids", *Neurobiology and Neurophysiology*, 459, Murphy L. y Barthe A. Eds., CRC Press, 1992.

20 Por lo tanto, los compuestos que tienen una alta afinidad de unión por estos receptores de cannabinoides y que son adecuados para modular estos receptores son útiles en la prevención y/o el tratamiento de trastornos relacionados con los receptores de cannabinoides.

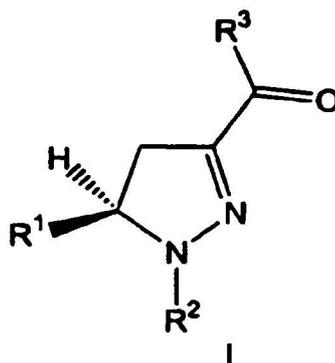
En concreto, el receptor CB₁ está implicado en muchos trastornos diferentes relacionados con la ingesta de alimentos, tales como la bulimia o la obesidad, incluyendo, la obesidad asociada con la diabetes de tipo II (diabetes no insulino-dependiente) y, por tanto, es posible usar los compuestos adecuados para regular este receptor en la profilaxis y/o el tratamiento de estos trastornos.

25 Así pues, la presente invención tenía por objeto proporcionar nuevos compuestos para su uso como sustancias activas en medicamentos. En concreto, estas sustancias activas han de ser adecuadas para la modulación de receptores de cannabinoides, más concretamente, para la modulación de receptores del cannabinoide 1 (CB₁).

Dicho objeto se alcanzó proporcionando los compuestos de pirazolina sustituida de la fórmula general I que se ofrece a continuación, sus estereoisómeros, y sus correspondientes sales y solvatos.

30 Se ha descubierto que estos compuestos tienen una alta afinidad por los receptores de cannabinoides, particularmente, por el receptor CB₁, y que actúan como moduladores, p.ej., como antagonistas, agonistas inversos o agonistas de estos receptores. Son, por tanto, adecuados para la profilaxis y/o el tratamiento de diversos trastornos relacionados con el sistema nervioso central, el sistema inmune, el sistema cardiovascular, el sistema endocrino, el sistema respiratorio, el tracto gastrointestinal o la reproducción en seres humanos y/o animales, preferiblemente, en seres humanos, incluyendo bebés, niños y adultos.

35 De este modo, en uno de sus aspectos, la presente invención se refiere a compuestos de pirazolina sustituida de fórmula general I:



en la que:

R^1 representa un grupo fenilo, que está opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en metilo, etilo, F, Cl, Br y CF_3 ,

5 R^2 representa un grupo fenilo, que está opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en metilo, etilo, F, Cl, Br y CF_3 ,

R^3 representa un grupo pirrolidinilo, un grupo piperidinilo o un grupo piperazinilo, en el que cada uno de estos grupos puede estar sustituido por uno o más grupos alquilo(C_1-C_6), o R^3 representa un resto $-NR^4R^5-$,

10 Uno de los residuos R^4 y R^5 representa un átomo de hidrógeno y el otro de estos residuos R^4 y R^5 representa un grupo pirrolidinilo opcionalmente al menos mono-sustituido; un grupo piperidinilo opcionalmente al menos mono-sustituido; un grupo piperazinilo opcionalmente al menos mono-sustituido; un grupo triazolilo opcionalmente al menos mono-sustituido; un resto $-SO_2-R^6-$; un resto $-NR^7R^8-$, o R^4 y R^5 , iguales o diferentes, representan un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo *n*-propilo, un grupo isopropilo, un grupo *n*-butilo, un grupo *sec*-butilo o un grupo *terc*-butilo,

15 R^6 representa un grupo alquilo(C_1-C_6); un grupo cicloalifático saturado opcionalmente al menos mono-sustituido que puede estar condensado con un sistema de anillos mono- o policíclico; o un grupo fenilo, que está opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo(C_1-C_6) y

R^7 y R^8 , idénticos o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o radical alquilo(C_1-C_6),

opcionalmente, en forma de un *N*-óxido correspondiente del mismo, o una de sus correspondientes sales o uno de sus correspondientes solvatos.

20 Un sistema de anillos mono- o policíclico según la presente invención significa un sistema de anillos de hidrocarburo mono- o policíclico que puede ser saturado, insaturado o aromático. Si el sistema de anillos es policíclico, cada uno de sus diferentes anillos puede presentar un grado diferente de saturación, i.e., puede ser saturado, insaturado o aromático. Opcionalmente, cada uno de los anillos del sistema de anillos mono- o policíclico puede contener uno o más, p.ej., 1, 2 ó 3, heteroátomos como miembros del anillo, que pueden ser idénticos o
25 diferentes y que se pueden seleccionar, preferiblemente, del grupo que consiste en N, O, S y P; más preferiblemente, se pueden seleccionar del grupo que consiste en N, O y S. Preferiblemente, el sistema de anillos policíclico puede comprender dos anillos que están condensados. Los anillos del sistema de anillos mono- o policíclico son, preferiblemente, de 5 ó 6 miembros.

30 El término "condensado" según la presente invención significa que un anillo o sistema de anillos está unido a otro anillo o sistema de anillos, por lo que los expertos en la técnica también usan los términos "anuloso" o "anillado" para designar este tipo de unión.

35 Si uno o más de los residuos R^3-R^8 representa o comprende, opcionalmente, al menos un heteroátomo saturado o insaturado como miembro del anillo que contiene un grupo cicloalifático, que está sustituido por uno o más, p.ej., 1, 2, 3 ó 4 sustituyentes, a no ser que se defina lo contrario, cada uno de los sustituyentes se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidroxilo, flúor, cloro, bromo, alcoxilo(C_1-C_6) ramificado o no ramificado, alquilo(C_1-C_6) ramificado o no ramificado, perfluoroalcoxilo(C_1-C_4) ramificado o no ramificado, perfluoroalquilo(C_1-C_4) ramificado o no ramificado, oxo, amino, carboxilo, amido, ciano, nitro, $-SO_2NH_2$, $-CO-$ alquilo(C_1-C_4), $-SO-$ alquilo(C_1-C_4), $-SO_2-$ alquilo(C_1-C_4), $-NH-SO_2-$ alquilo(C_1-C_4), en los que el alquilo(C_1-C_4) puede ser, en cada caso, ramificado o no ramificado, y un grupo fenilo, más preferiblemente, se puede seleccionar
40 del grupo que consiste en hidroxilo, F, Cl, Br, metilo, etilo, metoxilo, etoxilo, CF_3 , oxo y un grupo fenilo.

45 Si uno o más de los residuos R^3-R^8 representa o comprende un grupo cicloalifático, que contienen uno o más heteroátomos como miembros de los anillos, a no ser que se defina lo contrario, cada uno de estos heteroátomos se puede seleccionar preferiblemente del grupo que consiste en N, O y S. Preferiblemente, un grupo cicloalifático puede contener 1, 2 ó 3 heteroátomos seleccionados independientemente del grupo que consiste en N, O y S como miembros de los anillos. Opcionalmente al menos un heteroátomo saturado o insaturado adecuado como miembro de anillo que contiene, grupos cicloalifáticos opcionalmente al menos mono-sustituidos se puede seleccionar preferiblemente del grupo que consiste en ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo, ciclooctilo, ciclopentenilo, ciclohexenilo, cicloheptenilo, ciclooctenilo, pirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, homo-piperazinilo y morfolinilo.

5 Si uno o más de los residuos R^3 – R^8 comprende un sistema de anillos mono- o policíclico que está sustituido por uno o más, p.ej., 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes, a no ser que se defina lo contrario, cada uno de los sustituyentes se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidroxilo, flúor, cloro, bromo, alcoxilo(C_1 – C_6) ramificado o no ramificado, alquilo(C_1 – C_6) ramificado o no ramificado, perfluoroalcoxilo(C_1 – C_4) ramificado o no ramificado, perfluoroalquilo(C_1 – C_4) ramificado o no ramificado, amino, carboxilo, oxo, amido, ciano, nitro, $-SO_2NH_2$, $-CO$ –alquilo(C_1 – C_4), $-SO$ –alquilo(C_1 – C_4), $-SO_2$ –alquilo(C_1 – C_4), $-NH-SO_2$ –alquilo(C_1 – C_4), en los que el alquilo(C_1 – C_4) puede estar en cada caso ramificado o no ramificado, y un grupo fenilo, más preferiblemente, se puede seleccionar del grupo que consiste en hidroxilo, F, Cl, Br, metilo, etilo, metoxilo, etoxilo, CF_3 , oxo y un grupo fenilo.

10 Si uno o más de los residuos R^1 – R^8 representa o comprende un grupo arilo, incluyendo un grupo fenilo, que está sustituido por uno o más, p.ej., 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes, a no ser que se defina lo contrario, cada uno de los sustituyentes se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en un átomo de halógeno (p.ej., F, Cl, Br, I), un grupo alquilo(C_1 – C_6) lineal o ramificado, un grupo alcoxilo(C_1 – C_6) lineal o ramificado, un grupo formilo, un grupo hidroxilo, un grupo trifluorometilo, un grupo trifluorometoxilo, un grupo $-CO$ –alquilo(C_1 – C_6), un grupo ciano, un grupo nitro, un grupo carboxilo, un grupo $-CO-O$ –alquilo(C_1 – C_6), un resto $-CO-NR^A R^B$ –, un resto $-CO-NH-NR^C R^D$, un $-SH$, un grupo $-S$ –alquilo(C_1 – C_6), un grupo $-SO$ –alquilo(C_1 – C_6), un grupo $-SO_2$ –alquilo(C_1 – C_6), un grupo alquilen(C_1 – C_6)– SO –alquilo(C_1 – C_6), un grupo alquilen(C_1 – C_6)– SO_2 –alquilo(C_1 – C_6), un resto $-NH_2$ –, un resto NHR' – o un resto $NR'R''$ –, en los que R' y R'' representan independientemente un grupo alquilo(C_1 – C_6) lineal o ramificado, un grupo alquilo(C_1 – C_6) sustituido por no o más grupos hidroxilo y un grupo alquilen(C_1 – C_6)– $NR^E R^F$,

20 en el que R^A y R^B , idénticos o diferentes, representan hidrógeno o un grupo alquilo(C_1 – C_6), o R^A y R^B junto con el átomo de nitrógeno de unión forman un sistema de anillos heterocíclicos de 3–10 miembros mono o bicíclico saturado que puede estar al menos mono–sustituido por uno o más idénticos o diferentes grupos alquilo(C_1 – C_6) y/o que puede contener al menos un heteroátomo más seleccionado del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre como un miembro de anillo,

25 R^C , R^D , iguales o diferentes, representan un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C_1 – C_6), un grupo $-CO-O$ –alquilo(C_1 – C_6), un grupo cicloalquilo(C_3 – C_8), un grupo alquilen(C_1 – C_6)–cicloalquilo(C_3 – C_8), un grupo alquilen(C_1 – C_6)– O –alquilo(C_1 – C_6) o un grupo alquilo(C_1 – C_6) sustituido con uno o más grupos hidroxilo, o R^C , R^D , junto con el átomo de nitrógeno de unión forman un sistema de anillos heterocíclicos de 3–10 miembros mono- o bicíclico saturado, que puede estar al menos mono–sustituido por uno o más sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en un grupo alquilo(C_1 – C_6), un grupo $-CO$ –alquilo(C_1 – C_6), un grupo $-CO-O$ –alquilo(C_1 – C_6), un grupo $-CO-NH$ –alquilo(C_1 – C_6), un grupo $-CS-NH$ –alquilo(C_1 – C_6), un grupo oxo, un grupo alquilo(C_1 – C_6) sustituido con uno o más grupos hidroxilo, un grupo alquilen(C_1 – C_6)– O –alquilo(C_1 – C_6), un grupo $-CO-NH_2$ y/o que puede contener al menos un heteroátomo más seleccionado del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre como miembro de un anillo, y

35 en el que R^E y R^F , idénticos o diferentes, representan hidrógeno o un grupo alquilo(C_1 – C_6), o R^E y R^F junto con el átomo de nitrógeno de unión forman un sistema de anillos heterocíclicos de 3–10 miembros mono- o bicíclico saturado que puede estar al menos mono–sustituido por uno o más grupos alquilo(C_1 – C_6) Idénticos o diferentes y/o que puede contener al menos un heteroátomo más seleccionado del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre como miembro de un anillo.

Los grupos arilo preferidos, que pueden estar opcionalmente al menos mono–sustituidos, son fenilo y naftilo.

40 Si uno o más de los residuos R^3 – R^8 representa o comprende un grupo heteroarilo que está sustituido por uno o más, p.ej., 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes, a no ser que se defina lo contrario, cada uno de los sustituyentes se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en un átomo de halógeno (p.ej., F, Cl, Br, I), un grupo alquilo(C_1 – C_6) lineal o ramificado, un grupo alcoxilo(C_1 – C_6) lineal o ramificado, un grupo formilo, un grupo hidroxilo, un grupo trifluorometilo, un grupo trifluorometoxilo, un grupo $-CO$ –alquilo(C_1 – C_6), un grupo ciano, un grupo carboxilo, un grupo $-CO-O$ –alquilo(C_1 – C_6), un resto $-CO-NR^A R^B$ –, un resto $-CO-NH-NR^C R^D$ –, un grupo S –alquilo(C_1 – C_6), un grupo $-SO$ –alquilo(C_1 – C_6), un grupo $-SO_2$ –alquilo(C_1 – C_6), un grupo alquilen(C_1 – C_6)– S –alquilo(C_1 – C_6), un grupo alquilen(C_1 – C_6)– SO –alquilo(C_1 – C_6), un grupo alquilen(C_1 – C_6)– SO_2 –alquilo(C_1 – C_6), un grupo alquilo(C_1 – C_6) sustituido por uno o más grupos hidroxilo y un grupo alquilen(C_1 – C_6)– $NR^E R^F$,

50 en el que R^A y R^B , idénticos o diferentes, representan hidrógeno o un grupo alquilo(C_1 – C_6), o R^A y R^B junto con el átomo de nitrógeno de unión forman un sistema de anillos heterocíclicos de 3–10 miembros mono- o bicíclico saturado que puede estar al menos mono–sustituido por uno o más grupos alquilo(C_1 – C_6) Idénticos o diferentes y/o

que puede contener al menos un heteroátomo más seleccionado del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre como miembro de un anillo,

5 R^C , R^D , iguales o diferentes, representan un átomo de hidrógeno, un grupo alquilo(C_1-C_6), un grupo $-CO-O-$ alquilo(C_1-C_6), un grupo cicloalquilo(C_3-C_8), un grupo alquilen(C_1-C_6)-cicloalquilo(C_3-C_8), un grupo alquilen(C_1-C_6)- $O-$ alquilo(C_1-C_6) o un grupo alquilo(C_1-C_6) sustituido con uno o más grupos hidroxilo, o R^C , R^D , junto con el átomo de nitrógeno de unión forman un sistema de anillos heterocíclicos de 3-10 miembros mono- o bicíclico saturado, que puede estar al menos mono-sustituido por uno o más sustituyentes independientemente seleccionados del grupo que consiste en un grupo alquilo(C_1-C_6), un grupo $-CO-$ alquilo(C_1-C_6), un grupo $-CO-O-$ alquilo(C_1-C_6), un grupo $-CO-NH-$ alquilo(C_1-C_6), un grupo $-CS-NH-$ alquilo(C_1-C_6), un grupo oxo, un grupo alquilo(C_1-C_6) sustituido con uno o más grupos hidroxilo, un grupo alquilen(C_1-C_6)- $O-$ alquilo(C_1-C_6), un grupo $-CO-NH_2$ y/o que puede contener al menos un heteroátomo más seleccionado del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre como miembro de un anillo, y

15 en el que R^E y R^F , idénticos o diferentes, representan hidrógeno o un grupo alquilo(C_1-C_6), o R^E y R^F junto con el átomo de nitrógeno de unión forman un sistema de anillos heterocíclicos de 3-10 miembros mono- o bicíclico saturado que puede estar al menos mono-sustituido por uno o más grupos alquilo(C_1-C_6) Idénticos o diferentes y/o que puede contener al menos un heteroátomo más seleccionado del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre como miembro de un anillo.

20 Los heteroátomos, que están presentes como miembros de los anillos en el radical heteroarilo, se pueden seleccionar, a no ser que se defina lo contrario, independientemente del grupo que consiste en nitrógeno, oxígeno y azufre. Preferiblemente, un radical heteroarilo puede comprender 1, 2 ó 3 heteroátomos seleccionados independientemente del grupo que consiste en N, O y S como miembros de los anillos.

25 Los grupos heteroarilo adecuados, que pueden estar opcionalmente al menos mono-sustituidos, se pueden seleccionar preferiblemente del grupo que consiste en tienilo, furilo, pirrolilo, piridinilo, imidazolilo, pirimidinilo, pirazinilo, indolilo, quinolinilo, isoquinolinilo, benzo[1,2,5]-tiodiazolilo, benzo[b]tiofenilo, benzo[b]furanilo, imidazo[2,1-b]tiazolilo, triazolilo y pirazolilo, se pueden seleccionar preferiblemente del grupo que consiste en tienilo, benzo[1,2,5]-tiodiazolilo, benzo[b]tiofenilo, imidazo[2,1-b]tiazolilo, triazolilo y pirazolilo.

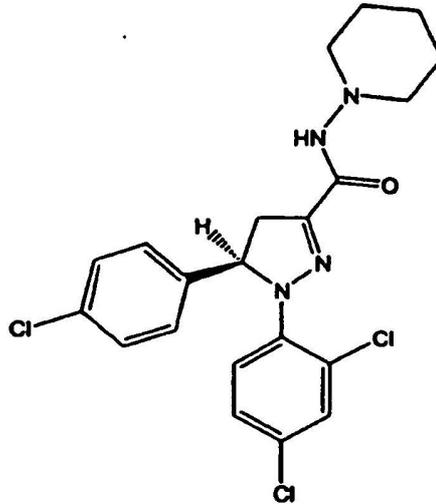
30 Si uno o más de los residuos R^4-R^8 representa o comprende un grupo alifático saturado o insaturado lineal o ramificado, tal como un grupo alquilo, que está sustituido por uno o más, p.ej., 1, 2, 3, 4 ó 5 sustituyentes, a no ser que se defina lo contrario, cada uno de los sustituyentes se puede seleccionar independientemente del grupo que consiste en hidroxilo, flúor, cloro, bromo, alcoxilo(C_1-C_4) ramificado o no ramificado, perfluoroalcoxilo(C_1-C_4) ramificado o no ramificado, perfluoroalquilo(C_1-C_4) ramificado o no ramificado, amino, carboxilo, amido, ciano, nitro, $-SO_2NH_2$, $-CO-$ alquilo(C_1-C_4), $-SO-$ alquilo(C_1-C_4), $-SO_2-$ alquilo(C_1-C_4), $-NH-SO_2-$ alquilo(C_1-C_4), en los que el alquilo(C_1-C_4) puede ser en cada caso ramificado o no ramificado, y un grupo fenilo, más preferiblemente, se puede seleccionar del grupo que consiste en hidroxilo, F, Cl, Br, metoxilo, etoxilo, CF_3 y un grupo fenilo.

35 Los grupos alifáticos saturados o insaturados lineales o ramificados preferidos, que pueden estar sustituidos por uno o más sustituyentes, se pueden seleccionar preferiblemente del grupo que consiste en metilo, etilo, *n*-propilo, isopropilo, *n*-butilo, *iso*-butilo, *sec*-butilo, *terc*-butilo, *n*-pentilo, *n*-hexilo, *n*-heptilo, *n*-octilo, *n*-nonilo, *n*-decilo, vinilo, etinilo, propenilo, propinilo, butenilo y butinilo.

40 Si alguno de los residuos R^4-R^8 representa o comprende un grupo alquilenilo lineal o ramificado, dicho grupo alquilenilo se puede seleccionar preferiblemente del grupo que consiste en, $-metilen-(CH_2)-$, $etilen-(CH_2-CH_2)-$, *n*-propilen- $(CH_2-CH_2-CH_2)-$ o isopropilen- $(C(CH_3)_2)-$.

45 A no ser que se indique lo contrario, los compuestos de la invención también pretenden incluir compuestos que sólo se diferencian en la presencia de uno o más átomos isotópicamente enriquecidos. Por ejemplo, los compuestos que tienen las presentes estructuras a excepción de la sustitución de un hidrógeno por un deuterio o tritio, o la sustitución de un carbono por carbono enriquecido en ^{13}C o ^{14}C o nitrógeno enriquecido en ^{15}N pertenecen al alcance de la invención.

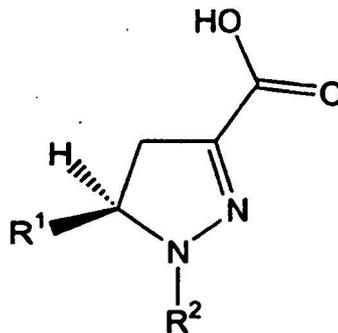
El compuesto más particularmente preferido es (*R*)-*N*-piperidinil-5-(4-cloro-fenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-carboxamida [compuesto 1]:



opcionalmente, en forma de un *N*-óxido correspondiente, o una sal o un solvato correspondiente.

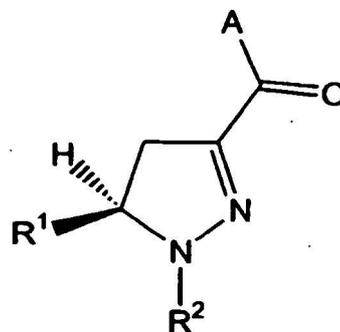
En otro aspecto, la presente invención también proporciona un procedimiento para la preparación de compuestos de pirazolina sustituida de la fórmula general I ofrecida anteriormente, según la cual al menos un compuesto de fórmula general IIa

5



(IIa)

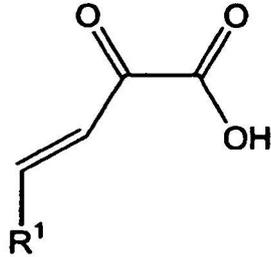
en la que R^1 y R^2 tienen el significado anteriormente dado, se transfiere opcionalmente bajo una atmósfera inerte a un compuesto de fórmula general (III) mediante la reacción con un agente activador



(III)

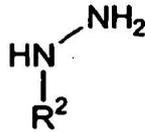
10 en la que los sustituyentes R^1 y R^2 tienen el significado dado anteriormente y A representa un grupo saliente, preferiblemente, un átomo de cloro, estando dicho compuesto opcionalmente aislado y/o opcionalmente purificado, y se hace reaccionar al menos un compuesto de fórmula general (IIa) con un compuesto de fórmula general R^3H ,

monovalente, más preferiblemente, un catión de metal alcalino, incluso más preferiblemente, un catión de sodio, para producir un compuesto de fórmula general (VI)



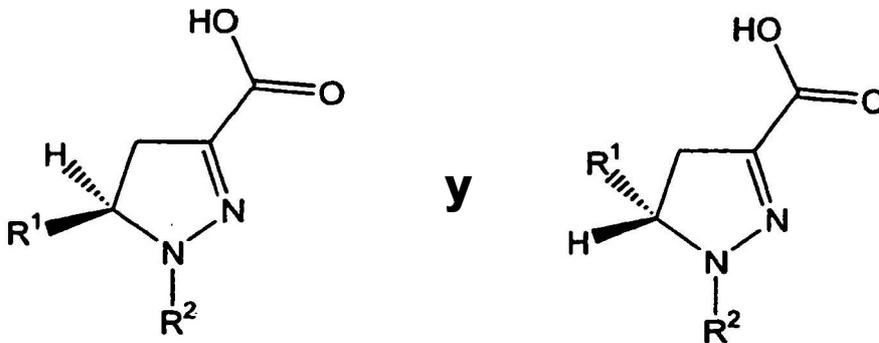
(VI)

5 en la que R¹ tiene el significado dado anteriormente, que está opcionalmente aislado y/o opcionalmente purificado, y que se hace reaccionar con una fenilhidrazina opcionalmente sustituida de fórmula general (VII)



(VII)

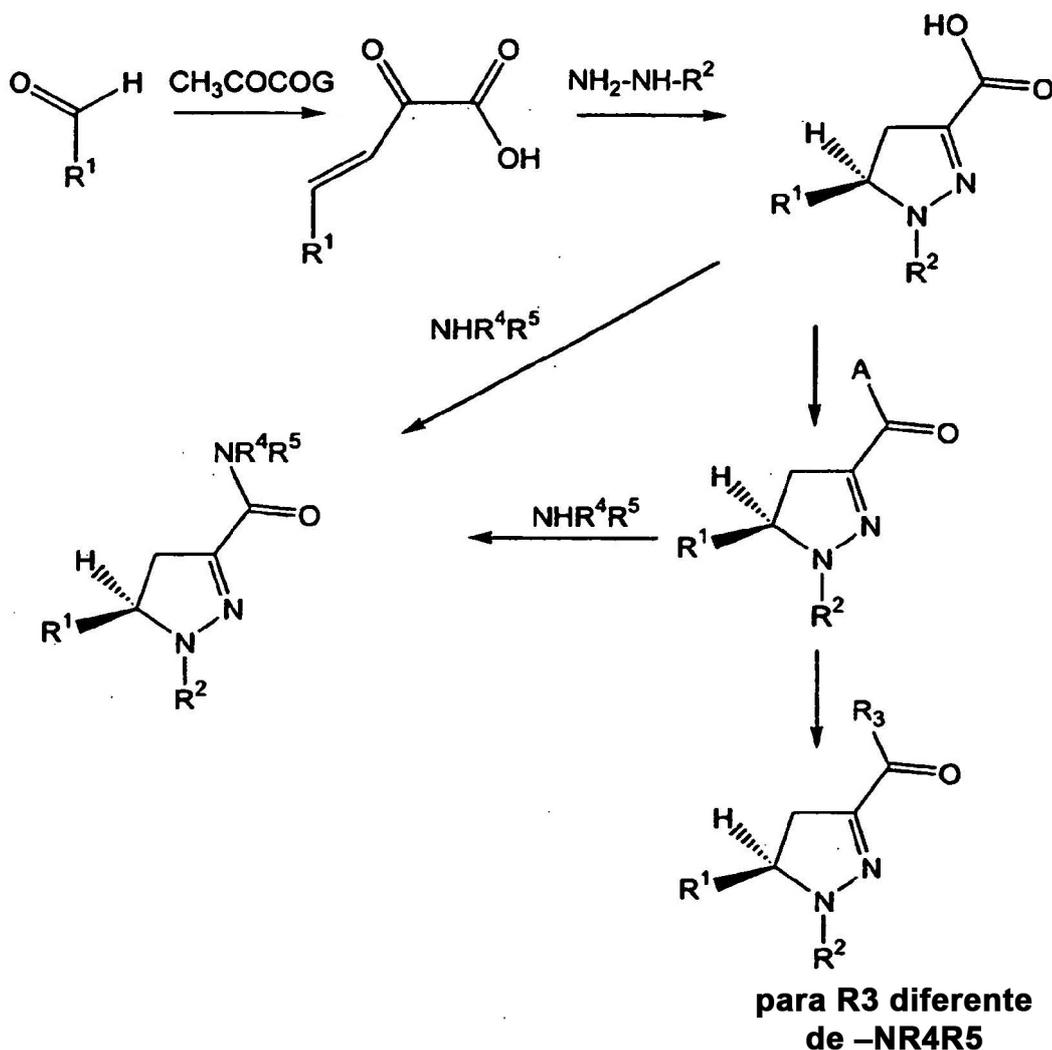
o una de sus correspondiente sales, en la que R² tiene el significado dado anteriormente, bajo una atmósfera inerte, para producir una mezcla de compuestos



(IIa)

(IIb).

10 El procedimiento de la invención también se ilustra en el Esquema I que se ofrece a continuación:



La reacción del compuesto de benzaldehído de fórmula general IV con un compuesto de piruvato de fórmula general V se lleva a cabo, preferiblemente, en presencia de al menos una base, más preferiblemente, en presencia de un hidróxido de metal alcalino, tal como hidróxido de sodio o hidróxido de potasio, o un metóxido de metal alcalino, tal como metóxido de sodio, según lo descrito, por ejemplo, en *Synthetic communications*, 26(11), 2229-33, (1996). La respectiva descripción se encuentra incorporada en la presente memoria por referencia y forma parte de la revelación. Preferiblemente, se puede usar piruvato de sodio como el compuesto de piruvato. Preferiblemente, dicha reacción se lleva a cabo en un medio de reacción prático, tal como un alcohol alquílico (C₁-C₄) o sus mezclas. También se pueden usar las mezclas de tales alcoholes con agua, p.ej., etanol/agua.

La temperatura de reacción, así como la duración de la reacción pueden variar en un intervalo amplio. Las temperaturas de reacción preferidas varían de -10°C al punto de ebullición del medio de reacción. Las duraciones adecuadas de la reacción pueden variar, por ejemplo, de varios minutos a varias horas.

También se prefiere que la reacción del compuesto de benzaldehído de fórmula general IV con un compuesto de piruvato de fórmula general V se lleve a cabo en condiciones catalizadas con un ácido, más preferiblemente, mediante el reflujo de la mezcla en diclorometano en presencia de trifluorometanosulfonato de cobre (II), según lo descrito, por ejemplo, en *Synlett*, (1), 147-149, 2001. La respectiva descripción se encuentra incorporada en la presente memoria por referencia y forma parte de la revelación.

La reacción del compuesto de fórmula general (VI) con una fenilhidrazina opcionalmente sustituida de fórmula general (VII) se lleva a cabo preferiblemente en un medio de reacción adecuado, tal como alcoholes (C₁-C₄) o éteres (C₁-C₄), tales como dioxano o tetrahydrofurano, o mezclas de al menos dos de estos compuestos anteriormente mencionados. También, preferiblemente, se puede llevar a cabo dicha reacción en presencia de un ácido, de manera que el ácido puede ser orgánico, tal como ácido acético, y/o inorgánico, tal como ácido

clorhídrico. Además, la reacción también se puede llevar a cabo en presencia de una base, tal como piperidina, piperazina, hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, metóxido de sodio o etóxido de sodio, o se puede usar una mezcla de al menos dos de estas bases.

5 La temperatura de reacción, así como la duración de la reacción pueden variar en un intervalo amplio. Las temperaturas de reacción adecuadas varían de la temperatura ambiente, i.e., aproximadamente 25°C al punto de ebullición del medio de reacción. Las duraciones de reacción adecuadas pueden variar, por ejemplo, de varios minutos a varias horas.

10 Es posible activar el grupo carboxílico del compuesto de fórmula general (III) mediante más reacciones mediante la introducción de un grupo saliente adecuado según procedimientos convencionales ampliamente conocidos por los expertos en la técnica. Preferiblemente, los compuestos de fórmula general (VI) se transfieren a un cloruro de ácido, un anhídrido de ácido o un anhídrido mixto, un alquil(C₁–C₄)éster, un éster activado, tal como *p*-nitrofeniléster. Otros procedimientos ampliamente conocidos para la activación de ácidos incluyen la activación con *N,N*-diciclohexilcarbodiimida o hexafluorofosfato de benzotriazol-*N*-oxotris(dimetilamin)fosfonio (BOP).

15 Si dicho compuesto activado de fórmula general (III) es un cloruro de ácido, se prepara preferiblemente mediante la reacción del correspondiente ácido de fórmula general (IIa) con cloruro de tionilo o cloruro de oxalilo, en la que dicho agente de cloración también se usa como disolvente. También es posible usar preferiblemente un disolvente adicional. Los disolventes adecuados incluyen hidrocarburos, tales como benceno, tolueno o xileno; hidrocarburos halogenados, tales como diclorometano, cloroformo o tetracloruro de carbono; éteres, tales como dietiléter, dioxano, tetrahidrofurano o dimetoxietano. También se pueden usar las mezclas de dos o más disolventes de una clase o 20 dos o más disolventes de diferentes clases. La temperatura de reacción preferida varía de 0°C al punto de ebullición del disolvente y las duraciones de las reacciones, de varios minutos a varias horas.

Si dicho compuesto activado de fórmula general (III) es un anhídrido mixto, dicho anhídrido se puede preparar preferiblemente, por ejemplo, mediante la reacción del correspondiente ácido de fórmula general (IIa) con cloroformiato de etilo en presencia de una base, tal como trietilamina o piridina, en un disolvente adecuado.

25 La reacción de fórmula general (IIa) con un compuesto de fórmula general HR³ para producir compuestos de fórmula general I, en la que R³ representa un resto –NR⁴R⁵ se lleva a cabo, preferiblemente, en presencia de una base, tal como trietilamina, en un medio de reacción tal como cloruro de metileno. La temperatura está preferiblemente en el intervalo de 0°C al punto de ebullición del medio de reacción. La duración de la reacción puede variar en un amplio intervalo, p.ej., de varias horas a varios días.

30 La reacción de la fórmula general (IIa) con un compuesto de fórmula general HR³ para producir compuestos de fórmula general I, en la que R³ representa opcionalmente al menos un heteroátomo opcionalmente al menos mono-sustituido saturado o insaturado como miembro de un anillo que contiene un grupo cicloalifático, que puede estar condensado con un sistema de anillos mono- o policíclico opcionalmente al menos mono-sustituido, o un grupo arilo o heteroarilo opcionalmente al menos mono-sustituido, que puede estar condensado con un sistema de anillos 35 mono- o policíclico opcionalmente al menos mono-sustituido, se puede llevar a cabo según procedimientos convencionales ampliamente conocidos por los expertos en la técnica, según, p.ej., Pascual, A., *J. Prakt Chem.*, 1999, 341(7), 695–700; Lin, S. *et al.*, *Heterocycles*; 2001, 55(2), 265–277; Rao, P. *et al.*, *J. Org. Chem.*, 2000, 65(22), 7323–7344, Pearson D.E y Buehler, C.A., *Synthesis*, 1972, 533–542 y las referencias citadas en dicha memoria. Las respectivas descripciones se encuentran incorporadas en la presente memoria por referencia y 40 forman parte de la presente revelación.

Preferiblemente, dicha reacción se lleva a cabo en presencia de un ácido de Lewis, que se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en FeCl₃, ZnCl₂ y AlCl₃, en un medio de reacción adecuado, tal como tolueno, benceno, tetrahidrofurano o similar. La temperatura está preferiblemente en el intervalo de 0°C al punto de ebullición del medio de reacción, más preferiblemente, de 15 a 25°C. La duración de la reacción puede variar en un 45 amplio intervalo, p.ej., de varios minutos a varias horas.

Las reacciones anteriormente mencionadas que implican la síntesis del anillo de 4,5-dihidro-pirazol o la reacción de un compuesto que comprende dicho anillo se llevan a cabo bajo una atmósfera inerte, preferiblemente, nitrógeno o argón, para evitar la oxidación del sistema de anillos.

Durante los procedimientos descritos anteriormente, puede ser necesaria y/o deseable la protección del grupo sensible o de los reactivos. Se puede efectuar la introducción de grupos protectores convencionales, así como su retirada, mediante procedimientos ampliamente conocidos por los expertos en la técnica.

5 En otro aspecto más, la presente invención también proporciona un procedimiento para la preparación de sales de compuestos de pirazolina sustituida de fórmula general (I), en el que se hace reaccionar al menos un compuesto de fórmula general (I) que tiene al menos un grupo básico con al menos un ácido inorgánico y/o ácido orgánico, preferiblemente, en presencia de un medio de reacción adecuado. Los medios de reacción adecuados incluyen, por ejemplo, cualquiera de los anteriormente dados. Los ácidos inorgánicos adecuados incluyen ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido sulfúrico y ácido nítrico. Los ácidos orgánicos adecuados son, p.ej., ácido cítrico, 10 ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico o sus derivados, ácido *p*-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico o ácido canfersulfónico.

En otro aspecto más, la presente invención también proporciona un procedimiento para la preparación de sales de compuestos de pirazolina sustituida de fórmula general (I), en el que se hace reaccionar al menos un compuesto de fórmula general (I) que tiene al menos un grupo ácido con una o más bases adecuadas, preferiblemente, en presencia de un medio de reacción adecuado. Las bases adecuadas son, p.ej., hidróxidos, carbonatos o alcóxidos, que incluyen cationes adecuados derivados, p.ej., de metales alcalinos, metales alcalinotérreos o cationes orgánicos, p.ej., $[NH_nR_{4-n}]^+$, en la que *n* es 0, 1, 2, 3 ó 4 y R representa un radical alquilo (C_1-C_4) ramificado o no ramificado. Los medios de reacción adecuados son, por ejemplo, cualquiera de los dados anteriormente.

Se entenderá que el término “sal” significa cualquier forma del compuesto activo usada según la invención, en la que adopta una forma iónica o está cargado y acoplado con un contraión (un catión o un anión) o está en disolución. Esto también engloba complejos del compuesto activo con otras moléculas e iones, en concreto, complejos que se han formado mediante interacciones iónicas. Especialmente, esto engloba cualquier sal fisiológicamente aceptable.

También se pueden obtener mediante procedimientos estándar conocidos por los expertos en la técnica solvatos, preferiblemente, hidratos, de los compuestos de pirazolina sustituida de fórmula general (I), de los correspondientes *N*-óxidos o de sus correspondientes sales.

También se pueden obtener compuestos de pirazolina sustituida de fórmula general I que comprenden anillos saturados, insaturados o aromáticos que contienen átomos de nitrógeno en forma de sus *N*-óxidos mediante procedimientos ampliamente conocidos por los expertos en la técnica.

30 Los expertos en la técnica entienden que la expresión “compuestos de pirazolina sustituida”, como se usa en la presente memoria, engloba derivados, tales como éteres, ésteres, así como complejos de estos compuestos. El término “derivados”, como se usa en la presente solicitud, se define en la presente memoria como un compuesto químico que ha sido sometido a una derivación química partiendo de un compuesto activo para cambiar (mejorar para un uso farmacéutico) cualquiera de sus propiedades fisicoquímicas, especialmente, lo que se denomina un profármaco, p.ej., sus ésteres y éteres. Los ejemplos de procedimientos ampliamente conocidos para producir un profármaco de un compuesto activo dado son conocidos por los expertos en la técnica y se pueden encontrar, p.ej., 35 en Krogsgaard-Larsen *et al.*, “Textbook of Drugdesign and Discovery”, Taylor y Francis (abril de 2002). La respectiva descripción se encuentra incorporada en la presente memoria por referencia y forma parte de la revelación.

40 Los expertos en la técnica entienden que los sustituyentes de los compuestos de la invención, particularmente, el sustituyente R^3 , puede conducir a estereoisómeros, que también quedan englobados por la presente invención.

La purificación y el aislamiento de los compuestos de pirazolina sustituida de la invención de fórmula general (I) y sus compuestos intermedios, o una de sus sales o uno de sus *N*-óxidos, o un solvato o cualquier compuesto intermedio de los mismos, si es necesario, se pueden llevar a cabo mediante procedimientos convencionales conocidos por los expertos en la técnica, p.ej., procedimientos cromatográficos o recristalización.

Los compuestos de pirazolina sustituida de fórmula general (I) dados a continuación, los correspondientes *N*-óxidos, así como sus correspondientes sales y solvatos son toxicológicamente aceptables y, por tanto, son adecuados como sustancias farmacéuticas activas para la preparación de medicamentos.

- Se ha descubierto que los compuestos de pirazolina sustituida de fórmula general I dados a continuación, sus *N*-óxidos, y sus correspondientes sales y solvatos tienen una alta afinidad por los receptores de cannabinoides, particularmente, por los receptores del cannabinoide de tipo 1 (CB₁), i.e., son ligandos selectivos del receptor CB₁ y actúan como moduladores, p.ej., antagonistas, agonistas inversos o agonistas de estos receptores. En concreto,
- 5 estos compuestos pirazolínicos muestran una evolución escasa o nula de la tolerancia durante el tratamiento, particularmente, con respecto a la ingesta de alimentos, i.e., si se interrumpe el tratamiento durante un período de tiempo dado y luego se vuelve a retomar, los compuestos pirazolínicos usados en la invención volverán a mostrar el efecto deseado. Tras finalizar el tratamiento con los compuestos pirazolínicos, se encuentra que continúa la influencia positiva en el peso corporal.
- 10 Además, estos compuestos pirazolínicos muestran una afinidad por el canal de Herg relativamente débil, por lo que se espera un riesgo bajo de prolongación del intervalo QT para estos compuestos.
- En resumen, los compuestos pirazolínicos usados en la invención se distinguen por un amplio espectro de efectos beneficiosos, mientras que, al mismo tiempo, muestran efectos no deseados relativamente bajos, i.e., efectos que no contribuyen positivamente al o ni siquiera interfieren en el bienestar del paciente.
- 15 En concreto, la administración crónica del antagonista CB₁ de la invención (*R*)-*N*-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1-*H*-pirazol-3-carboxamida disminuyó significativamente el peso corporal de los animales que se habían vuelto obesos mediante la recepción de una dieta de cafetería que contenía una dieta rica en grasas, chocolate y cacahuetes molidos para reflejar la típica dieta occidental. Tras 28 días de tratamiento farmacológico, el peso corporal de las ratas que habían recibido (*R*)-*N*-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-
- 20 diclorofenil)-4,5-dihidro-1-*H*-pirazol-3-carboxamida era inferior a las de los controles tratados con vehículo.
- Así pues, otro aspecto de la presente invención se refiere a un medicamento que comprende al menos un compuesto de pirazolina sustituida de fórmula general I, opcionalmente, en forma de uno de sus correspondientes *N*-óxidos, una de sus correspondientes sales o uno de sus correspondientes solvatos y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables. Es preferible que los compuestos de la invención estén presentes en el medicamento con un exceso enantiomérico con respecto a su otro enantiómero (que resulta del estereocentro de la
- 25 posición 5) de al menos un 90%, más preferiblemente, de al menos un 95%, e incluso más preferiblemente, de al menos un 99%. Lo más preferible es que el medicamento de la invención comprenda el compuesto de pirazolina sustituida de fórmula general I en forma pura, i.e., esencialmente libre de su otro enantiómero.
- El medicamento de la invención también puede comprender preferiblemente cualquiera de los compuestos pirazolínicos de la invención o combinaciones de al menos dos de estos compuestos pirazolínicos dados anteriormente.
- 30 Dicho medicamento también puede comprender cualquier combinación de uno o más de los compuestos de pirazolina sustituida de fórmula general I dada anteriormente, sus correspondientes *N*-óxidos, sus sales fisiológicamente aceptables o sus solvatos fisiológicamente aceptables.
- 35 Preferiblemente, dicho medicamento es adecuado para la modulación (regulación) de receptores de cannabinoides, preferiblemente, de receptores del cannabinoide 1 (CB₁), para la profilaxis y/o el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central, trastornos del sistema inmune, trastornos del sistema cardiovascular, trastornos del sistema endocrino, trastornos del sistema respiratorio, trastornos del tracto gastrointestinal o trastornos reproductivos.
- 40 Lo particularmente preferible es que dicho medicamento sea adecuado para la profilaxis y/o el tratamiento de la psicosis.
- También se prefiere particularmente que dicho medicamento sea adecuado para la profilaxis y/o el tratamiento de trastornos de la alimentación, preferiblemente, de bulimia, anorexia, caquexia, obesidad y/o diabetes mellitus de tipo II (diabetes mellitus no insulino dependiente), más preferiblemente, obesidad. El medicamento de la invención
- 45 también parece ser activo en la profilaxis y/o el tratamiento de los trastornos del apetito, p.ej., los compuestos pirazolínicos de fórmula general I también reducen el deseo por los dulces.
- También es particularmente preferible que dicho medicamento sea adecuado para la profilaxis y/o el tratamiento del cáncer, preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de cáncer seleccionados del grupo que consiste en cáncer de cerebro, cáncer de huesos, cáncer de labio, cáncer de boca, cáncer de esófago, cáncer

de estómago, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de colon, cáncer de intestino y cáncer de próstata; más preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de cáncer seleccionados del grupo que consiste en cáncer de colon, cáncer de intestino y cáncer de próstata.

5 Es particularmente preferible que dicho medicamento sea adecuado para la profilaxis y/o el tratamiento del abuso del alcohol y/o la adicción al alcohol, el abuso de la nicotina y/o la adicción a la nicotina, el abuso de drogas y/o la adicción a drogas y/o el abuso de medicamentos y/o la adicción a medicamentos, preferiblemente, para el abuso de drogas y/o la adicción a drogas y/o el abuso de la nicotina y/o la adicción a la nicotina.

10 Por lo tanto, el medicamento de la invención es activo en el tratamiento de la abstinencia, la reducción de la ansiedad y la prevención de recaídas en el consumo de alcohol. El medicamento de la invención también se puede usar en la profilaxis y/o el tratamiento de la adicción, el abandono del hábito de fumar y/o la dependencia del tabaco, incluyendo el tratamiento para la reducción de la ansiedad y la prevención de recaídas en el hábito de fumar.

15 Los medicamentos y/o los fármacos que son frecuentemente sometidos a un mal uso incluyen opiáceos, barbitúricos, cánnabis, cocaína, anfetaminas, fenciclidina, halucinógenos y benzodiazepinas.

20 El medicamento también es adecuado para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más trastornos seleccionados del grupo que consiste en trastornos óseos, preferiblemente, osteoporosis (p.ej., osteoporosis vinculada a una predisposición genética, deficiencia de hormonas sexuales o envejecimiento), enfermedad ósea asociada con el cáncer o enfermedad ósea de Paget; esquizofrenia, ansiedad, depresión, epilepsia, trastornos neurodegenerativos, trastornos cerebelosos, trastornos espinocerebelosos, trastornos cognitivos, traumatismo craneal, traumatismo de cabeza, apoplejía, ataques de pánico, neuropatía periférica, inflamación, glaucoma, migraña, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Raynaud, trastornos de temblores, trastornos compulsivos, demencia senil, trastornos tímicos, disquinesia tardía, trastornos bipolares, trastornos del movimiento inducidos por medicamentos, distonía, apoplejía endotoxémica, apoplejía hemorrágica, hipotensión, insomnio, trastornos inmunológicos, placas escleróticas, vómitos, diarrea, asma, trastornos de la memoria, prurito, dolor o para potenciar el efecto analgésico de los analgésicos narcóticos y no narcóticos; o para influir en el tránsito intestinal.

30 El medicamento también es adecuado para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más trastornos seleccionados del grupo que consiste en demencia y trastornos rotados, preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de demencia seleccionados del grupo que consiste en pérdida de memoria, demencia vascular, deterioro cognitivo leve, demencia frontotemporal y enfermedad de Pick; trastornos de atracones compulsivos; obesidad juvenil; obesidad inducida por fármacos; depresión atípica, adicciones conductuales; trastornos de déficit de atención; síndrome de Tourette; inhibición de conductas relacionadas con recompensas; p.ej., evitar lugares acondicionados, tal como la inhibición de la preferencia por lugares acondicionados inducida por la cocaína y la morfina; impulsividad; disfunción sexual; preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de disfunción sexual seleccionados del grupo que consiste en dificultad eréctil y disfunción sexual femenina; trastornos convulsivos; náuseas; emesis; enfermedad neuroinflamatoria, preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de enfermedades neuroinflamatorias seleccionadas del grupo que consiste en esclerosis múltiple, trastornos relacionados con la desmielinización, síndrome de Guillan-Barré, encefalitis viral y accidentes cerebrovasculares; trastornos neurológicos; espasticidad muscular; lesión cerebral traumática; lesión de médula espinal; trastornos de inflamación e inmunomoduladores, preferiblemente, para el tratamiento y/o la profilaxis de uno o más tipos de inflamación y trastornos inmunomoduladores seleccionados del grupo que consiste en linfoma cutáneo de linfocitos T, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, sepsis, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, displasia broncopulmonar, enfermedad retinal, esclerodermia, isquemia renal, infarto de miocardio, isquemia cerebral, nefritis, hepatitis, glomerulonefritis, alveolitis fibrosante criptogénica, psoriasis, rechazo a trasplantes, dermatitis atópica, vasculitis, alergia, rinitis alérgica estacional, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria intestinal, obstrucción reversible de las vías respiratorias, síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y bronquitis; apoplejía cerebral; traumatismo craneoencefálico; trastornos de dolor neuropático; úlceras gástricas; aterosclerosis y cirrosis de hígado.

50 Otro aspecto de la presente invención consiste en usar al menos un compuesto de pirazolina sustituida de fórmula general I dada anteriormente como sustancias activas adecuadas, opcionalmente, en forma de uno de sus correspondientes *N*-óxidos, una de sus correspondientes sales o uno de sus correspondientes solvatos y,

- opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, para la preparación de un medicamento para la modulación de receptores de cannabinoides, preferiblemente, receptores del cannabinoide 1 (CB₁), para la profilaxis y/o el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central, trastornos del sistema inmune, trastornos del sistema cardiovascular, trastornos del sistema endocrino, trastornos del sistema respiratorio, trastornos del tracto gastrointestinal o trastornos reproductivos.
- 5
- Es particularmente preferible el uso de al menos uno de los respectivos compuestos pirazolínicos en forma de uno de sus correspondientes *N*-óxidos, una de sus correspondientes sales o uno de sus correspondientes solvatos y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento de la psicosis.
- 10
- También se prefiere particularmente el uso de al menos uno de los respectivos compuestos pirazolínicos, opcionalmente, en forma de uno de sus correspondientes *N*-óxidos, una de sus correspondientes sales o uno de sus correspondientes solvatos y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento de trastornos alimentarios, preferiblemente, bulimia, anorexia, caquexia, obesidad y/o diabetes mellitus de tipo II (diabetes mellitus no insulino dependiente), más preferiblemente, obesidad.
- 15
- También es particularmente preferible el uso de al menos uno de los respectivos compuestos pirazolínicos, opcionalmente, en forma de uno de sus correspondientes *N*-óxidos, una de sus correspondientes sales o uno de sus correspondientes solvatos y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento del cáncer; preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de cáncer seleccionados del grupo que consiste en cáncer de cerebro, cáncer de huesos, cáncer de labio, cáncer de boca, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de colon, cáncer de intestino y cáncer de próstata; más preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de cáncer seleccionados del grupo que consiste en cáncer de colon, cáncer de
- 20
- intestino y cáncer de próstata.
- 25
- También es particularmente preferible el uso de al menos uno de los respectivos compuestos pirazolínicos, opcionalmente, en forma de uno de sus correspondientes *N*-óxidos, una de sus correspondientes sales o uno de sus correspondientes solvatos y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento del abuso del alcohol y/o la adicción al alcohol, abuso de la nicotina y/o adicción a la nicotina, abuso de drogas y/o adicción a drogas, abuso de medicamentos y/o adicción a medicamentos; preferiblemente, el abuso de drogas y/o la adicción a drogas y/o el abuso de la nicotina y/o la adicción a la nicotina.
- 30
- Los medicamentos y/o los fármacos que son frecuentemente sometidos a un mal uso incluyen opiáceos, barbitúricos, cánnabis, cocaína, anfetaminas, fenciclidina, halucinógenos y benzodiazepinas.
- 35
- También se prefiere el uso de al menos uno de los respectivos compuestos pirazolínicos, opcionalmente, en forma de uno de sus correspondientes *N*-óxidos, una de sus correspondientes sales o uno de sus correspondientes solvatos y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más trastornos seleccionados del grupo que consiste en trastornos óseos, preferiblemente, osteoporosis (p.ej., osteoporosis vinculada a una predisposición genética, deficiencia de hormonas sexuales o envejecimiento), enfermedad ósea asociada con el cáncer o enfermedad ósea de Paget; esquizofrenia, ansiedad, depresión, epilepsia, trastornos neurodegenerativos, trastornos cerebelosos, trastornos espinocerebelosos, trastornos cognitivos, traumatismo craneal, traumatismo de cabeza, apoplejía, ataques de pánico, neuropatía periférica, inflamación, glaucoma, migraña, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Raynaud, trastornos de temblores, trastornos compulsivos, demencia senil, trastornos tímicos, disquinesia tardía, trastornos bipolares, trastornos del movimiento inducidos por medicamentos, distonía, apoplejía endotoxémica, apoplejía hemorrágica, hipotensión, insomnio, trastornos inmunológicos, placas escleróticas, vómitos, diarrea, asma, trastornos de la memoria, prurito, dolor o para potenciar el efecto analgésico de los analgésicos narcóticos y no narcóticos; o para influir en el tránsito intestinal.
- 40
- 45
- 50
- También es particularmente preferible el uso de al menos uno de los respectivos compuestos pirazolínicos, opcionalmente, en forma de uno de los estereoisómeros, preferiblemente, enantiómeros o diastereómeros, un racemato o en forma de una mezcla de al menos dos de los estereoisómeros, preferiblemente, enantiómeros y/o

diastereómeros, en cualquier proporción de mezclado, o uno de sus correspondientes solvatos y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables para la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más trastornos seleccionados del grupo que consiste en demencia y trastornos rotados, preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de demencia seleccionados del grupo que consiste en pérdida de memoria, demencia vascular, deterioro cognitivo leve, demencia frontotemporal y enfermedad de Pick; trastornos de atracones compulsivos; obesidad juvenil; obesidad inducida por fármacos; depresión atípica, adicciones conductuales; trastornos de déficit de atención; síndrome de Tourette; inhibición de conductas relacionadas con recompensas; p.ej., evitar lugares acondicionados, tal como la inhibición de la preferencia por lugares acondicionados inducida por la cocaína y la morfina; impulsividad; disfunción sexual, preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de disfunción sexual seleccionados del grupo que consiste en dificultad eréctil y disfunción sexual femenina; trastornos convulsivos; náuseas; emesis; enfermedad neuroinflamatoria, preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de enfermedades neuroinflamatorias seleccionadas del grupo que consiste en esclerosis múltiple, trastornos relacionados con la desmielinización, síndrome de Guillain–Barré, encefalitis viral y accidentes cerebrovasculares; trastornos neurológicos; espasticidad muscular; lesión cerebral traumática; lesión de médula espinal; trastornos de inflamación e inmunomoduladores, preferiblemente, para el tratamiento y/o la profilaxis de uno o más tipos de inflamación y trastornos inmunomoduladores seleccionados del grupo que consiste en linfoma cutáneo de linfocitos T, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico, sepsis, sarcoidosis, fibrosis pulmonar idiopática, displasia broncopulmonar, enfermedad retinal, esclerodermia, isquemia renal, infarto de miocardio, isquemia cerebral, nefritis, hepatitis, glomerulonefritis, alveolitis fibrosante criptogénica, psoriasis, rechazo a trasplantes, dermatitis atópica, vasculitis, alergia, rinitis alérgica estacional, enfermedad de Crohn, enfermedad inflamatoria intestinal, obstrucción reversible de las vías respiratorias, síndrome de insuficiencia respiratoria del adulto, enfermedad pulmonar obstructiva crónica y bronquitis; apoplejía cerebral; traumatismo craneoencefálico; trastornos de dolor neuropático; úlceras gástricas; aterosclerosis y cirrosis de hígado.

La demencia es una enfermedad caracterizada por el deterioro progresivo de las funciones cognitivas y de adaptación social que, finalmente, puede interferir en la capacidad del paciente para vivir de manera independiente. La demencia también constituye la incapacidad de utilizar la memoria a corto y largo plazo más síntomas adicionales, tales como los problemas con el pensamiento abstracto, la capacidad de juicio o la personalidad. Se estima que 18 millones de personas padecen demencia en todo el mundo. Las formas más comunes de demencia incluyen la enfermedad de Alzheimer (EA) y la demencia vascular. Otras formas son la demencia frontotemporal y la enfermedad de Pick.

La demencia también puede tener un origen vascular. La demencia vascular (enfermedad cerebrovascular aterosclerótica) se considera la segunda demencia más común entre ancianos, afectando aproximadamente al 10–15% de todos los casos. La EA y la demencia vascular se pueden dar individual o conjuntamente (demencia mixta). En la demencia vascular, los cambios ateroscleróticos de los vasos cerebrales pueden conducir a la reducción del flujo sanguíneo local, provocando múltiples pequeñas apoplejías (demencia de multi–infarto). La demencia vascular se trata farmacológicamente mediante la profilaxis de la apoplejía y mediante el tratamiento del déficit cognitivo.

La enfermedad de Alzheimer (EA), la forma más habitual e importante de demencia, es un trastorno neurodegenerativo que se caracteriza por el deterioro progresivo de las funciones cognitivas, tales como el razonamiento abstracto y la memoria. Actualmente, se estima que hay 2 millones de personas afectadas por esta enfermedad en Estados Unidos y 12 millones en todo el mundo. Debido al aumento de la esperanza de vida, se prevé que habrá más de 100 millones de pacientes de EA en todo el mundo para el año 2050. La EA es la enfermedad más frecuente entre ancianos. La mayoría de los pacientes de la EA tiene una edad de sesenta años o más. Más del 5% de todas las personas con más de 70 años tienen una pérdida relevante de la memoria debido a la EA.

La EA se caracteriza principalmente por el desarrollo gradual del olvido. En estados más avanzados de la enfermedad, cada vez se van haciendo más evidentes otros fallos de la función cerebral. Estos incluyen la incapacidad para hablar, escribir y realizar operaciones de aritmética. Se van deteriorando o desapareciendo la orientación espaciovisual, tal como aparcar el coche, la capacidad de vestirse adecuadamente o de dar y entender direcciones hacia un lugar. En una etapa tardía de la enfermedad, los pacientes olvidan cómo usar los objetos y herramientas habituales, aunque conservan el poder motor y la coordinación necesarios para estas actividades.

La esquizofrenia se caracteriza por un trastorno profundo de la cognición y la emoción, que afecta a la mayoría de las características humanas fundamentales: lenguaje, pensamiento, percepción, afecto y sentido de autoestima.

5 Los síntomas positivos incluyen manifestaciones psicóticas, tales como escuchar voces internas o experimentar otras sensaciones que no tienen un origen claro (alucinaciones) y asignar una significación o significado no habitual a los hechos normales o tener creencias personales falsas fijas (falsas ilusiones). Los síntomas negativos se caracterizan por vaciamiento afectivo y falta de iniciativas u objetivos (avolición), pérdida de los intereses o placeres habituales (anhedonia), trastornos del sueño y de la alimentación, estado de ánimo disfórico (estado de ánimo depresivo, ansioso, irritable o enfadado) y dificultad para concentrarse o centrar la atención en algo.

10 La depresión principal es un trastorno con múltiples facetas que se caracteriza fundamentalmente por un estado de ánimo disfórico y una pérdida de interés o placer por las actividades de las que antes se disfrutaba. Otros síntomas físicos y psicológicos incluyen la incapacidad para concentrarse, los trastornos motores (el retardo o la agitación psicomotora), los sentimientos de pérdida de autoestima, el sentimiento injustificado de culpa, pensamientos de suicidio, y trastornos de la alimentación y del sueño.

15 Los trastornos de ansiedad son un grupo de síndromes que incluyen el trastorno de ansiedad generalizada, el trastorno de pánico, fobias, trastorno obsesivo-compulsivo y trastorno de estrés post-traumático. Aunque cada trastorno tiene sus propias características diferentes, todos comparten los síntomas de un aburrimiento excesivo, miedos y terror intensos, hipervigilancia y/o síntomas somáticos en ausencia de una situación peligrosa.

20 La función sexual normal requiere, entre otras cosas, la capacidad de conseguir y mantener la erección del pene. Las estructuras anatómicas principales del pene que participan en la función eréctil incluyen el cuerpo cavernoso, el cuerpo esponjoso y la túnica albugínea (una capucha de colágeno que rodea cada cuerpo). Los cuerpos están compuestos por una masa de músculo liso (trabécula) que contiene una red de vasos revestidos endoteliales (espacios lacunares). La tumescencia y la erección del pene están provocadas por la relajación de las arterias y los músculos lisos del cuerpo, a la vez que el cierre de los plexos venosos, conduciendo a aumentar el flujo sanguíneo en la red lacunar. La inervación central y periférica contribuye a la regulación de la respuesta eréctil.

25 La disfunción eréctil (DE) puede provocar la incapacidad de iniciar, llenar o almacenar el volumen de sangre adecuado en la red lacunar del pene. Dependiendo de la disfunción subyacente, la DE puede ser vasculogénica, neurogénica, endocrinológica, diabética, psicogénica o relacionada con medicamentos.

30 La DE afecta al 10–25% de los hombres de mediana edad y edades avanzadas, y tiene un gran impacto en el bienestar de los hombres afectados. Actualmente, se trata con el uso de inhibidores PDE5, tales como vardenafil, tadalafil y sildenafil. Se puede usar alpostadil intrauretral (prostaglandina E1) en pacientes con los que no se hayan obtenido buenos resultados con agentes orales. Además, los dispositivos de constricción por vacío (DCV) constituyen una terapia no invasiva ampliamente extendida.

35 La disfunción sexual femenina (DSF) está muy extendida, relacionada con la edad y en aumento. Afecta del 30 al 50% de las mujeres. La DSF denota una selección de problemas médicos y se clasifica según los trastornos de (1) deseo, (2) excitación sexual, (3) orgasmo y (4) dolor sexual, y los síntomas incluyen la disminución de la lubricación vaginal, el dolor y las molestias durante la relación sexual, la disminución de la excitación sexual y la dificultad para llegar al orgasmo. A nivel molecular, se ha sugerido la importancia del péptido intestinal vasoactivo (PIV), óxido nítrico (NO) y las hormonas sexuales, tales como los estrógenos y los andrógenos, para la función sexual femenina. Los tratamientos actuales incluyen la terapia de sustitución con estrógenos, la metilt testosterona, los inhibidores PDE5, tales como el sildenafil, la L-arginina donante de NO, la prostaglandina E1, la fentolamina y los agonistas de la dopamina como la apomorfina.

40 El medicamento según la presente invención puede estar en cualquier forma adecuada para la aplicación a seres humanos y/o animales, preferiblemente, seres humanos incluyendo bebés, niños y adultos, y se puede producir mediante procedimientos estándar conocidos por los expertos en la técnica. La composición del medicamento puede variar en función de la vía de administración.

45 El medicamento de la presente invención se puede administrar, por ejemplo, parenteralmente en combinación con vehículos líquidos inyectables convencionales, tales como agua o alcoholes adecuados. Los excipientes farmacéuticos convencionales para inyección, tales como agentes estabilizadores, agentes disolventes y tampones, se pueden incluir en tales composiciones inyectables. Estos medicamentos se pueden inyectar, por ejemplo, intramuscular, intraperitoneal o intravenosamente.

50 Los medicamentos según la presente invención también se pueden formular en composiciones administrables oralmente que contienen uno o más vehículos o excipientes fisiológicamente compatibles, en forma sólida o líquida.

5 Estas composiciones pueden contener ingredientes convencionales, tales como agentes de unión, cargas, lubricantes y agentes humectantes aceptables. Las composiciones pueden adoptar cualquier forma conveniente, tal como comprimidos, nódulos, cápsulas, pastillas, soluciones acuosas u oleaginosas, suspensiones, emulsiones o formas en polvo seco adecuadas para su reconstitución con agua u otro medio líquido adecuado antes de su uso para una liberación inmediata o retardada.

Las formas orales líquidas de administración también pueden contener ciertos aditivos, tales como edulcorantes, aromatizantes, conservantes y agentes emulsionantes. Las composiciones líquidas no acuosas para la administración oral también se pueden formular con aceites comestibles. Tales composiciones líquidas se pueden encapsular convenientemente p.ej., en cápsulas de gelatina en una cantidad de dosis unitaria.

10 Las composiciones de la presente invención también se pueden administrar tópicamente o mediante un supositorio.

La dosis diaria para seres humanos y animales puede variar en función de factores basados en las respectivas especies u otros factores, tales como la edad, el sexo, el peso o el grado de la enfermedad, etcétera. La dosis diaria para seres humanos puede estar preferiblemente en el intervalo de 1 a 2.000, preferiblemente, de 1 a 1.500, más preferiblemente, de 1 a 1.000 miligramos de sustancia activa para su administración en una o varias tomas al día.

15 **Procedimientos farmacológicos:**

I. Determinación *in vitro* de la afinidad por los receptores CB₁/CB₂

a)

20 La determinación *in vitro* de la afinidad de los compuestos de pirazolina sustituida de la invención hacia los receptores CB₁/CB₂ se lleva a cabo según lo descrito en la publicación de Ruth A. Ross, Heather C. Brockie *et al.*, "Agonist-inverse agonist characterization at CB1 and CB2 cannabinoid receptors of L-759633, L759656 and AM630", *British Journal of Pharmacology*, 126, 665-672, (1999), mediante lo cual se usan receptores CB₁ y CB₂ humanos transfectados de Receptor Biology, Inc. El radioligando usado para ambos receptores es [³H]-CP55940. Las respectivas partes de la descripción se encuentran incorporadas en la presente memoria por referencia y forman parte de la presente revelación.

25 b)

Unión a CB₁ de cerebelo de rata

Se evaluó la afinidad de unión por el receptor CB₁ según una modificación del procedimiento descrito por Govaerts *et al.*, *Eur J Pharmac Sci* 23, 233-243 (2004). Las respectivas partes de la descripción se encuentran incorporadas en la presente memoria por referencia y forman parte de la presente revelación.

30 En síntesis, se diseccionó cuidadosamente el cerebelo de ratas Wistar macho (250-300 g) sobre hielo y se prepararon homogeneizados con Potter-Helvehheim en solución de Tris-HCl 50mM fría que contenía MgCl₂ 5mM, EDTA 1mM y sacarosa 0,25M, pH 7,4. Se centrifugó la suspensión a 1.000 xg durante 5 minutos. Se recogieron los sobrenadantes y se centrifugaron a 50.000 xg durante 15 minutos. Se volvieron a suspender los sedimentos resultantes en tampón de Tris-HCl sin sacarosa, se homogenizaron y se incubaron durante 15 min a 37°C en un baño con agitador orbital, y se volvió a centrifugar a 50.000 xg durante 15 min. Se pesaron los sedimentos, se volvieron a suspender en tampón de Tris-HCl sin sacarosa, se homogenizaron con Ultraturax a 13.500 rpm durante 3 x 5 segundos y se tomaron alícuotas en volúmenes de 0,9 ml en tubos Eppendorf. Se centrifugaron las alícuotas a 20.800 xg durante 5 minutos, se desecharon los sobrenadantes y se congelaron los sedimentos a -80°C hasta su uso. Se determinó la concentración de proteína total usando el kit basado en el procedimiento Lowry de Bio-Rad. Los experimentos de unión competitiva se realizaron en presencia de [³H]-CP 55,940 1nM en tubos de vidrio de silicona que contenían 100 µg de proteína por tubo resuspendida en un volumen final de 1 ml de Tris-HCl 50mM, MgCl₂ 5mM, EDTA 1mM, albúmina de suero bovino al 0,5% (p/v), pH 7,4. Los compuestos estaban presentes a diversas concentraciones y se determinó la unión inespecífica en presencia de HU-210 10µM. Tras una incubación de 1 hora a 30°C, se filtró rápidamente la suspensión a través de filtros de fibra GF/B pretratados con PEI al 0,5% sobre un cosechador de 96 pocillos, y se lavó tres veces con 3 ml de tampón de unión enfriado sobre hielo sin albúmina de suero bovino. Se midió la radiactividad sobre los filtros con un contador Winspectral 1414 de Wallac por centelleo líquido en 6 ml de Exoscint H (National Diagnostics, RU). Los análisis se hicieron por triplicado.

35
40
45

Se analizaron los datos de unión mediante regresión no lineal con el programa informático GraphPad Prism, versión 3.03.

II. Sistema de bioanálisis *in vivo* para la determinación de la actividad de los cannabinoides

Modelo Tetrad murino

5 Se sabe que las sustancias con afinidad por los receptores de cannabinoides producen una amplia selección de efectos farmacológicos. También se sabe que la administración intravenosa de una sustancia con afinidad por los receptores de cannabinoides en ratones produce analgesia, hipotermia, sedación y catalepsia. Individualmente, ninguno de estos efectos se puede considerar prueba de que una sustancia analizada tenga afinidad por los receptores de cannabinoides, pues todos estos efectos son comunes en diversas clases de agentes centralmente
10 activos. En cualquiera caso, las sustancias que muestran todos estos efectos, i.e., las sustancias que son activas en el denominado modelo Tetrad, se consideran con afinidad por los receptores de cannabinoides. Además, se ha observado que los antagonistas de los receptores de cannabinoides son muy efectivos en el bloqueo de los efectos de un agonista de cannabinoides en el modelo Tetrad murino.

15 El modelo Tetrad se describe, por ejemplo, en la publicación de A.C. Howlett *et al.*, International Union of Pharmacology XXVII. "Classification of Cannabinoid Receptors", *Pharmacol Rev* 54, 161–202, 2002 y David R. Compton *et al.*, "In-vivo Characterization of a Specific Cannabinoid Receptor Antagonist (SR141716A): Inhibition of Tetrahydrocannabinol-induced Responses and Apparent Agonist Activity", *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 277, 2, 586–594, 1996. Las correspondientes partes de la descripción se encuentran incorporadas en la presente memoria por referencia.

20 Material y procedimientos

Se usaron ratones NMRI macho con un peso de 20–30 g (Harlan, Barcelona, España) en la totalidad de los siguientes experimentos.

25 Antes de probar los procedimientos conductuales dados a continuación, se aclimatan los ratones a un entorno experimental. Se determinan los valores de control previos al tratamiento para la latencia de la analgesia mediante el procedimiento de la placa caliente (en segundos), la temperatura rectal, la sedación y la catalepsia.

Para determinar la actividad agonista de la sustancia que se va a analizar, se inyectó intravenosamente la sustancia por analizar o sólo el vehículo a los ratones. 15 minutos después de la inyección, se midió la latencia de la analgesia mediante el procedimiento de la placa caliente.

La temperatura rectal, la sedación y la catalepsia se midieron 20 minutos después de la inyección.

30 Para determinar la actividad antagonista, se usa un procedimiento idéntico al usado para la determinación de los efectos agonistas, pero con la diferencia de que la sustancia cuya actividad antagonista se va a evaluar se inyecta 5 minutos antes de la inyección intravenosa de 1,25 mg/kg de Win-55,212, un conocido agonista de los receptores de cannabinoides.

Analgesia mediante la placa caliente

35 La analgesia mediante el procedimiento de placa caliente se determina según el procedimiento descrito en Woolfe D. *et al.* "The evaluation of analgesic action of pethidine hydrochloride (Demerol)", *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 80, 300–307, 1944. La respectiva descripción se encuentra incorporada en la presente memoria por referencia y forma parte de la presente revelación.

40 Se colocan los ratones sobre una placa caliente (Harvard Analgesimeter) a $55 \pm 0,5^\circ\text{C}$ hasta que muestran una sensación de dolor mediante el lamido de las patas y saltando, y se registra el momento de estas sensaciones. Esta lectura se considera el valor de referencia (R). El límite de tiempo máximo hasta el que se permite que los ratones se mantengan en la placa caliente en ausencia de cualquier respuesta dolorosa es de 40 segundos para evitar la lesión cutánea. Este período se denomina el tiempo de corte (TC).

45 Quince minutos después de la administración de la sustancia que se va a analizar, se vuelven a colocar los ratones sobre la placa caliente y se repite el procedimiento anteriormente descrito. Este período se denomina lectura del post-tratamiento (PT).

El grado de analgesia se calcula mediante la fórmula:

$$\% \text{ MEP de analgesia} = (\text{PT}-\text{R}) / (\text{TC}-\text{R}) \times 100$$

MPE = Máximo efecto posible.

Determinación de la sedación y la ataxia

- 5 La sedación y la ataxia se determinan según el procedimiento descrito en Desmet L. K. C. *et al.* "Anticonvulsive properties of Cinarizine and Flunarizine in Rats and Mice", *Arzneim. -Forsch. (Frug Res)* 25, 9, 1975. La respectiva descripción se encuentra incorporada en la presente memoria por referencia y forma parte de la presente revelación.

El sistema de puntuación seleccionado es:

- 10 0: sin ataxia;
1: dudoso;
2: clara calma y tranquilidad;
3: ataxia marcada;
tanto antes como después del tratamiento.

- 15 **El porcentaje de sedación se determina según la fórmula:**

$$\% \text{ de sedación} = \text{media aritmética} / 3 \times 100$$

Hipotermia:

- 20 La hipotermia se determina según el procedimiento descrito en David R. Compton *et al.* "In-vivo Characterization of a Specific Cannabinoid Receptor Antagonist (SR141716A) Inhibition of Tetrahydrocannabinol- induced Responses and Apparent Agonist Activity", *J. Pharmacol Exp Ther.* 277, 2, 586-594, 1996. La respectiva descripción se encuentra incorporada en la presente memoria por referencia y forma parte de la presente revelación.

- 25 Se determinan las temperaturas rectales de referencia con un termómetro (Yello Springs Instruments Co., Panlabs) y se inserta una sonda de termistor hasta 25 mm antes de la administración de la sustancia que se va a analizar. Se vuelve a medir la temperatura rectal 20 minutos después de la administración de las sustancias que se van a analizar. Se calcula la diferencia de temperatura para cada animal, considerándose que las diferencias de $\geq -2^{\circ}\text{C}$ representan actividad.

Catalepsia:

- 30 La catalepsia se determina según el procedimiento descrito en Alpermann H. G. *et al.* "Pharmacological effects of Hoe 249: A new potential antidepressant", *Drugs Dev. Res.* 25, 267-282. 1992. La respectiva descripción se encuentra incorporada en la presente memoria por referencia y forma parte de la presente revelación.

Se evalúa el efecto cataléptico de la sustancia que se va a analizar según la duración de la catalepsia, para lo que se coloca a los animales boca abajo con las patas delanteras sobre la parte superior del bloque de madera.

El sistema de puntuación seleccionado es:

Catalepsia durante:

- 35 más de 60 segundos = 6; 50-60 segundos = 5; 40-50 segundos = 4; 30-40 segundos = 3; 20-30 segundos = 2; 5-10 segundos = 1 y menos de 5 segundos = 0.

El porcentaje de catalepsia se determina según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Catalepsia} = \text{media aritmética} / 6 \times 100$$

III. Análisis *in vivo* de la actividad antiobesidad

a) Tratamiento agudo

Se habituaron las ratas tratadas de la manera habitual a un ciclo invertido de 12/12 h y recibieron una administración oral aguda tanto del compuesto de análisis como de la solución salina. Tras la administración, se midió la ingesta de alimento acumulada (g) a las 6 h y a las 24 h. Tras ello, se midió la diferencia de peso corporal entre los animales tratados con control y con compuesto. Se trata de una variación del análisis según Colombo *et al.*, según lo descrito más adelante.

b) Tratamiento a largo plazo

La prueba *in vivo* de la actividad antiobesidad de los compuestos pirazolónicos de la invención se lleva a cabo según lo descrito en la publicación de G. Colombo *et al.*, "Appetite Suppression and Weight Loss after the Cannabinoid Antagonist SR 141716"; *Life Sciences*, 63 (8), 113–117, (1998). La respectiva parte de la descripción se encuentra incorporada en la presente memoria por referencia y forma parte de la presente revelación.

IV. Prueba *in vivo* de la actividad antidepresiva

La prueba *in vivo* de la actividad antidepresiva de los compuestos pirazolónicos de la invención en la prueba de desesperación en agua se lleva a cabo según lo descrito en la publicación de E.T. Tzavara *et al.*, "The CB1 receptor antagonist SR141716A selectively increases monoaminergic neurotransmission in the medial prefrontal cortex: implications for therapeutic actions"; *Br. J. Pharmacol.* 2003, 138(4):544:53. La respectiva parte de la descripción se encuentra incorporada en la presente memoria por referencia y forma parte de la presente revelación.

V. Determinación del efecto de una administración continuada de los compuestos de la invención sobre el peso corporal en ratas

Se midió el peso de los animales durante 36 días, y se agruparon los datos en 3 períodos para su análisis: Período 1, días 1–8 (período para la adaptación de los animales a las condiciones ambientales: una semana sin tratamiento más el primer día de tratamiento); Período 2, días 9–22 (período de tratamiento: dos semanas); Período 3, días 23–36 (período de tratamiento de escape: dos semanas). La administración de los fármacos comenzó el día 8, inmediatamente después de pesar al animal, y finalizó el día 21. El período de tratamiento varía entre un día después de la primera administración y un día después de la última administración. Los fármacos se administraron i.p. una vez al día. A efectos comparativos, se transformaron los pesos absolutos en porcentajes relativos (se dividió cada peso entre el del día 8 y se multiplicó por 100). Se formaron tres grupos de tratamiento: vehículo, *N*-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-carboxamida racémica (10 mg/kg) y (*R*)-*N*-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-carboxamida (10 mg/kg). El número de animales fue de 10 para el grupo de la (*R*)-*N*-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-carboxamida y de 9 para el grupo de la *N*-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-carboxamida racémica y para el grupo de vehículo. En el grupo de vehículo, murió un animal, mientras que en el grupo racémico, se excluyó un animal porque su peso descendió durante 5 días en el período de post-tratamiento. Todos los resultados se expresan como la media \pm EEM

Se evaluó la dependencia del peso corporal (expresado como un porcentaje relativo al día 8) en el tiempo (número de días tras la inclusión en el estudio) y el tratamiento mediante un análisis de varianza de dos factores (tiempo y tratamiento) (ANOVA) con medidas repetidas en el factor tiempo. El análisis se realizó en los períodos 2 y 3, por separado, y considerando la primera y la segunda semana en cada período. Se analizaron las diferencias entre los pares de curvas (tratamientos) usando los contrastes apropiados en el test ANOVA. También se tuvo en cuenta la posible interacción entre el tiempo y el tratamiento, incluyendo la corrección de Greenhouse-Geisser (G-G). Se consideró como significativo el valor de $P < 0,05$.

La **Figura 1** muestra el efecto de la administración continuada (i.p. una vez al día) de la *N*-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-carboxamida racémica (A), la (*R*)-*N*-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-carboxamida (B) y vehículo sobre el peso corporal en ratas. El compuesto *R* muestra una acción más potente que el racemato, así como una recuperación del peso más lenta.

VI. Determinación *in vitro* del antagonismo hacia el receptor CB₁**Preparación de las membranas**

Se cultivaron células de ovario de hámster chino (CHO) que expresaban establemente el receptor del cannabinoide 1 (CB₁) humano recombinante en mezcla de nutrientes F12 de Ham complementada con suero bovino fetal desactivada con calor al 10%, L–glutamina 2mM, 50 U/ml de penicilina, 50 U/ml de estreptomicina y 0,5 mg/ml de geneticina. Para obtener células, se lavaron los matraces de cultivo dos veces con solución salina tamponada con fosfato y se rasparon. Después, se recogieron las células por centrifugación (200 xg, 10 min) y se almacenaron en seco a –80°C. Se homogenizaron las células en HEPES 20mM enfriado con hielo, EDTA 10mM (pH 7,5) y se centrifugaron a 40.000 xg durante 15 min a 4°C. Se volvieron a suspender los sedimentos de membrana en HEPES 20mM, EDTA 0,1mM (pH 7,5) y se centrifugaron durante 15 min a 4°C. Se volvieron a suspender los sedimentos finales de membrana en HEPES 20mM, EDTA 0,1mM (pH 7,5) y se dividieron en alícuotas y se almacenaron a –80°C hasta su uso.

Ensayo de unión a [³⁵S]GTPγS:

La reacción se llevó a cabo en placas de 96 pocillos. Se incubaron las membranas (15 µg de proteína/pocillo) durante 60 min a 30°C en tampón (HEPES 50mM, KCl 100mM, MgCl₂ 5mM, EDTA 1mM, albúmina de suero bovino al 0,1% p/vol, GDP 5µM, saponina (10 µg/ml), [³⁵S]GTPγS 0,5nM, pH 7,4) con compuesto a una concentración final de 1µM bien en ausencia o en presencia de agonista WIN 55,212–2 entre 3nM y 3µM. Se finalizó la incubación mediante filtración rápida a través de una fibra de vidrio FB Multiscreen de Millipore y se aclaró dos veces con tampón de análisis enfriado con hielo. Se secaron las placas de filtro y se añadieron 30 µl de líquido de centelleo. Se determinó la radiactividad usando una Wallac Microbeta Tirlux. Se realizó cada experimento al menos por duplicado. Se realizó sistemáticamente un experimento de dosis–respuesta de WIN 55,212–2 bien solo o en presencia de Rimonabant (1µM).

Cálculos:

Se restó la media de la unión a [³⁵S]GTPγS de referencia de todos los datos de unión. Para comparar los resultados del antagonismo entre las campañas de rastreo, el 100% fue definido como la diferencia entre el efecto agonista máximo de sólo WIN 55,212–2 y el efecto antagonista máximo debido a WIN 55,212–2 más Rimonabant (1µM).

Otros procedimientos:**Consumo de alcohol**

El siguiente protocolo se puede usar para evaluar los efectos del consumo de alcohol en ratas hembra con preferencia por el alcohol (P) (p.ej., criadas en la Universidad de Indiana) con un amplio historial de consumo. La siguiente referencia proporciona una descripción detallada de Prats: Lumeng, L., *et al.*, "Different sensitivities to ethanol in alcohol–preferring and–nonpreferring rats", *Pharmacol, Biochem Behav.*, 16, 125–130 (1982).

Se permite a las ratas hembra 2 horas de acceso al alcohol (10% (v/v) y agua, 2 botellas a elegir) diariamente al comenzar el ciclo de oscuridad. Se mantienen las ratas en un ciclo inverso para facilitar las interacciones de los experimentadores. Se asignan los animales inicialmente a cuatro grupos con un consumo de alcohol equiparado: Grupo 1: vehículo; Grupo 2: control positivo (p.ej., 5,6 mg/kg de AM251); Grupo 3: baja dosis del compuesto de prueba; y Grupo 4: alta dosis del compuesto de prueba. Los compuestos de prueba se mezclan en general en un vehículo de ciclodextrina al 30% (p/v) en agua destilada a un volumen de 1–2 ml/kg. Las inyecciones de vehículo se aplican a todos los grupos durante los dos primeros días del experimento. A esto, le siguen dos días de inyecciones de fármaco (a los grupos apropiados) y un último día de inyecciones de vehículo. Durante los días de inyección de fármaco, los fármacos se administran s.c. 30 minutos antes de un período de acceso al alcohol de 2 horas. Se mide el consumo de alcohol de todos los animales durante el período de prueba y se hace una comparación entre los animales tratados con fármaco y los tratados con vehículo para determinar los efectos de los compuestos sobre la conducta de consumo de alcohol.

Se pueden realizar otros estudios de consumo utilizando ratones C57Bl/6 hembra (Charles River). Varios estudios han demostrado que esta cepa de ratones consumirá fácilmente alcohol con una manipulación escasa o nula (Middaugh *et al.*, "Ethanol Consumption by C57BU6 Mice: Influence of Gender and Procedural Variables" *Alcohol*, 17 (3),175–183, 1999; Le *et al.*, "Alcohol Consumption by C57BL/6, BALA/c, and DBA/2 Mice in a Limited AccessParadigm" *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 47, 375–378,1994).

Por ejemplo, tras su llegada, se enjaulan los ratones individualmente y se les ofrece un acceso ilimitado a comida en polvo para ratas, agua y una solución alcohólica al 10% (p/v). Tras 2–3 semanas de este acceso ilimitado, se restringe el agua durante 20 horas y se restringe el alcohol a un acceso diario de sólo 2 horas. Esto se hace de manera que el período de acceso sea durante las dos últimas horas del período de oscuridad del ciclo de luz.

- 5 Una vez estabilizada la conducta de consumo de alcohol, comienza la prueba. Los ratones se consideran estables cuando el consumo medio de alcohol durante 3 días es un 20% de la media del total de los 3 días. El día 1 de la prueba consiste en que todos los ratones reciben la inyección de vehículo (s.c. o i.p.). De treinta a 120 minutos después de la inyección, se permite el acceso al alcohol y al agua. Se calcula el consumo de alcohol durante ese día (g/kg) y se asignan los grupos de manera que todos los grupos tengan un consumo de alcohol equivalente. El día 2 y 3, los ratones reciben una inyección con vehículo o fármaco y se sigue el mismo protocolo seguido el día anterior. El día 4 es de limpieza y no se aplica ninguna inyección. Se analizan los datos usando ANOVA con medidas repetidas. Se vuelve a comparar el cambio en el consumo de agua o alcohol con el del vehículo para cada día de la prueba. Los resultados positivos se interpretarían como un compuesto que fue capaz de reducir significativamente el consumo de alcohol sin tener efecto en el consumo de agua.

15 **Procedimientos de consumo de oxígeno:**

- Se mide el consumo de oxígeno del cuerpo entero usando un calorímetro indirecto (Oxymax de Columbus Instruments, Columbus, OH) en ratas Sprague Dawley macho (en caso de usarse otra cepa de ratas o ratas hembra, se especificará). Se colocan las ratas (p.ej., peso corporal de 300–380 g) en las cámaras del calorímetro y se colocan las cámaras en monitores de actividad. Estos estudios se realizan durante el ciclo de luz. Antes de medir el consumo de oxígeno, se alimentan las ratas con comida estándar a voluntad. Durante la medición del consumo de oxígeno, no hay alimento. Se miden el consumo de oxígeno previo a la dosis de referencia y la actividad ambulatoria cada 10 minutos durante 2,5 a 3 horas. Al final del período de predosificación de referencia, se abren las cámaras y se administra a los animales una sola dosis de compuesto (el intervalo de dosis habitual es de 0,001 a 10 mg/kg) mediante alimentación forzada oral (u otra vía de administración según lo especificado, i.e., s.c., i.p., i.v.). Los fármacos se preparan en metilcelulosa, agua u otro vehículo especificado (los ejemplos incluyen PEG400, ciclodextrano beta al 30% y propilenglicol). Se miden el consumo de oxígeno y la actividad ambulatoria cada 10 minutos durante otro período posterior a la dosificación de 1–6 horas.

- El programa informático del calorímetro Oxymax calcula el consumo de oxígeno (ml/kg/h) en base al caudal de aire que pasa a través de las cámaras y la diferencia del contenido de oxígeno en los puertos de entrada y de salida. Los monitores de actividad tienen 15 haces de luz infrarroja separados unos 2,5 cm sobre cada eje, la actividad ambulatoria se registra cuando se rompen dos haces consecutivos, y los resultados se registran como recuentos.

- Se calcula el consumo de oxígeno en reposo antes y después de la dosificación haciendo la media de los valores de consumo cada 10 min, excluyendo los períodos de actividad ambulatoria elevada (recuento de actividad ambulatoria > 100) y excluyendo los 5 primeros valores del período previo a la dosificación y el primer valor del período posterior a la dosificación. El cambio en el consumo de oxígeno se presenta como un porcentaje y se calcula dividiendo el consumo de oxígeno en reposo tras la dosificación entre el consumo de oxígeno previo a la dosificación x 100. Los experimentos se realizaron comúnmente con n = 4–6 ratas y los resultados presentados son la media +/- EEM.

Interpretación:

- 40 Un aumento del consumo de oxígeno de > 10% se considera un resultado positivo. Históricamente, las ratas tratadas con vehículo no tienen ningún cambio en el consumo de oxígeno con respecto al valor de referencia previo a la dosificación.

Dependencia de la nicotina

- 45 Se puede usar un modelo de autoadministración de nicotina intravenosa o modelo de preferencia por un lugar para evaluar los efectos de un compuesto de prueba en la dependencia de la nicotina (véase, p.ej., Vastola, *et al. Physiol. Behav.* 77:107–114, 2002; Brower, *et al., Brain Res.* 930:12–20, 2002).

Preferencia por un lugar

En este estudio, se usan ratas Sprague–Dawley (Vastola, *et al.*, 2002). Se enjaulan los animales en un ciclo de iluminación de 12 h/ 12 h a una temperatura controlada con acceso de alimento y agua a voluntad. El

acondicionamiento y la prueba se realizan en una cámara dividida en dos compartimentos con una puerta de separación entre ellos. Se graba con una cámara de vídeo el comportamiento de los animales.

5 Los animales son habituados al procedimiento de inyección durante varios días. Luego, se colocan los animales en la cámara de prueba y se les ofrece acceso libre a ambos compartimentos. Se determina la preferencia inicial por un determinado compartimento. Para los ensayos de condicionamiento, se inyecta nicotina a los animales y se les restringe el paso al compartimento no preferido, o se inyecta solución salina a los animales y se les restringe el paso al compartimento preferido. El día de la prueba, se retira la puerta de separación de los compartimentos, se coloca al animal en el centro de la cámara y se permite que se mueva libremente entre los compartimentos. Se registra el tiempo que pasa en cada uno de los compartimentos. La preferencia por ocupar el compartimento con nicotina se produce tras los efectos de refuerzo condicionado de nicotina.

Autoadministración

15 La autoadministración en animales es una variable predictiva del posible abuso de un compuesto en seres humanos. Las modificaciones realizadas a este procedimiento también se pueden usar para identificar los compuestos que evitan o bloquean las propiedades que refuerzan las caladas susceptibles de un posible abuso. Un compuesto que extingue la autoadministración de una calada puede evitar el abuso de dar caladas o su dependencia.

20 En este estudio, se usan ratas Sprague–Dawley. Inicialmente, se enjaulan los animales en un ciclo de iluminación de 12 h/ 12 h a una temperatura controlada con acceso de alimento y agua a voluntad. Luego se implantan catéteres yugulares con salida a través de la espalda a los animales, y se coloca a cada animal en una cámara operante individual (Brower, *et al.*, 2002). Se conectan los catéteres a una bomba de jeringa dirigida por ordenador ubicada fuera de la cámara. La cámara contiene dos palancas con una luz verde sobre cada palanca. La luz se ilumina cuando hay nicotina disponible.

25 En una prueba de autoadministración, se colocan los animales en las cámaras operantes y se asignan aleatoriamente las palancas activas e inactivas. Cada respuesta sobre la palanca activa produce una infusión de nicotina. Las presiones en la palanca inactiva no tienen efecto, pero también se registran. Luego se preparan los animales para la autoadministración de nicotina durante un período establecido de tiempo teniendo acceso a dar caladas durante cada sesión diaria. El encendido de la luz de la cámara señala el comienzo de la sesión y la disponibilidad de nicotina. Cuando la sesión finaliza, se apaga la luz. Inicialmente, la infusión de nicotina se produce cada vez que se presiona la palanca activa. Una vez establecida la conducta de presión de palanca, se aumenta el número de presiones necesario para producir una infusión de nicotina. Tras obtener la autoadministración de nicotina estable, es posible evaluar el efecto de un compuesto de prueba sobre la conducta reforzada hacia la nicotina. La administración de este compuesto de prueba antes de la sesión puede bien potenciar, extinguir o no cambiar la conducta de autoadministración. Las pruebas se realizan cada dos días, y se controla el orden de administración de las dosis del compuesto de prueba.

35 EXPERIMENTOS DE ALZHEIMER/DEMENCIA

Tarea del laberinto acuático de Morris

40 El laberinto acuático de Morris es una prueba conductual *in vivo* para medir el aprendizaje de la orientación espacial y la memoria a través de una tarea aprendizaje complejo. Es muy adecuada para probar compuestos que potencian el aprendizaje y la memoria. Se llena un tanque o una piscina circular (2 m de diámetro, 0,7 m de altura) de agua y se coloca una plataforma de 10 cm² 1–1,5 cm por debajo de la superficie del agua en una ubicación definida dentro de la piscina. La plataforma de escape no es visible para el animal que nada en el tanque de agua. Para el experimento, se mete una rata o un ratón en la piscina para que nada libremente.

45 Los animales tienen la tarea de localizar la plataforma sumergida, y se mide el tiempo y la distancia necesarios para recuperarla satisfactoriamente. Se proporcionan múltiples señales más del laberinto mediante mobiliario en la sala, incluyendo escritorios, equipamiento informático, un segundo tanque de agua, la presencia del experimentador y una radio colocada sobre una estantería a un volumen suave.

Antes de la administración del compuesto de prueba, se preparan los animales de la manera habitual en la tarea 4 veces al día durante 5 días. Los compuestos de análisis se administran oral o intraperitonealmente el día del experimento en un momento definido (p.ej., 30 minutos antes de la primera prueba de natación). Los animales

control reciben el correspondiente vehículo que no contiene compuesto de prueba. Los compuestos activos producen tiempos y distancias menores para localizar la plataforma (i.e., cuanto mejor recuerda el animal la ubicación de la plataforma, menor será la distancia que recorre y más rápido alcanzará la plataforma).

5 La prueba también se puede llevar a cabo usando animales transgénicos o con un deterioro cognitivo. El deterioro cognitivo es provocado bien por una edad avanzada o experimentalmente, mediante lesiones cerebrales, tales como lesiones bilaterales de la corteza entorrinal de las ratas. Tales lesiones se pueden producir mediante inyecciones intracerebrales de la excitotoxina ácido iboténico.

Tarea de reconocimiento de objetos

10 La tarea de reconocimiento de objetos se usa para evaluar los efectos de los compuestos en el rendimiento cognitivo de los roedores. Se coloca una rata en un campo abierto en el que hay dos objetos idénticos. Las ratas inspeccionan ambos objetos durante el ensayo inicial de la prueba. Tras un cierto intervalo de retención (p.ej., 24 horas), se lleva a cabo un segundo ensayo. Aquí, se colocan en el campo abierto uno de los dos objetos del primer ensayo (el objeto “familiar”) y un nuevo objeto, y se mide el tiempo de inspección de cada uno de los objetos. La buena retención se refleja en mayores tiempos de exploración para el nuevo objeto en comparación con el objeto “familiar”.

15

La administración de un supuesto potenciador de la cognición antes del primer ensayo permite predominantemente la evaluación de los efectos sobre la adquisición y sobre los procedimientos de consolidación. La administración del compuesto de prueba tras el primer ensayo permite evaluar los efectos sobre los procedimientos de consolidación, mientras que la administración antes del segundo ensayo permite medir los efectos sobre los procedimientos de recuperación.

20

Tarea de evasión pasiva

La tarea de evasión pasiva evalúa el rendimiento de la memoria en ratas y ratones. La evasión inhibitoria usa un aparato que consiste en una caja con dos compartimentos separados por una puerta de guillotina que el experimentador puede manejar. Uno de los compartimentos está iluminado con una luz brillante y el otro está a oscuras. Un umbral de 2 cm separa los dos compartimentos cuando se eleva la puerta de guillotina 15 cm. Cuando la puerta está abierta, la iluminación del compartimento oscuro es de aproximadamente 2 lux. La intensidad de la luz es de aproximadamente 500 lux en el centro del suelo del compartimento iluminado.

25

Se dan sesiones de habituación, una sesión de descarga y una sesión de retención separadas por intervalos de 24 horas. Durante las sesiones de habituación y la sesión de retención, se deja que la rata explore el aparato durante 300 segundos. Se coloca la rata en el compartimento de luz, mirando hacia la pared opuesta a la puerta de guillotina. Tras un período de aclimatación de 15 segundos, se abre la puerta de guillotina, de manera que se puede acceder libremente a todas las partes del aparato. Las ratas normalmente evitan las zonas muy iluminadas y entrarán en el compartimento oscuro en pocos segundos.

30

En la sesión de descarga, se baja la puerta de guillotina situada entre los compartimentos en cuanto la rata entra en el compartimento oscuro con todas las patas y se aplica una descarga codificada en las patas de 1mA durante 2 segundos. Luego se retira la rata del aparato y se devuelve a su jaula. El procedimiento durante la sesión de retención es idéntico al de las sesiones de habituación.

35

La latencia por etapas, es decir, la primera latencia de entrar en el compartimento oscuro (en segundos) durante la sesión de retención es un índice del rendimiento de la memoria del animal: se supone que si la latencia de entrada al compartimento oscuro es mayor el animal tiene una mejor retención. Se administra un compuesto de prueba 30 minutos antes de la sesión de descarga, junto con 1 mg/kg de escopolamina. La escopolamina afecta al rendimiento de la memoria durante la sesión de retención 24 horas posterior. Si el compuesto de prueba aumenta la latencia de entrada en comparación con los controles tratados con escopolamina, se considera que el animal posee una actividad potenciadora de la cognición.

40

Tarea de alternancia espontánea en un laberinto en forma de T

La tarea de alternancia espontánea en un laberinto en forma de T (TeMCAT) evalúa el rendimiento de la memoria espacial en ratones. Se disponen puertas de guillotina en el brazo inicial y en los dos brazos finales del laberinto en forma de T que el experimentador podrá manejar manualmente. Al comenzar el entrenamiento, se coloca un ratón

45

en el brazo inicial. En el primer ensayo, se bloquea bien el brazo final izquierdo o el derecho bajando la respectiva puerta de guillotina (ensayo forzado).

5 Una vez liberado el ratón del brazo inicial, explorará el laberinto y, finalmente, entrará en el brazo final que esté abierto y volverá a la posición inicial, en donde quedará confinado durante 5 segundos al bajar la puerta de guillotina. Luego, el animal puede elegir libremente entre el brazo final izquierdo o el derecho (todas las puertas de guillotina abiertas) durante 14 ensayos más (ensayos de libre elección). En cuanto un ratón entra en un brazo final, el otro brazo se cierra. El ratón finalmente vuelve al brazo inicial y es libre de visitar cualquier brazo que desee tras haber sido confinado en el brazo inicial durante 5 segundos. Tras finalizar los 14 ensayos de libre elección en una sesión, el animal es retirado del laberinto.

10 Se calcula el porcentaje de alteraciones de los 14 ensayos. Se analiza este porcentaje y el tiempo total necesario para completar el primer ensayo forzado y los 14 ensayos de libre elección posteriores (en segundos). Además, se pueden inducir déficits cognitivos mediante la inyección de escopolamina 30 minutos antes de iniciar la sesión de entrenamiento. Un potenciador de la cognición, administrado antes de la sesión de entrenamiento, antagonizará, al menos parcialmente, la reducción inducida por escopolamina de la tasa de alteraciones espontáneas.

15 **Modelo de depresión**

Se puede usar un modelo de natación forzada o de suspensión por la cola para evaluar la eficacia de compuestos antidepresivos (véase, p.ej., Porsolt, *et al.*, *Nature* 266:730–732, 1977; Stem, *et al.*, *Psychopharmacology* 85:367–370, 1985).

Prueba de natación forzada

20 Se colocan ratas o ratones en un cilindro lleno de agua a 23–25°C de donde es imposible escapar. Inicialmente, los animales forcejean y tratan de escapar, pero al final, adoptan una postura inmóvil característica y dejan de intentar escapar, a excepción de pequeños movimientos necesarios para mantener la cabeza fuera del agua. Se administra a los ratones un compuesto y un observador mide la actividad (nadar o trepar) o la inmovilidad. La inmovilidad es considerada por algunos como el reflejo de una “conducta de desesperación”, en la que los animales dejan de forcejear para escapar de la situación de aversión. Una amplia variedad de antidepresivos clínicamente usados (TCA, MAOI, SSRI, atípicos) disminuye la inmovilidad en esta prueba, que tiene una buena validez predictiva en tanto en cuanto detecta los antidepresivos con diferentes mecanismos de acción, pero una validez conceptual débil. Se producen al menos dos patrones conductuales activos distintos mediante fármacos antidepresivos farmacológicamente selectivos. Los inhibidores selectivos de la reabsorción de la serotonina aumentan la conducta de nadar, mientras que los fármacos que actúan fundamentalmente para aumentar los niveles extracelulares de norepinefrina o dopamina aumentan la conducta de trepar. Hay falsos positivos (psicoestimulantes), pero relativamente pocos falsos negativos (agonistas beta–adrenérgicos). La prueba es sensible a los efectos de relajación muscular (benzodiazepinas) y sedantes (neurolépticos), que conducen a aumentar la inmovilidad. Los falsos positivos y los falsos negativos a menudo se pueden rastrear midiendo si el compuesto produce estimulación locomotora o sedación.

Prueba de suspensión por la cola

40 Cuando son suspendidos por la cola, los ratones inicialmente forcejearán e intentarán escapar, y luego alternarán los intentos activos por escapar y la inmovilidad. En esta prueba, se administra a los ratones un compuesto, y un observador mide la inmovilidad durante 6 min. Porsolt describe la conducta inmóvil como una “conducta de desesperación” en el que los animales dejan de forcejear por escapar de la situación de aversión. Una amplia variedad de antidepresivos clínicamente usados (tricíclicos, MAOI, SSRI y atípicos) disminuyen la inmovilidad en este modelo. La prueba tiene una buena validez predictiva para la actividad antidepresiva y funciona para la mayoría de las clases de antidepresivos, pero con algunos falsos positivos (psicoestimulantes). La prueba es sensible a los efectos de relajación muscular (benzodiazepinas) y sedantes (neurolépticos), que conducen a aumentar la inmovilidad. Los falsos positivos y los falsos negativos a menudo se pueden rastrear midiendo si el compuesto produce estimulación locomotora o sedación. Se han encontrado diferencias entre cepas de ratones en la prueba de suspensión por la cola. La prueba de suspensión por la cola tiene cierta validez aparente, pero su validez conceptual es débil.

Modelo de esquizofrenia

Se puede usar un modelo de inhibición prepulso para evaluar la eficacia de compuestos antipsicóticos (véase Swerdlow y Geyer, "Schizophrenia Bulletin" 24: 285–301, 1998).

Inhibición prepulso

5 La inhibición prepulso es el procedimiento mediante el cual un estímulo relativamente suave, el prepulso, inhibe la respuesta hacia un estímulo potente que provoca un sobresalto cuando el prepulso precede al estímulo de sobresalto en un breve espacio de tiempo (aproximadamente 10 a 500 milisegundos). La inhibición prepulso es un fenómeno de diversas especies (i.e., está presente en mamíferos que varían de ratones a seres humanos), aunque está relativamente ausente entre los pacientes esquizofrénicos. Se cree que el déficit del PPI en los pacientes
10 esquizofrénicos refleja la pérdida de la regulación sensoriomotriz, que puede conducir a la inundación sensorial y la fragmentación cognitiva. En esta prueba, se administra a los ratones o las ratas compuestos y se colocan individualmente en un soporte sobre una plataforma transductora para medir los sobresaltos de todo el cuerpo. Se introduce el soporte en una cámara para la detección de alteraciones sensoriomotrices con un ruido blanco de fondo. Tras un breve período de habituación, se realizan en los animales múltiples ensayos de un estímulo de
15 prepulso acústico débil, seguidos por un fuerte estímulo acústico de sobresalto. Se realizan cuatro tipos de ensayos: prepulso más sobresalto, prepulso solo, sobresalto solo y estimulación nula. La PPI se mide como la cantidad de inhibición del sobresalto tras el prepulso y se expresa como el porcentaje de sobresalto básico. Como control, se toman medidas en los ensayos sin estimulación y en los de solo prepulso. La PPI se considera una prueba con buena validez predictiva, aparente y conceptual para la esquizofrenia. Se pueden analizar supuestos
20 antipsicóticos solos para determinar si aumentan la PPI. Alternativamente, se pueden rastrear los antipsicóticos para determinar si bloquean diversos agentes que afectan a la PPI (apomorfina, d-anfetamina, PCP, quetamina, DOI). Finalmente, se pueden rastrear ratones mutantes con o sin fármacos usando el procedimiento de PPI.

Modelo de ansiedad

25 Se puede usar un modelo de laberinto MAS elevado para evaluar la eficacia de compuestos ansiolíticos (véase Pellow y File, *Pharm. Biochem. Behav.* 24, 525–529, 1986).

Laberinto MAS elevado

El laberinto MAS elevado se usa ampliamente como un paradigma de la ansiedad que examina el conflicto entre el instinto por explorar, y la aversión a las alturas y los espacios abiertos de ratas o ratones. El laberinto es una cruz formada por dos brazos abiertos y dos brazos cerrados que está elevada sobre el nivel del suelo. Se cree que la
30 combinación de luz, los brazos abiertos y la altura producen un miedo incondicionado o respuestas de ansiedad en ratones o ratas. El aparato de prueba es un laberinto abierto por la parte superior de plástico opaco en el que se alternan brazos abiertos y cerrados. Para las ratas, cada brazo tiene una longitud de 45–55 cm y una anchura de 8–12 cm, con los lados de los brazos cerrados de una altura de 35–45 cm, la unión de aproximadamente 10 x 10 cm, y el laberinto está elevado 45–55 cm por encima del suelo. El laberinto MAS elevado para ratones consta de dos
35 brazos cerrados (15 x 6 x 30 cm) y dos brazos abiertos (1 x 6 x 30 cm) en forma de cruz con un centro cuadrangular (6 x 6 cm). El laberinto está situado 50 cm por encima del nivel del suelo. Se realiza una prueba en una sala libre de ruido y distracciones. Los días de la prueba, se administra a los animales fármaco o vehículo. Si hace falta un período de pretratamiento, se devuelve a los animales a la jaula mientras dura el pretratamiento; de lo contrario, se colocan los animales individualmente en una cámara espaciadora de plástico transparente o junto a su pareja de
40 jaula durante 1–10 minutos antes del tiempo de la prueba. Luego se colocan las ratas en el centro del laberinto siempre orientadas en la misma dirección, bien sistemáticamente en frente de un brazo abierto o de un brazo cerrado. Durante 5–10 minutos, el o los observadores registran las entradas en cada uno de los brazos y el tiempo que pasan en cada brazo. Esto también se puede grabar por vídeo o mediante una entrada receptora de ordenador de una cámara de vídeo montada sobre el laberinto. Para que cuente como entrada, las cuatro patas deben estar
45 dentro del brazo. Si es necesario, se registrarán otras medidas de conductas relacionadas con la ansiedad, i.e., el tiempo que pasan sin moverse, el tiempo que pasan en el centro, el tiempo que pasan preparándose y el número de posturas de estiramiento o de excrementos producidos. Tras la prueba, los animales son devueltos a sus jaulas. Cuando los animales se colocan en el centro del laberinto, éstos pasan la mayor parte del tiempo en los brazos cerrados, evitando los brazos abiertos. Los fármacos ansiolíticos, tales como las benzodiazepinas, aumentarán el
50 tiempo que los animales pasan en los brazos abiertos. La prueba también es sensible a los fármacos ansiogénicos, lo que conduce a reforzar su validez predictiva.

Disfunción eréctil

- 5 Los fármacos que afectan a la función eréctil se pueden analizar midiendo el efecto sobre los aumentos provocados por la apomorfina en la presión intracavernosa de la rata despierta, según lo descrito por Andersson, *et al.*, (*J. Urol.* 161: 1707–17] 2, 1999). Se implanta un extremo de un tubo de polietileno en el espacio cavernoso del pene de ratas Sprague–Dawley macho. Tras recuperarse de la cirugía, se registra la presión intracavernosa usando un transductor de presión conectado a un registrador de pluma multicanal. Se inducen erecciones mediante la administración de apomorfina (100–250 ug/kg s.c.) con o sin compuesto de prueba, y se comparan los resultados para el grupo tratado y el grupo no tratado.

Disfunción sexual femenina

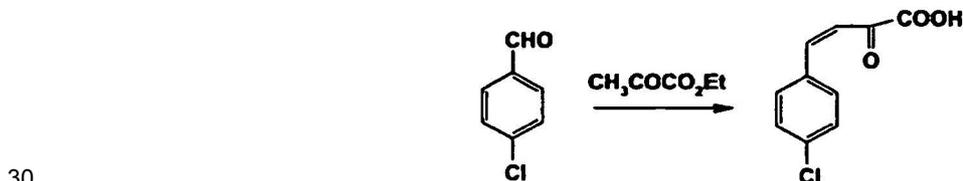
- 10 Los sistemas para probar compuestos para el tratamiento de la disfunción sexual femenina incluyen modelos *in vitro* e *in situ* que usan preparaciones de músculo liso vaginal o clitoral, la evaluación histológica y evaluaciones del flujo sanguíneo vaginal. Los estudios *in vivo* de respuestas sexuales se centran en paradigmas conductuales que implican posturas lordóticas y receptividad, así como índices de motivación con el uso de un procedimiento de marcapasos bicameral (véase, p.ej., Hale, *et al.*, *Int. J. Impot. Res.* 15 Supl 5: S75–79, 2003).
- 15 A continuación, se ilustra la presente invención con la ayuda de ejemplos. Estas ilustraciones se ofrecen únicamente a modo de ejemplo y no limitan el espíritu general de la presente invención.

Ejemplos**Abreviaturas:**

- Eq.: Equivalente
- 20 Proc.: Procedimiento
- Disolv. Crist.: disolvente usado en el experimento de cristalización
- T Crist.: Temperatura a la que se lleva a cabo el experimento de cristalización
- 1ª Crist.: primera cristalización
- 2ª Cris.: segunda cristalización
- 25 T.A.: temperatura ambiente (~20–25°C)

Ejemplo 1:

Síntesis general de N-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-carboxamida racémica

a) Ácido 4-(4-clorofenil)-2-oxo-3-butenico

- 35 En un matraz de tres cuellos, se disolvieron *p*-clorobenzaldehído (13,3 g; 95 mmol) y piruvato de etilo (10 g; 86 mmol) en 150 ml de etanol absoluto. Se enfrió la solución con hielo hasta 0°C y se añadió una solución acuosa de NaOH (3,8 g en 45 ml de agua) en gotas manteniendo la temperatura por debajo de o igual a 10°C, mediante lo que se formó un precipitado de color amarillo anaranjado. Se agitó la mezcla de reacción durante 1 h a 0°C y luego durante 1,5 horas más a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C). Tras ello, se enfrió la mezcla de reacción hasta aproximadamente 5°C y se aisló la sal sódica insoluble de ácido 4-(4-clorofenil)-2-oxo-3-butenico mediante filtración.

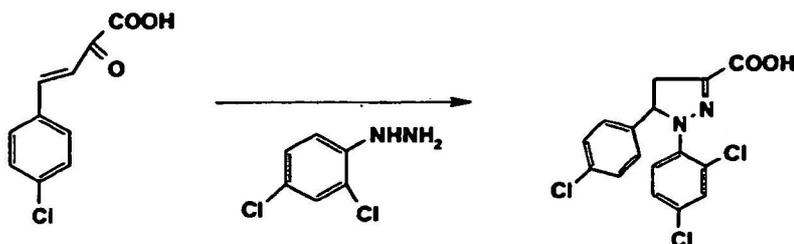
Se dejó el filtrado en el refrigerador durante una noche, mediante lo que se formó más precipitado, que fue filtrado, combinado con la primera fracción de la sal y lavado con dietiléter. Luego se trató la sal de sodio de ácido 4-(4-

clorofenil)-2-oxo-3-butenico con una solución de HCl 2N, se agitó durante algunos minutos y se separó ácido 4-(4-clorofenil)-2-oxo-3-butenico sólido mediante filtración, y se secó para dar 12,7 g del producto deseado (70% de rendimiento teórico).

IR (KBr, cm^{-1}): 3500-2500; 1719,3; 1686,5; 1603,4; 1587,8; 1081,9.

5 ^1H -RMN (CDCl_3 , δ): 7,4 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 7,5 (d, $J = 16,1$ Hz, 1H), 7,6 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), -8,1 (d, $J = 16,1$ Hz).

b) Ácido 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico

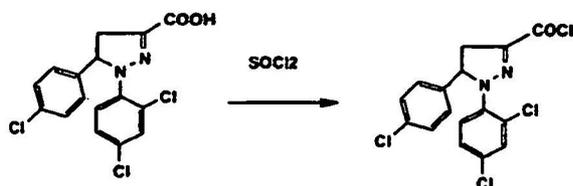


10 Se mezclaron ácido 4-(4-clorofenil)-2-oxo-3-butenico obtenido según la etapa a) (12,6 g; 60 mmol), clorhidrato de 2,4-diclorofenilhidrazina (12,8 g; 60 mmol) y ácido acético glacial (200 ml) bajo una atmósfera de nitrógeno y se calentaron hasta el reflujo durante 4 horas, se volvieron a enfriar hasta la temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) y se metieron en agua con hielo, mediante lo que se obtuvo una masa pegajosa que se extrajo con cloruro de metileno. Se lavaron las fracciones de cloruro de metileno combinadas con agua, se secaron con sulfato sódico, se filtraron y se evaporaron hasta la sequedad para dar un sólido amarillo pálido (12,7 g; 57% de rendimiento teórico).

IR (KBr, cm^{-1}): 3200-2200; 1668,4; 1458; 1251,4; 1104,8.

15 ^1H -RMN (CDCl_3 , δ): 3,3 (dd, 1H), 3,7 (dd, 1H), 5,9 (dd, 1H), 7,09-7,25 (m, 7H).

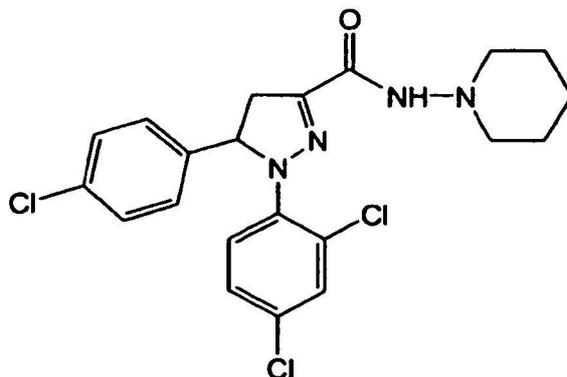
(c) cloruro de ácido 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico



20 Bajo una atmósfera de nitrógeno, se disolvió el ácido 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico (2,5 g; 6,8 mmol) obtenido según la etapa (b) en 4 ml de cloruro de tionilo, y se calentó hasta el reflujo durante 2,5 horas. Se eliminó el exceso de cloruro de tionilo de la mezcla de reacción bajo una presión reducida, y el residuo crudo resultante (2,6 g) se usó sin mayor purificación.

IR (KBr, cm^{-1}): 1732,3; 1700; 1533,3; 1478,1; 1212,9; 826,6.

25 **d) N-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidropirazol-3-carboxamida** [este compuesto también se puede denominar piperidin-1-ilamida de ácido 5-(4-cloro-fenil)-1-(2,4-dicloro-fenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-carboxílico o 1-(2,4-diclorofenil)-5-(4-clorofenil)-4,5-dihidro-N-(piperidin-1-il)-1H-pirazol-3-carboxamida].



5 Bajo una atmósfera de nitrógeno, se disolvieron *N*-aminopiperidina (0,6 ml; 5,6 mmol) y trietilamina (4 ml) en cloruro de metileno (25 ml). Se volvió a enfriar con hielo la mezcla resultante hasta 0°C y se añadió una solución de cloruro de ácido 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico obtenida en la etapa (c) en cloruro de metileno (15 ml) en gotas. Se agitó la mezcla de reacción resultante a temperatura ambiente (aproximadamente 25°C) durante una noche. Tras ello, se lavó la mezcla de reacción con agua, seguida por una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico, luego se volvió a lavar con agua, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se evaporó hasta la sequedad en un rotavapor. Se cristalizó el sólido crudo resultante en etanol. Se retiró el sólido cristalizado mediante filtración y se concentraron los licores madre hasta producir una segunda fracción de producto cristalizado. Se combinaron las dos fracciones para dar una cantidad total de 1,7 g (57% de rendimiento teórico) de *N*-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidropirazol-3-carboxamida que tenía un punto de fusión de 183–186°C.

IR (KBr, cm^{-1}): 3222,9; 2934,9; 1647,4; 1474,7; 1268,3; 815,6.

15 ^1H -RMN (CDCl_3 , δ): 1,4 (m, 2H), 1,7 (m, 4H), 2,8 (m, 4H), 3,3 (dd, $J = 6,1$ y $18,3$ Hz, 1H), 3,7 (dd, $J = 12,5$ y $18,3$ Hz, 1H), 5,7 (dd, $J = 6,1$ y $12,5$ Hz, 1H), 7,0–7,2 (m, 6H), 7,4 (s, 1H).

La resolución del racemato de *N*-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-carboxamida se puede llevar a cabo mediante procedimientos conocidos por los expertos en la técnica, p.ej., cromatografía en columna.

20 Sin embargo, los presentes inventores han descubierto que su compuesto intermedio, concretamente, el ácido 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico se puede separar fácilmente en los respectivos enantiómeros mediante la reacción con una base quiral. A continuación, se describe el procedimiento para esta resolución.

Ejemplo 2:

25 Resolución de los enantiómeros de ácido 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico

La resolución de los enantiómeros de ácido 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico se llevó a cabo mediante la reacción con las siguientes bases quirales:

- Brucina
- Quinina
- 30 • (–)-Cinconidina
- (+)-Cinconina
- *R*-(+)-1-Feniletilamina
- Clorhidrato de (1*R*,2*S*)-(–)-efedrina
- Clorhidrato de (1*S*,2*R*)-(+)-efedrina

En cada caso, las reacciones se llevaron a cabo con 0,5 y 1 equivalente de base con respecto a 1 equivalente de compuesto de ácido y usando los siguientes disolventes:

- Etanol
- Acetona
- 5 • Acetonitrilo
- Dioxano
- Etilacetato
- Cloroformo.

10 Los resultados se resumen en las siguientes tablas. Puede entenderse que los experimentos de cristalización anteriormente mencionados que no quedan reflejados en las siguientes tablas no produjeron cristales de las respectivas sales en las condiciones dadas.

Sin embargo, los expertos en la técnica pueden determinar las condiciones adecuadas para la cristalización de estas sales mediante experimentos rutinarios.

En las siguientes tablas:

15 Ácido representa ácido 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico racémico;

R-Ácido representa el derivado respectivo del ácido (*R*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico;

S-Ácido representa el derivado respectivo de ácido (*S*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico.

20 **Procedimientos para la cristalización:**

Procedimiento A: se añadió una solución de la base quiral sobre una solución del ácido racémico a temperatura ambiente.

25 **Procedimiento C:** se añadió una solución del ácido racémico sobre una solución de la base quiral. Se calentó la mezcla hasta el reflujo y se añadió disolvente hasta completar la disolución. Se dejó cristalizar la solución a T.A.

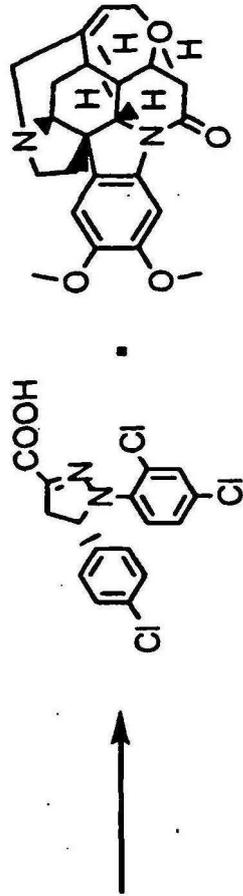
Procedimiento D: se añadió directamente la base quiral sobre una solución del ácido racémico a temperatura ambiente.

Procedimiento E: se añadió directamente la base quiral sobre una solución del ácido racémico a temperatura de reflujo.

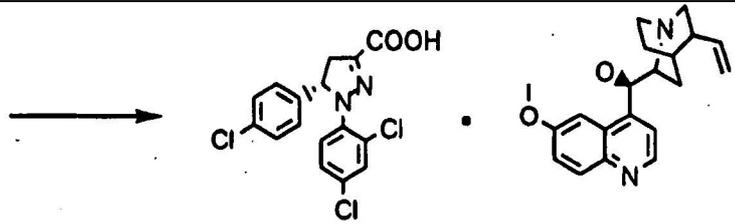
30 **Procedimiento F:** se evaporó la solución de la sal hasta la sequedad. Se disolvió el residuo en una cantidad mínima del disolvente bajo calentamiento a reflujo. Se dejó cristalizar la solución a T.A.

Resolución con brucina

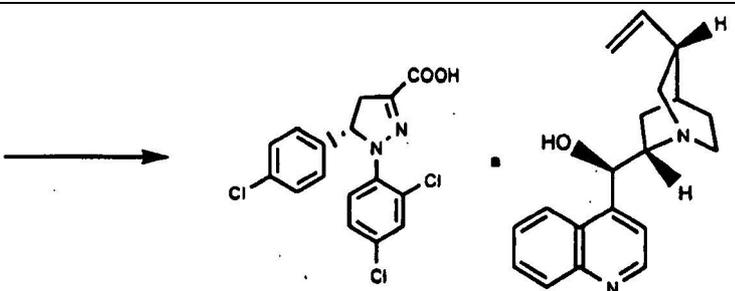
Brucina									
Ácido g (mmol)	Eq. de amina	Proc.	Disolvente para la cristalización	T Crist.	Rendimiento de la 1ª crist. %	S-Ácido %	R-Ácido %	Rendimiento de la 2ª crist. %	S-Ácido %
0,4 g (1,09 mmol)	0,5	A	8 ml de acetona	T.A.	44,6	98,8	1,2	5,6%	99,4
0,4 g (1,09 mmol)	0,5	A	11,5 ml de acetonitrilo	T.A.	50,7	47,5	52,4		
0,4 g (1,09 mmol)	1	A	17 ml de acetonitrilo	T.A.	25,6	45,7	54,3		



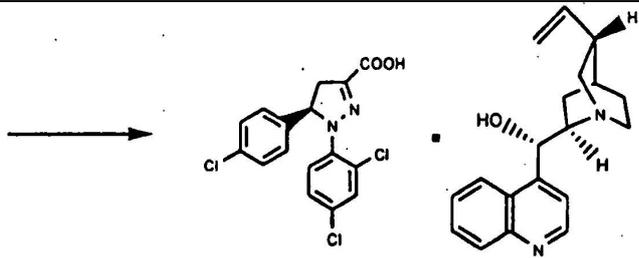
Resolución con quinina

							
Ácido g (mmol)	Eq. de amina	Proc.	Disolvente para cristalización	T Cris.	Rendimiento de la 1ª crist. %	S-Ácido %	R-Ácido %
0,4 g (1,09 mmol)	1	A	8 ml de dioxano	T.A.	49,46	91,6	8,3
0,4 g (1,09 mmol)	1	F	15 ml de acetonitrilo	T.A.	26	94,4	5,5
0,4 g (1,09 mmol)	1	F	2 ml de etilacetato	T.A.	25	96,7	3,3
0,4 g (1,09 mmol)	0,5	A	4 ml de dioxano	T.A.	38,5	97,5	2,5

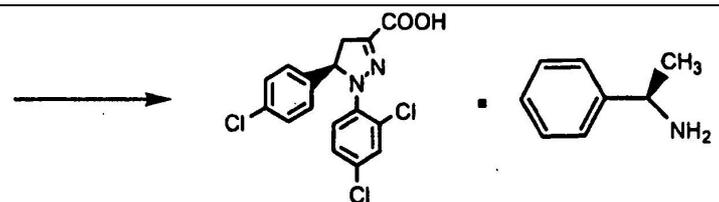
Resolución con (-)-cinconidina

							
Ácido g (mmol)	Eq. de amina	Proc.	Disolvente para cristalización	T Cris.	Rendimiento de la 1ª crist. %	S-Ácido %	R-Ácido %
0,4 g (1,09 mmol)	1	F	2 ml de dioxano	T.A.	31	94,4	5,6
0,4 g (1,09 mmol)	1	F	19 ml de etilacetato	T.A.	28,5	95,8	4,2
0,4 g (1,09 mmol)	1	F	20 ml de acetona	T.A.	19,6	96,9	3,1
0,4 g (1,09 mmol)	1	F	24 ml de acetonitrilo	T.A.	42	85,8	14,1

Resolución con (+)-cinconina

							
Ácido	Eq. de amina	Proc.	Disolvente para cristalización	T Cris.	Rendimiento de la 1ª crist. %	S-Ácido %	R-Ácido %
0,4 g (1,09 mmol)	1	C	50 ml de acetona	T.A.	32,8	7,42	92,57
0,4 g (1,09 mmol)	0,5	F	30 ml de acetona	T.A.	23,5	4,0	95,9
0,4 g (1,09 mmol)	0,5	C	50 ml de acetonitrilo	T.A.	31,5	3,07	96,92
0,4 g (1,09 mmol)	1	C	50 ml de acetonitrilo	T.A.	78,25	39,01	60,98
0,4 g (1,09 mmol)	0,5	C	15 ml de etilacetato	T.A.	14,9	3,62	96,37
0,4 g (1,09 mmol)	1	C	27 ml de etilacetato	T.A.	35	7,78	92,21
0,4 g (1,09 mmol)	1	F	4 ml de dioxano	T.A.	21	33,5	66,4

Resolución con *R*-(+)-1-feniletilamina

							
Ácido	Eq. de amina	Proc.	Disolvente para cristalización	T Cris.	Rendimiento de la 1ª crist. %	S-Ácido %	R-Ácido %
0,4 g (1,09 mmol)	1	D	1,6 ml de etanol	T.A.	22	51,4	48,6
0,4 g (1,09 mmol)	0,5	E	6 ml de acetonitrilo	T.A.	11	8,1	91,9
0,4 g (1,09 mmol)	1	E	6 ml de acetonitrilo	T.A.	50	36,8	63,2
0,4 g (1,09 mmol)	1	E	6 ml de dioxano	~5°C	5	4,6	95,3

Descripción detallada:**Resolución de ácido 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico con (+)-cinconina**

5 Se añadieron 35 g (294,68 mmol) de ácido 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico racémico en 630 ml de acetonitrilo a una suspensión de 16,39 g (47,34 mmol) de (+)-cinconina en 920 ml de acetonitrilo bajo una agitación vigorosa. Se calentó la suspensión resultante hasta el reflujo y se añadió acetonitrilo (1.300 ml) hasta completar la disolución. Se dejó cristalizar la solución resultante a temperatura ambiente durante el fin de semana, tras lo que se obtuvo un sólido cristalino. Se filtró el sólido cristalino, se lavó con 50 ml de acetonitrilo frío y se secó para dar 25,26 g de un sólido blanco (ee ~ 91-92%). No se pudo obtener una segunda fracción de cristales de los licores madre, ni tras el enfriamiento en el refrigerador ni tras la concentración. Así pues, se llevó a cabo la recrystalización de la sal diastereomérica en diferentes disolventes para mejorar el exceso enantiomérico:

Disolvente	Rendimiento	Proporción de enantiómeros % (R) / % (S)
Acetonitrilo	90%	99,6 / 0,4
EtOH-H ₂ O	68,5%	99,3 / 0,7
Isopropanol	55%	98,9 / 1,1

15 Por consiguiente, se recrystalizó el producto en acetonitrilo para dar 22,6 g de cristales (rendimiento del 72% molar con respecto a la base quiral). La proporción de enantiómeros determinada mediante electroforesis capilar fue:

99,7% de (+)-cinconina de ácido (*R*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico
 0,3% de (+)-cinconina de ácido (*S*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico
 ee= 99,4%.

20 **Preparación de ácido (*R*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico a partir del compuesto de adición (+)-cinconina de ácido (*R*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico**

Se suspendieron 22,59 g (34 mmol) de la sal diastereomérica, que fue recrystalizada en acetonitrilo, en 200 ml de HCl 6N, y se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Tras ello, se añadieron 200 ml de tolueno hasta que se hubo completado la disolución. Se agitó la mezcla durante 30 minutos y se separaron las fases. Se extrajo la fase acuosa con tolueno, se lavaron las fases orgánicas combinadas con agua, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron hasta la sequedad, tras lo que se obtuvieron 11,9 g (95%) de un sólido microcristalino blanco (punto de fusión 129-133).

El exceso enantiomérico (ee) determinado mediante electroforesis capilar fue del 99,2%.

Pureza química determinada mediante CLAR: 99,3%

30 $[\alpha]_D$ (c = 1, 23°C, MeOH) = -429.

Aislamiento del enantiómero ácido (*R*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico de los licores madre obtenidos de la cristalización del enantiómero ácido (*S*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico con brucina

35 Se trató con HCl 6N el residuo obtenido de la evaporación de los licores madre obtenidos a partir de la cristalización del ácido (*S*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico con brucina según lo descrito anteriormente para obtener el ácido libre. Tras evaporar la fase orgánica, se obtuvieron 21,86 de una mezcla con una composición teórica de 20 mmol de ácido (*S*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico y 39,9 mmol de ácido (*R*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico. Se añadió una suspensión de 13,82 g (39,9 mmol) de (+)-cinconina en 1.000 ml de acetonitrilo, y se calentó la mezcla hasta el reflujo. Se añadió más acetonitrilo hasta que se completó la disolución (volumen total de acetonitrilo de

4.000 ml). Luego se enfrió lentamente la mezcla hasta la temperatura ambiente para obtener cristales. Tras unas cuantas horas, se obtuvo un sólido blanco que se filtró y se secó para dar 22,42 (rendimiento del 84,5% con respecto a la sal de ácido (*R*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico).

El exceso enantiomérico (ee) determinado mediante electroforesis capilar fue del 92%.

- 5 La pureza de la sal aislada fue comparable a la de la sal obtenida directamente de la resolución del racemato. Por consiguiente, se pudo aplicar el mismo procedimiento de purificación descrito anteriormente.

Resolución de ácido 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico racémico con brucina

Preparación de la sal diastereomérica con brucina

- 10 A temperatura ambiente, se disolvieron 15,74 g (39,9 mmol) de brucina en 475 ml de acetona bajo una agitación vigorosa. Se añadió una solución de 29,5 g (79,8 mmol) del ácido 5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico racémico en 85 ml de acetona. Se dejó cristalizar la mezcla resultante durante un par de días, tras lo que se obtuvo un sólido cristalino. Se filtró el sólido cristalino, se lavó con acetona fría y se secó para dar 13,66 g (45% molar con respecto a la base) de un sólido de color beis.

- 15 La proporción de enantiómeros determinada mediante electroforesis capilar fue:

99% de brucina del ácido (*S*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico

1% de brucina del ácido (*R*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico.

Exceso enantiomérico (ee) = 98%.

- 20 Se dejaron en el refrigerador los licores madre filtrados y produjeron una segunda fracción de cristales que se filtraron y se secaron para dar otros 1,56 g (5,1% molar con respecto a la base).

El análisis de la 2ª fracción mediante electroforesis capilar dio:

99,3% de brucina del ácido (*S*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico

0,7% de brucina de ácido (*R*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico

Exceso enantiomérico (ee) = 98,6%

- 25 Rendimiento total:

15,22 g (50,1% molar con respecto a la base) de la sal con un ee = 98%.

Determinación de la quiralidad de la sal de brucina mediante cristalografía de rayos X

- 30 La quiralidad del enantiómero que cristalizó con brucina (ee: 98%) se determinó mediante cristalografía de rayos X y corresponde al enantiómero *S*. Por consiguiente, el otro enantiómero que cristalizó con la (+)-cinchonina es el enantiómero *R* correspondiente.

Preparación de ácido (*S*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico a partir del compuesto de adición brucina del ácido (*S*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico

- 35 Se suspendieron 15,17 g (19,85 mmol) de brucina del ácido (*S*)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico en 150 ml de HCl 6N, y se agitó la suspensión durante 10 minutos, tras lo que se añadieron 150 ml de tolueno tras lo que se observó la disolución completa. Se agitó la mezcla resultante durante 30 minutos más bajo el control con cromatografía en columna (gel de sílice: Cl₂CH₂:MeOH (95:5)). Tras ello, se separaron las fases, se extrajo la fase acuosa con tolueno y se lavaron las fases de tolueno combinadas con agua tres veces, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron hasta la sequedad. Se obtuvieron 7 g (95,5%) de un aceite que solidificó tras la adición de una pequeña cantidad de dietiléter para producir un sólido amorfo blanco que mostró una transformación cristalina bajo fusión a 130–133°C.

- 40 CCF (Cl₂CH₂:MeOH (95:5)): R_f = 0,3

El análisis de los enantiómeros mediante electroforesis capilar dio:

99,1% de ácido (S)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico

0,9% de ácido (R)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico

Exceso enantiomérico (ee) = 98,2%.

5 $[\alpha]_D$ (c = 1, 23°C, MeOH) = -480,5.

Pureza química determinada mediante CLAR: 99,1%.

$^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3) δ ppm: 3,2 (dd, J = 6,4 y 18,2 Hz, 1H), 3,7 (dd, J = 12,7 y 18,2 Hz, 1H), 5,85 (dd, J = 6,4 y 12,6 Hz, 1H), 7,0-7,2 (m, 7H).

10 **Aislamiento del enantiómero ácido (S)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico de los licores madre obtenidos de la cristalización del otro enantiómero ácido (R)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico con (+)-cinconina**

15 Se trató con HCl 6N el residuo obtenido de la evaporación de los licores madre obtenidos a partir de la cristalización del ácido (R)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico con (+)-cinconina según lo descrito anteriormente para obtener el ácido libre. Tras evaporar la fase orgánica, se obtuvieron 23,63 g de una
mezcla con una composición teórica de 13,34 mmol de ácido (R)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico y 47,34 mmol de ácido (S)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico. Se añadió dicha mezcla, disuelta en 118 ml de acetona, sobre una solución de 18,7 g (47,4 mmol) de
20 brucina en 650 ml de acetona, se agitó durante un par de minutos y se dejó cristalizar a temperatura ambiente durante una noche. Se obtuvo un sólido de color crema que se filtró y se secó para producir 28 g (77,5% con respecto a la sal de (S)).

El exceso enantiomérico (ee) determinado mediante electroforesis capilar fue del 98,2%.

La pureza de la sal aislada fue comparable a la de la sal obtenida directamente de la resolución del racemato. Por consiguiente, se pudo aplicar el mismo procedimiento de purificación descrito anteriormente.

25 **Preparación de (R)-N-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-carboxamida (A)**

30 Se disolvieron 9,94 g (26,89 mmol) de ácido (R)-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-pirazol-3-carboxílico en 95 ml de tolueno, seguidos de la adición de 2,35 ml (32,3 mmol) de cloruro de tionilo y 4 gotas de DMF. Bajo una atmósfera de nitrógeno anhidro, se calentó la mezcla hasta una temperatura de 75-80°C bajo una agitación vigorosa durante dos horas y luego se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente. Luego se añadió dicha
solución de cloruro de ácido en gotas a una solución de 3,47 ml (31,2 mmol) de N-aminopiperidina, 15 ml (107,6 mmol) de trietilamina y 38 ml de tolueno anhidro, que se enfrió hasta 0-5°C, manteniendo de ese modo la
35 temperatura por debajo de 10°C durante la adición. Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante una noche, tras lo que se obtuvo una suspensión. Se añadieron agua y tolueno a dicha suspensión hasta que se completó la disolución y se separaron las fases. Se extrajo la fase acuosa con tolueno, se lavaron las fases orgánicas combinadas con solución de NaOH (10%) y agua, se secaron sobre sulfato de sodio, se filtraron y se evaporaron hasta la sequedad para obtener 13,41 g de un aceite amarillo claro que no cristalizó. Se purificó el
aceite mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice (eluyente: atilacetato de bencina (90:10) a (60:40)) para dar 10,5 g (83,5%) de (R)-N-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-carboxamida en forma de un sólido amorfo de color amarillo claro (punto de fusión 75-78°C).

40 $^1\text{H-RMN}$ (DMSO-d_6) δ ppm: 9,25 (s, 1H), 7,5 (d, J = 8,8 Hz, 1H), 7,4 (d, J = 2,3 Hz, 1H), 7,3-7,25 (2d, J = 8,8 y 8,5 Hz, 3H), 7,1 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 5,8 (dd, J = 5,7 y 11,8 Hz, 1H), 3,65 (dd, J = 11,8 y 18,1 Hz, 1H), 3,0 (dd, J = 5,7 y 18,1 Hz, 1H), 2,75 (m, 4H), 1,5 (m, 4H), 1,2 (m, 2H).

El análisis del enantiómero mediante CLAR quiral: ee = 100%.

Pureza química determinada mediante CLAR: 98,5%.

45 $[\alpha]_D$ (c = 1, 23°C, MeOH) = -293,5.

Preparación de sal clorhidrato de (R)-N-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-carboxamida (clorhidrato de A)

5 Se disolvieron 0,5 g (1,1 mmol) de (R)-N-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-carboxamida en 10 ml de isopropanol, se enfriaron con hielo, y se añadió una solución de HCl-etanol saturada. La solución cambió de color y se formó un sólido blanco, que se filtró, se lavó con isopropanol:dietiléter (1:1) y se secó para producir 0,38 g (71%) de un sólido blanco con un punto de fusión de 160–165°C. La pureza determinada mediante CLAR fue del 99,3%. Determinación de cloro: 7,15% (98,5% del valor teórico).

¹H-RMN (DMSO-d₆) δ ppm: 10,3 (sa, 1H), 7,5 (m, 2H), 7,3 (2d, J = 2,5 y 8,5 Hz, 3H), 7,15 (d, J = 8,5 Hz, 2H), 5,8 (dd, J = 6,3 y 12,0 Hz, 1H), 3,7 (dd + H₂O), 3,05 (m, 5H), 1,7 (m, 4H), 1,4 (m, 2H).

10 Datos farmacológicos:

Se determinó la unión de los compuestos pirazolínicos de fórmula general I con el receptor CB₁ según lo descrito en el apartado de procedimientos farmacológicos, parte I.

Los compuestos pirazolínicos de fórmula general I muestran una alta afinidad hacia el receptor CB₁ (Tabla 1).

Tabla 1

Compuesto según el ejemplo	Cl ₅₀ [nM]	Inhibición [%], 10 ⁻⁷ M	Inhibición [%], 10 ⁻⁸ M
A	16,1		
Clorhidrato de A	20		

15

Se determinó el antagonismo de los compuestos pirazolínicos de fórmula general I hacia el receptor CB₁ según lo descrito en el apartado de procedimientos farmacológicos, parte VI (Tabla 2).

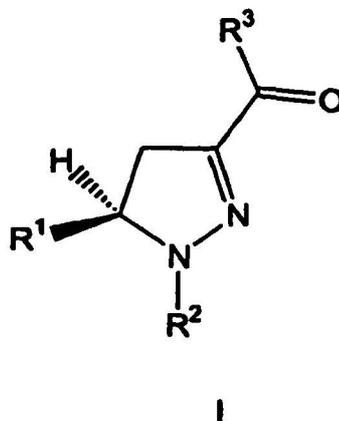
Tabla 2

Compuesto según el ejemplo	Antagonismo [%]
A	106
Clorhidrato de A	113

20

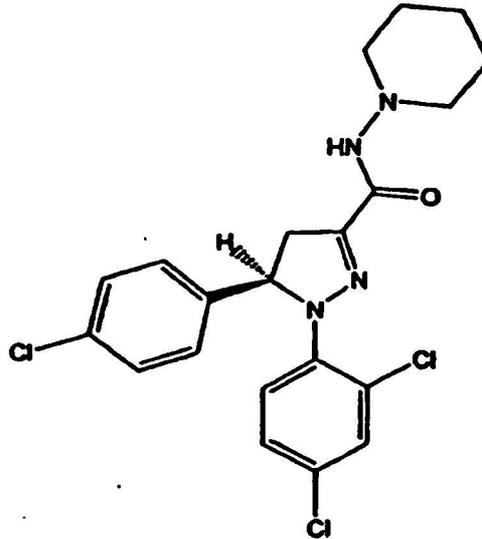
REIVINDICACIONES

1.- Compuestos de fórmula general I:



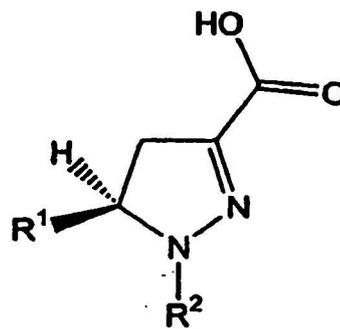
en la que:

- 5 R^1 representa un grupo fenilo, que está opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en metilo, etilo, F, Cl, Br y CF_3 ,
- R^2 representa un grupo fenilo, que está opcionalmente sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados independientemente del grupo que consiste en metilo, etilo, F, Cl, Br y CF_3 ,
- 10 R^3 representa un grupo pirrolidinilo, un grupo piperidinilo o un grupo piperazinilo, mediante lo cual cada uno de estos grupos puede estar sustituido por uno o más grupos alquilo(C_1-C_6), o R^3 representa un resto $-NR^4R^5-$,
- 15 uno de los residuos R^4 y R^5 representa un átomo de hidrógeno y el otro de estos residuos R^4 y R^5 representa un grupo pirrolidinilo opcionalmente al menos mono-sustituido; un grupo piperidinilo opcionalmente al menos mono-sustituido; un grupo piperazinilo opcionalmente al menos mono-sustituido; un grupo triazolilo opcionalmente al menos mono-sustituido; un resto $-SO_2R^6-$; un resto $-NR^7R^8-$, o R^4 y R^5 , iguales o diferentes, representan un grupo metilo, un grupo etilo, un grupo *n*-propilo, un grupo isopropilo, un grupo *n*-butilo, un grupo *sec*-butilo o un grupo *terc*-butilo,
- 20 R^6 representa un grupo alquilo(C_1-C_6); un grupo cicloalifático saturado opcionalmente al menos mono-sustituido que puede estar condensado con un sistema de anillos mono- o policíclico; o un grupo fenilo, que está opcionalmente sustituido con uno o más grupos alquilo(C_1-C_6) y
- R^7 y R^8 , iguales o diferentes, representan un átomo de hidrógeno o radical alquilo(C_1-C_6),
- opcionalmente, en forma de un *N*-óxido correspondiente del mismo, o una de sus sales o uno de sus solvatos correspondientes.
- 25 2.- El compuesto (*R*)-*N*-piperidinil-5-(4-clorofenil)-1-(2,4-diclorofenil)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol-3-carboxamida según la reivindicación 1:



opcionalmente, en forma de un *N*-óxido correspondiente, o una sal o un solvato correspondiente.

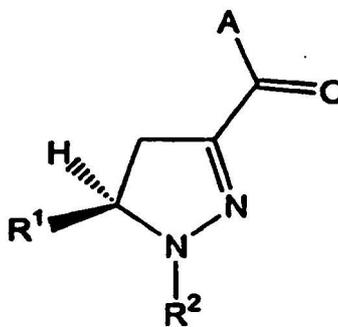
3.- Procedimiento para la fabricación de compuestos de pirazolina sustituida de la fórmula general I según una o más de las reivindicaciones 1 a 2, **que se caracteriza porque** al menos un compuesto de fórmula general IIa:



(IIa)

5

en la que R^1 y R^2 tienen el significado según una o más de las reivindicaciones 1-2, se transfiere opcionalmente bajo una atmósfera inerte a un compuesto de fórmula general (III) mediante la reacción con un agente de activación:



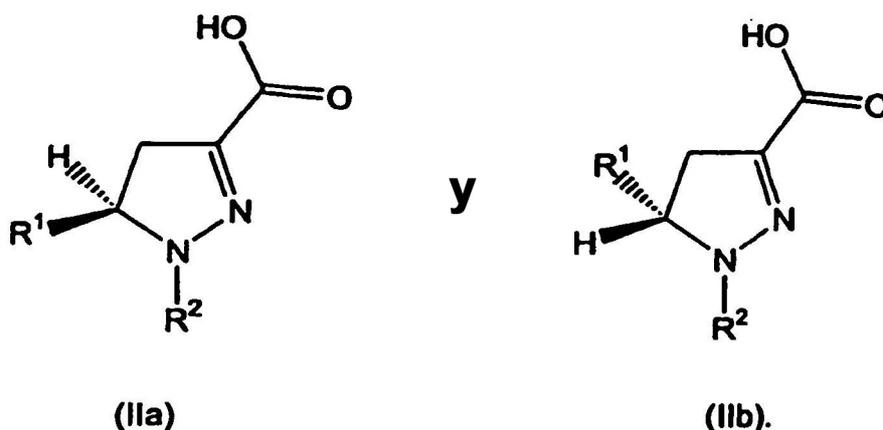
(III)

10 en la que los sustituyentes R^1 y R^2 tienen el significado dado anteriormente y A representa un grupo saliente, preferiblemente, un átomo de cloro, estando dicho compuesto opcionalmente aislado y/o opcionalmente purificado, y se hace reaccionar al menos un compuesto de fórmula general (IIa) con un compuesto de fórmula general R^3H ,

en la que R^3 representa un resto $-NR^4R^5-$, en el que R^4 y R^5 tienen el significado según una o más de las reivindicaciones 1-2, bajo una atmósfera inerte para producir un compuesto de pirazolina sustituida de fórmula general I, en la que R^3 representa un resto $-NR^4R^5-$,

5 o se hace reaccionar al menos un compuesto de fórmula general (III) con un compuesto de fórmula general R^3H , en la que R^3 tiene el significado según una o más de las reivindicaciones 1-2, bajo una atmósfera inerte para producir un compuesto de fórmula general (I) según una o más de las reivindicaciones 1-2, que está opcionalmente aislado y/o opcionalmente purificado.

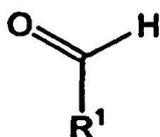
4.- Procedimiento según la reivindicación 3, en el que el compuesto IIa se obtiene de una mezcla que comprende los enantiómeros:



10

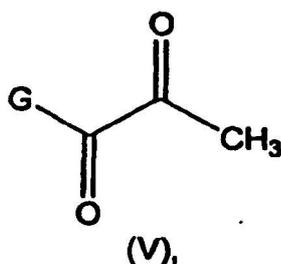
5.- Procedimiento según la reivindicación 4, en el que el compuesto IIa se obtiene de la mezcla en forma de un compuesto de adición con una base quiral, preferiblemente, (+)-cinconina o *R*-(+)-1-feniletilamina, y se libera preferiblemente del compuesto de adición.

15 6.- Procedimiento según la reivindicación 4 ó 5, en el que la mezcla que comprende los enantiómeros IIa y IIb se obtiene mediante la reacción de al menos un compuesto de benzaldehído de fórmula general IV:



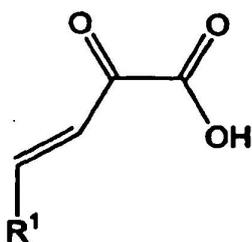
(IV)

en la que R^1 tiene el significado según una o más de las reivindicaciones 1-2, se hace reaccionar con un compuesto de piruvato de fórmula general (V):



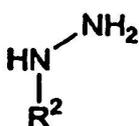
(V)

20 en la que G representa un grupo OR, siendo R un radical alquilo (C_1-C_6) ramificado o no ramificado, o G representa un grupo O-K, siendo K un catión, para producir un compuesto de fórmula general (VI):



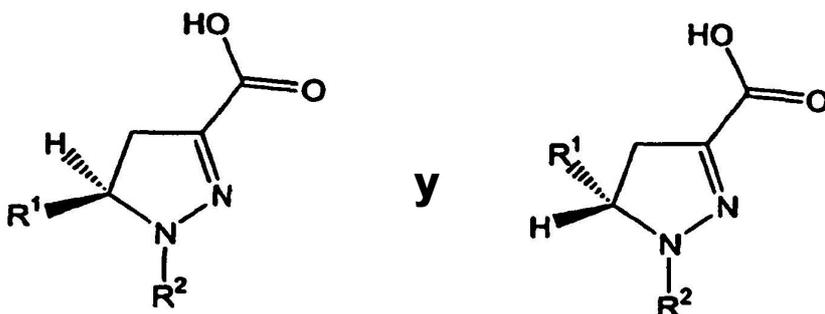
(VI)

en la que R¹ tiene el significado dado anteriormente, que está opcionalmente aislado y/o opcionalmente purificado, y que se hace reaccionar con una fenilhidrazina opcionalmente sustituida de fórmula general (VII):



(VII)

- 5 o una de sus correspondiente sales, en la que R² tiene el significado según una o más de las reivindicaciones 1–2, bajo una atmósfera inerte, para producir una mezcla de compuestos:



(IIa)

(IIb).

- 7.– Medicamento que comprende uno o más compuestos de pirazolina sustituida de fórmula general I según una o más de las reivindicaciones 1–2 y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables.
- 10 8.– Medicamento según la reivindicación 7 para la modulación de receptores de cannabinoides, preferiblemente, de receptores del cannabinoide 1 (CB₁), para la profilaxis y/o el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central, trastornos del sistema inmune, trastornos del sistema cardiovascular, trastornos del sistema endocrino, trastornos del sistema respiratorio, trastornos del tracto gastrointestinal o trastornos reproductivos.
- 15 9.– Medicamento según la reivindicación 7 ó 8 para la profilaxis y/o el tratamiento de trastornos de la alimentación, preferiblemente, de bulimia, anorexia, caquexia, obesidad, diabetes mellitus de tipo II (diabetes mellitus no insulino dependiente), más preferiblemente, obesidad.
- 10.– Medicamento según la reivindicación 7 ó 8 para la profilaxis y/o el tratamiento de la psicosis.
- 20 11.– Medicamento según la reivindicación 7 ó 8 para la profilaxis y/o el tratamiento del abuso del alcohol y/o la adicción al alcohol, el abuso de la nicotina y/o la adicción a la nicotina, el abuso de drogas y/o la adicción a drogas y/o el abuso de medicamentos y/o la adicción a medicamentos, preferiblemente, para el abuso de drogas y/o la

adicción a drogas y/o el abuso de la nicotina y/o la adicción a la nicotina.

5 12.– Medicamento según la reivindicación 7 ó 8 para la profilaxis y/o el tratamiento del cáncer, preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de cáncer seleccionados del grupo que consiste en cáncer de cerebro, cáncer de huesos, cáncer de labio, cáncer de boca, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de colon, cáncer de intestino y cáncer de próstata; más preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de cáncer seleccionados del grupo que consiste en cáncer de colon, cáncer de intestino y cáncer de próstata.

10 13.– Medicamento según la reivindicación 7 ó 8 para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más trastornos seleccionados del grupo que consiste en trastornos óseos, preferiblemente, osteoporosis (p.ej., osteoporosis vinculada a una predisposición genética, deficiencia de hormonas sexuales o envejecimiento), enfermedad ósea asociada con el cáncer o enfermedad ósea de Paget; esquizofrenia, ansiedad, depresión, epilepsia, trastornos neurodegenerativos, trastornos cerebelosos, trastornos espinocerebelosos, trastornos cognitivos, traumatismo craneal, traumatismo de cabeza, apoplejía, ataques de pánico, neuropatía periférica, glaucoma, migraña, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Raynaud, trastornos de temblores, trastornos compulsivos, demencia senil, trastornos tímicos, disquinesia tardía, trastornos bipolares, trastornos del movimiento inducidos por medicamentos, distonía, apoplejía endotoxémica, apoplejía hemorrágica, hipotensión, insomnio, trastornos inmunológicos, placas escleróticas, vómitos, diarrea, asma, trastornos de la memoria, prurito, dolor o para potenciar el efecto analgésico de los analgésicos narcóticos y no narcóticos; o para influir en el tránsito intestinal.

15 20

14.– Uso de al menos un compuesto de pirazolina sustituida según una o más reivindicaciones 1–2 y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, para la preparación de un medicamento para la modulación de receptores de cannabinoides, preferiblemente, de receptores del cannabinoide 1 (CB₁), para la profilaxis y/o el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central, trastornos del sistema inmune, trastornos del sistema cardiovascular, trastornos del sistema endocrino, trastornos del sistema respiratorio, trastornos del tracto gastrointestinal o trastornos reproductivos.

25

15.– Uso de al menos un compuesto de pirazolina sustituida según una o más reivindicaciones 1–2 y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, para la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento de trastornos alimentarios, preferiblemente bulimia, anorexia, caquexia, obesidad, diabetes mellitus de tipo II (diabetes mellitus no insulino dependiente), más preferiblemente, obesidad.

30

16.– Uso de al menos un compuesto de pirazolina sustituida según una o más reivindicaciones 1–2 y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, para la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento de psicosis.

17.– Uso de al menos un compuesto de pirazolina sustituida según una o más reivindicaciones 1–2 y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, para la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento del abuso del alcohol y/o la adicción al alcohol, abuso de la nicotina y/o adicción a la nicotina, abuso de drogas y/o adicción a drogas, abuso de medicamentos y/o adicción a medicamentos; preferiblemente, el abuso de drogas y/o la adicción a drogas y/o el abuso de la nicotina y/o la adicción a la nicotina.

35

18.– Uso de al menos un compuesto de pirazolina sustituida según una o más reivindicaciones 1–2 y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, para la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento del cáncer; preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de cáncer seleccionados del grupo que consiste en cáncer de cerebro, cáncer de huesos, cáncer de labio, cáncer de boca, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer de hígado, cáncer de vejiga, cáncer de páncreas, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cáncer de piel, cáncer de colon, cáncer de intestino y cáncer de próstata; más preferiblemente, para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más tipos de cáncer seleccionados del grupo que consiste en cáncer de colon, cáncer de intestino y cáncer de próstata.

40 45

19.– Uso de al menos un compuesto de pirazolina sustituida según una o más reivindicaciones 1–2 y, opcionalmente, uno o más excipientes farmacéuticamente aceptables, para la preparación de un medicamento para la profilaxis y/o el tratamiento de uno o más trastornos seleccionados del grupo que consiste en trastornos óseos, preferiblemente, osteoporosis (p.ej., osteoporosis vinculada a una predisposición genética, deficiencia de hormonas sexuales o envejecimiento), enfermedad ósea asociada con el cáncer o enfermedad ósea de Paget; esquizofrenia,

50

5 ansiedad, depresión, epilepsia, trastornos neurodegenerativos, trastornos cerebelosos, trastornos espinocerebelosos, trastornos cognitivos, traumatismo craneal, traumatismo de cabeza, apoplejía, ataques de pánico, neuropatía periférica, glaucoma, migraña, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Raynaud, trastornos de temblores, trastornos compulsivos, demencia senil, trastornos tímicos, disquinesia tardía, trastornos bipolares, trastornos del movimiento inducidos por medicamentos, distonía, apoplejía endotoxémica, apoplejía hemorrágica, hipotensión, insomnio, trastornos inmunológicos, placas escleróticas, vómitos, diarrea, asma, trastornos de la memoria, prurito, dolor o para potenciar el efecto analgésico de los analgésicos narcóticos y no narcóticos; o para influir en el tránsito intestinal.

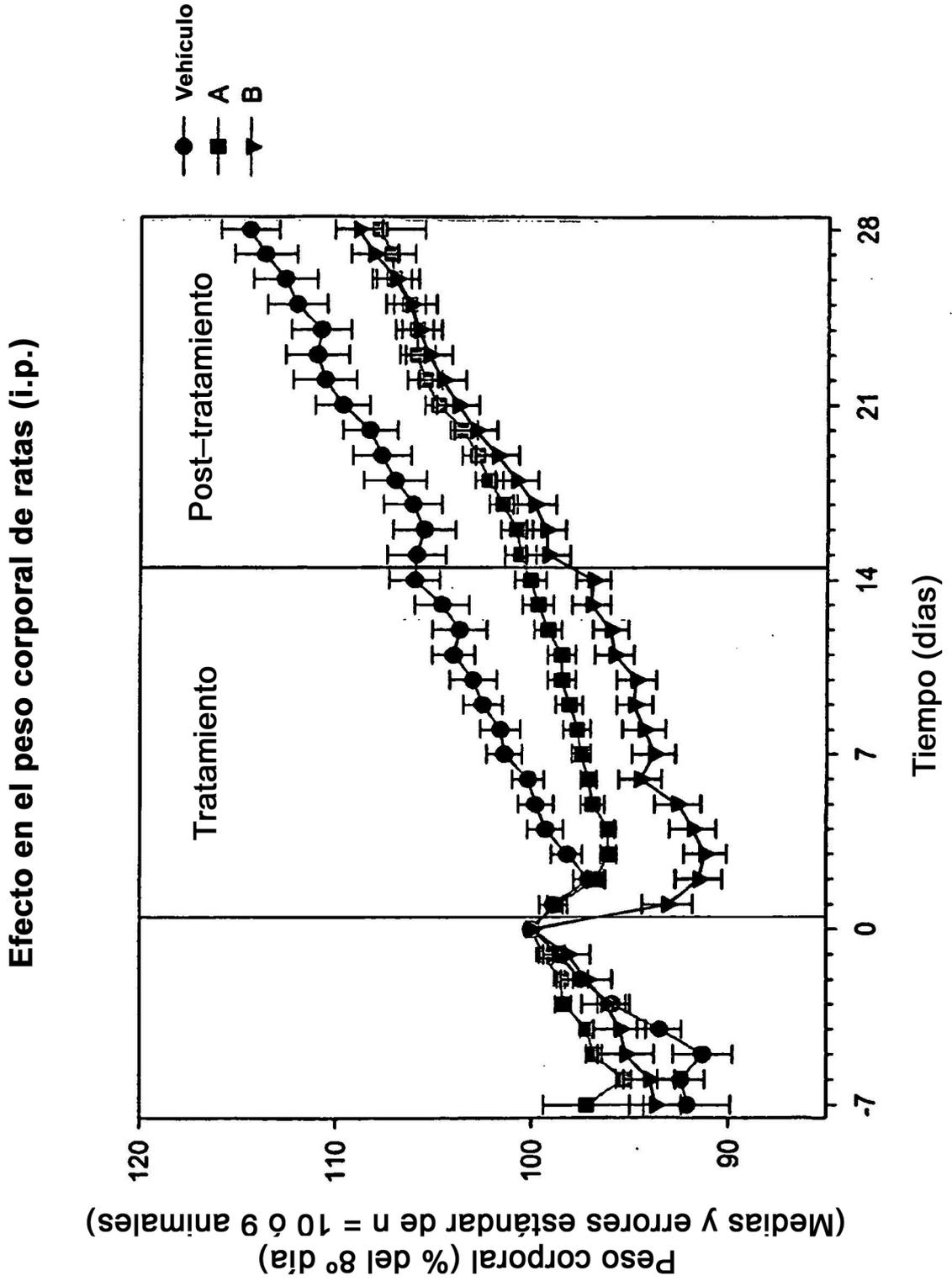


Figura 1: