

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 397 082**

51 Int. Cl.:

**C07D 487/04** (2006.01)

**A61K 31/5025** (2006.01)

**A61P 9/10** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.01.2006 E 06700346 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.10.2012 EP 1874775**

54 Título: **Triazolofthalazinas como inhibidores de PDE2**

30 Prioridad:

**05.01.2005 EP 05100043**

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

**04.03.2013**

73 Titular/es:

**NYCOMED GMBH (100.0%)  
BYK-GULDEN-STRASSE 2  
78467 KONSTANZ, DE**

72 Inventor/es:

**SCHMIDT, BEATE;  
WEINBRENNER, STEFFEN;  
FLOCKERZI, DIETER;  
KÜLZER, RAIMUND ;  
TENOR, HERMANN y  
KLEY, HANS-PETER**

74 Agente/Representante:

**LEHMANN NOVO, María Isabel**

ES 2 397 082 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**

Triazoloftalazinas como inhibidores de PDE2.

**Campo de Aplicación de la Invención**

5 La invención se refiere a nuevos derivados de triazoloftalazina, que pueden utilizarse en la industria farmacéutica para la producción de composiciones farmacéuticas.

**Antecedentes Técnicos Conocidos**

10 Las triazoloftalazinas se conocen por la técnica anterior. Por ejemplo, EP85840, WO98/04559, WO98/50385, WO99/06407 (correspondiente a US6313125), WO02/083140, WO00/26218 (correspondiente a US6525055), EP0728759 (correspondiente a US 6001830); J. Med. Chem., (1988), 31, 1115-1123; J. Med. Chem., (2004), 47, 1807-1822, y J. Med. Chem., (2004), 47, 2176-2179 describen triazolo-ftalazinas con diversos patrones de sustitución.

Sin embargo, no se han descrito nunca en la literatura derivados de triazoloftalazina anilino-sustituídos en el sentido de la presente invención.

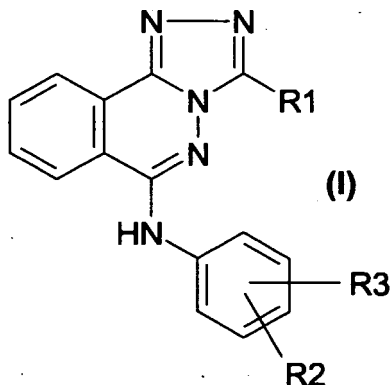
WO 01/47929 describe triazolotriazinonas con actividad inhibidora de PDE2.

15 Sin embargo, no han sido descritos nunca hasta ahora derivados de triazoloftalazina como inhibidores de PDE2.

**Descripción de la invención**

Se ha encontrado ahora que los nuevos derivados de triazoloftalazina, que se describen con mayor detalle más adelante, tienen propiedades sorprendentes y particularmente ventajosas.

La invención se refiere, por tanto, a compuestos de fórmula I



20

en la cual

R1 es -U-A, en donde

U es un enlace directo, o metileno (-CH<sub>2</sub>-),

A es fenilo, piridinilo, tiofenilo, o fenilo sustituido con R11 y/o R111, en donde

25 R11 es 1-4C-alquilo, halógeno, trifluorometilo, hidroxilo, 1-4C-alcoxi, 1-4C-alcoxi total o predominantemente sustituido con flúor, fenoxi, 1-4C-alcoxicarbonilo, morfolino, o di-1-4C- alquilamino,

R111 es 1-4C-alcoxi, halógeno, hidroxilo, o 1-4C-alquilo,

30 R2 es hidrógeno, 1-4C-alquilo, 1-4C-alcoxi, fenil-1-4C-alcoxi, fenoxi, 3-7C-cicloalcoxi, 3-7C-cicloalquil-metoxi, halógeno, trifluorometilo, nitro, fenilo, fenilo sustituido con R21, 1-4C-alcoxi total o predominantemente sustituido con flúor, 1-4C-alquiltio, ciano-1-4C-alquilo, o -N(R22)R23, en donde

R21 es 1-4C-alcoxi, halógeno o 1-4C-alquilo,

R22 y R23 juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en el cual

Het1 está sustituido opcionalmente con R24, y es un radical de anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros, monocíclico totalmente saturado que comprende el átomo de nitrógeno, al cual están unidos R22 y R23, y opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre, en donde

R24 es 1-4C-alquilo,

5 R3 es hidrógeno, 1-4C-alquilo, 1-4C-alcoxi o halógeno,

y las sales de estos compuestos.

1-4C-alquilo es un radical alquilo de cadena lineal o ramificado que tiene 1 a 4 átomos de carbono. Ejemplos son los radicales butilo, isobutilo, sec-butilo, terc-butilo, propilo, isopropilo, y, particularmente, los radicales etilo y metilo.

Dentro del significado de la presente invención, halógeno es yodo o, en particular, bromo, cloro o flúor.

10 1-4C-alcoxi significa radicales que, además del átomo de oxígeno, contienen un radical alquilo de cadena lineal o ramificado que tiene 1 a 4 átomos de carbono. Ejemplos que pueden mencionarse son los radicales butoxi, isobutoxi, sec-butoxi, terc-butoxi, propoxi, isopropoxi y, particularmente, los radicales etoxi y metoxi.

1-4C-alcoxicarbonilo es un grupo carbonilo al cual está unido uno de los radicales 1-4C-alcoxi arriba mencionados. Ejemplos son el radical metoxicarbonilo ( $\text{CH}_3\text{O}-\text{C}(\text{O})-$ ) y el radical etoxicarbonilo ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O}-\text{C}(\text{O})-$ ).

15 3-7C-cicloalquilmetoxi significa ciclopropilmetoxi, ciclobutilmetoxi, ciclopentilmetoxi, ciclohexilmetoxi o cicloheptilmetoxi, de los cuales merecen ser resaltados ciclopropilmetoxi y ciclopentilmetoxi.

3-7C-cicloalcoxi significa ciclopropiloxi, ciclobutiloxi, ciclopentiloxi, ciclohexiloxi y cicloheptiloxi, de los cuales se prefieren ciclopropiloxi, ciclobutiloxi y ciclopentiloxi.

20 1-4C-alcoxi total o predominantemente sustituido con flúor es, por ejemplo, el radical 2,2,3,3,3-pentafluoropropoxi, el perfluoroetoxi, el 1,2,2-trifluoroetoxi y en particular el 1,1,2,2-tetrafluoroetoxi, el 2,2,2-trifluoroetoxi, el trifluorometoxi y el radical difluorometoxi, de los cuales se prefiere el radical difluorometoxi. "Predominantemente", en este contexto, significa que más de la mitad de los átomos de hidrógeno de los grupos 1-4C-alcoxi están reemplazados por átomos de flúor.

25 Di-1-4C-alquilamino significa un grupo amino, que está sustituido con dos radicales diferentes o idénticos de los radicales 1-4C-alquilo arriba mencionados. Ejemplos son los radicales dimetilamino, dietilamino y diisopropilo.

Di-(1-4C-alcoxi)fenilo significa un radical fenilo, que está sustituido en cualquiera de las posiciones posibles con dos de los radicales 1-4C-alcoxi arriba mencionados, que pueden ser iguales o diferentes.

Fenil-1-4C-alcoxi significa uno de los radicales 1-4C-alcoxi arriba mencionados, que está sustituido con el radical fenilo. Ejemplos que pueden mencionarse son los radicales benciloxi y fenetoxi.

30 Ciano-1-4C-alquilo significa uno de los radicales 1-4C-alquilo arriba mencionados, que está sustituido con el grupo ciano. Ejemplos que pueden mencionarse son los radicales cianometilo y 2-cianoetilo.

4N-(1-4C-alquil)-piperazin-1-ilo significa un radical piperazin-1-ilo que está sustituido en su átomo de nitrógeno en la posición 4 con uno de los radicales 1-4C-alquilo arriba mencionados, tales como v.g. 4N-metilpiperazin-1-ilo.

35 1-4C-alquiltio significa radicales que, además del átomo de azufre, contienen uno de los radicales 1-4C-alquilo arriba mencionados. Ejemplos que pueden mencionarse son los radicales butiltio, propiltio y preferiblemente, los radicales etiltio y metiltio.

En el sentido de la presente invención, debe entenderse que, cuando dos porciones estructurales de los compuestos de acuerdo con esta invención están ligados por un constituyente que tiene el significado de "enlace", entonces dichas dos porciones están unidas directamente a otra por un enlace simple.

40 Het1 está sustituido opcionalmente con R24, y es un radical de anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros, monocíclico y totalmente saturado que comprende el átomo de nitrógeno al cual están unidos R22 y R23, y opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre.

45 En una realización, Het1 significa un radical de anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros monocíclico y totalmente saturado que comprende el átomo de nitrógeno al cual están unidos R22 y R23, y opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de NH, N(R24), oxígeno y azufre.

Het1 puede incluir, por ejemplo, sin limitarse al mismo, aziridin-1-ilo, azetidín-1-ilo, pirrolidin-1-ilo, piperidin-1-ilo, homopiperidin-1-ilo, morfolin-4-ilo, tiomorfolin-4-ilo, piperazin-1-ilo y homopiperazin-1-ilo.

Como ejemplos adicionales para Het1 de acuerdo con esta invención pueden mencionarse, sin carácter restrictivo, derivados sustituidos con R24 de los radicales Het1 ilustrativos arriba mencionados, tales como v.g. 4N-(R24)-piperazin-1-ilo o 4N-(R24)-homopiperazin-1-ilo.

5 Ilustrativamente, como ejemplo de radical Het1 adecuado se puede mencionar, sin carácter restrictivo, 4N-(1-4C-alquil)-piperazin-1-ilo, tal como v.g. 4N-metil-piperazin-1-ilo o, particularmente, morfolin-4-ilo.

Los grupos heterocíclicos mencionados en esta memoria se refieren, a no ser que se mencione otra cosa, a la totalidad de las formas isómeras posibles de los mismos.

10 Los grupos heterocíclicos mencionados en esta memoria hacen referencia, a no ser que se indique otra cosa, en particular a la totalidad de los isómeros de posición posibles de los mismos. Así, por ejemplo, los términos piridilo o piridinilo, solos o como parte de otro grupo, incluyen piridin-2-ilo, piridin-3-ilo y piridin-4-ilo, o el término tiofenilo incluye tiofenil-2-ilo y tiofenil-3-ilo.

Los constituyentes que están sustituidos como se indica en esta memoria, pueden estar sustituidos, a no ser que se indique otra cosa, en cualquier posición posible.

15 Los grupos heterocíclicos mencionados en esta memoria pueden estar sustituidos con sus sustituyentes mencionados, a no ser que se indique otra cosa, en cualquier posición posible, tal como v.g., en cualquier átomo de carbono o átomo de nitrógeno sustituible del anillo.

A no ser que se indique otra cosa, se supone que cualquier heteroátomo de un anillo heterocíclico con valencias no satisfechas mencionado en esta memoria tiene el o los átomos de hidrógeno para satisfacer las valencias.

Cuando cualquier variable se presenta más de una vez en cualquier constituyente, cada definición es independiente.

20 Los sustituyentes R2 y R3 de los compuestos de fórmula I pueden estar unidos en la posición orto, meta o para con respecto a la posición de enlace en la cual el anillo fenilo está enlazado al grupo amino, dándose preferencia en este caso a la unión en la posición meta o para.

25 Sales adecuadas para los compuestos de acuerdo con esta invención - dependiendo de la sustitución - son todas las sales de adición de ácido o todas las sales con bases. Puede hacerse mención particular de los ácidos y bases inorgánicos y orgánicos farmacológicamente tolerables utilizados habitualmente en farmacia. Las adecuadas son, por una parte, sales de adición de ácido insolubles en agua y, particularmente, solubles en agua con ácidos tales como, por ejemplo, ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido fosfórico, ácido nítrico, ácido sulfúrico, ácido acético, ácido cítrico, ácido D-glucónico, ácido benzoico, ácido 2-(4-hidroxibenzoil)benzoico, ácido butírico, ácido sulfosalicílico, ácido maleico, ácido láurico, ácido málico, ácido fumárico, ácido succínico, ácido oxálico, ácido tartárico, ácido embónico, ácido esteárico, ácido toluenosulfónico, ácido metanosulfónico o ácido 3-hidroxi-2-naftoico, empleándose los ácidos en la preparación de las sales - dependiendo de si se trata de un ácido mono- o polibásico y dependiendo de la sal que se desee - en una ratio cuantitativa equimolar, o una diferente de ésta.

35 Por otra parte, son también adecuadas - dependiendo de la sustitución - sales con bases. Como ejemplos de sales con bases se mencionarán las sales de litio, sodio, potasio, calcio, aluminio, magnesio, titanio, amonio, meglumina o guanidinio, empleándose también en este caso las bases en la preparación de las sales en una ratio cuantitativa equimolar o una diferente de ésta.

Las sales farmacológicamente intolerables, que pueden obtenerse, por ejemplo, como productos del proceso durante la preparación de los compuestos de acuerdo con esta invención en escala industrial, se convierten en sales farmacológicamente tolerables por procesos conocidos por las personas expertas en la técnica.

40 De acuerdo con el conocimiento de los expertos, los compuestos de acuerdo con esta invención, así como sus sales, pueden contener, v.g. cuando se aíslan en forma cristalina, cantidades variables de disolventes. Dentro del alcance de la invención se incluyen por consiguiente todos los solvatos, y en particular todos los hidratos de los compuestos de acuerdo con esta invención así como todos los solvatos y en particular todos los hidratos de las sales de los compuestos de acuerdo con esta invención.

45 Compuestos de acuerdo con esta invención dignos de mención son aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

R1 es -U-A, en donde

U es un enlace directo, o metileno (-CH<sub>2</sub>-),

A es fenilo, piridinilo, tiofenilo, di-(1-4C-alcoxi)-fenilo, o fenilo sustituido con R11, en donde

50 R11 es 1-4C-alquilo, halógeno, trifluorometilo, hidroxilo, 1-4C-alcoxi, 1-4C-alcoxi total o predominantemente sustituido con flúor, fenoxi, 1-4C-alcoxicarbonilo, morfolino, o di-1-4C- alquilamino,

- R2 es hidrógeno, 1-4C-alquilo, 1-4C-alcoxi, fenil-1-4C-alcoxi, fenoxi, 3-7C-cicloalcoxi, 3-7C-cicloalquilmetoxi, halógeno, fenilo, fenilo sustituido con R21, 1-4C-alcoxi total o predominantemente sustituido con flúor, 1-4C-alquiltio, ciano-1-4C-alquilo, o -N(R22)R23, en donde
- R21 es 1-4C-alcoxi, halógeno o 1-4C-alquilo,
- 5 R22 y R23 juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en el cual
- Het1 es un radical de anillo heterocíclico de 3 a 7 miembros monocíclico totalmente saturado que comprende el átomo de nitrógeno al cual están unidos R22 y R23, y opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de N(R24), oxígeno y azufre, en donde
- 10 R24 es 1-4C-alquilo,
- R3 es hidrógeno, 1-4C-alquilo, 1-4C-alcoxi o halógeno,
- y las sales de estos compuestos.
- Compuestos de acuerdo con esta invención más dignos de mención son aquellos compuestos de fórmula I, en la cual
- 15 R1 es -U-A, en donde
- U es un enlace directo, o metileno (-CH<sub>2</sub>-),
- A es fenilo, piridinilo, tiofenilo, dimetoxifenilo o fenilo sustituido con R11, en donde
- R11 es metilo, terc-butilo, cloro, flúor, bromo, trifluorometilo, hidroxilo, metoxi, etoxi, trifluorometoxi, fenoxi, metoxicarbonilo, morfolino, o dimetilamino,
- 20 R2 es hidrógeno, 1-4C-alquilo, 1-4C-alcoxi, fenil-1-4C-alcoxi, fenoxi, halógeno, fenilo, fenilo sustituido con R21, 1-4C-alcoxi total o predominantemente sustituido con flúor, 1-4C-alquiltio, ciano-1-4C-alquilo, o -N(R22)R23, en donde
- R21 es 1-4C-alcoxi,
- 25 R22 y R23 juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en el cual
- Het1 es pirrolidin-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolin-4-ilo, tiomorfolin-4-ilo, o 4N-(1-4C-alquil)-piperazin-1-ilo,
- R3 es hidrógeno o 1-4C-alcoxi,
- y las sales de estos compuestos.
- Compuestos de acuerdo con esta invención particularmente dignos de mención son aquellos compuestos de fórmula I, en la cual
- 30 R1 es -U-A, en donde
- U es un enlace directo, o metileno (-CH<sub>2</sub>-),
- A es fenilo, o fenilo sustituido con R11, en el cual
- R11 es metilo, cloro, flúor, bromo, trifluorometilo, hidroxilo, metoxi, fenoxi, metoxicarbonilo, o dimetilamino,
- 35 en donde particularmente
- A es 4-metoxi-fenilo, 2-metoxi-fenilo, 2-bromo-fenilo, 4-bromo-fenilo, 2-fluoro-fenilo, 2-(trifluorometil)-fenilo, 3-metoxi-fenilo, 3-bromo-fenilo, 3-fluoro-fenilo, o 3-(trifluorometil)-fenilo;
- R2 es hidrógeno, 1-4C-alquilo, 1-4C-alcoxi, fenil-1-4C-alcoxi, fenoxi, halógeno, fenilo, fenilo sustituido con R21, 1-4C-alcoxi total o predominantemente sustituido con flúor, 1-4C-alquiltio, ciano-1-4C-alquilo, o -N(R22)R23, en donde
- 40 R21 es 1-4C-alcoxi,
- R22 y R23 juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en donde

Het1 es morfolin-4-ilo, o 4N-(1-4C-alquil)piperazin-1-ilo,

R3 es hidrógeno o 1-4C-alcoxi,

y las sales de estos compuestos.

Compuestos de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual

5 R1 es -U-A, en donde

U es un enlace directo, o metileno (-CH<sub>2</sub>-),

A es fenilo, 4-metoxi-fenilo, 2-metoxi-fenilo, 2-hidroxi-fenilo, 2-bromo-fenilo, 4-bromo-fenilo, 2-fluoro-fenilo, 2-(trifluorometil)-fenilo, 2-metil-fenilo, 3-metoxi-fenilo, 3-bromo-fenilo, 3-fluoro-fenilo, 2-dimetil-amino-fenilo, metoxicarbonilo, fenoxi, o 3-(trifluorometil)-fenilo;

10 R2 es hidrógeno, 1-4C-alquilo, 1-4C-alcoxi, fenil-1-4C-alcoxi, fenoxi, halógeno, fenilo, fenilo sustituido con R21, 1-4C-alcoxi total o predominantemente sustituido con flúor, 1-4C-alquiltio, ciano-1-4C-alquilo, o -N(R22)R23, en donde

R21 es 1-4C-alcoxi,

15 R22 y R23 juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en donde

Het 1 es morfolin-4-ilo, o 4N-(1-4C-alquil)piperazin-1-ilo,

R3 es hidrógeno o 1-4C-alcoxi,

y las sales de estos compuestos.

20 Compuestos de acuerdo con esta invención más particularmente dignos de mención son aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

R1 es -U-A, en donde

U es un enlace directo,

A es fenilo, o fenilo sustituido con R11, en el cual

R11 es flúor, bromo, trifluorometilo, o metoxi, en donde particularmente

25 R1 es 4-metoxi-fenilo, 2-metoxi-fenilo, 3-metoxi-fenilo, 2-bromo-fenilo, 3-bromo-fenilo, 4-bromo-fenilo, 2-fluoro-fenilo, 3-fluoro-fenilo, 2-(trifluorometil)-fenilo, o 3-(trifluorometil)-fenilo,

y en donde más particularmente

R1 es 4-metoxi-fenilo, o 2-bromo-fenilo;

30 R2 es hidrógeno, metilo, metoxi, etoxi, benciloxi, cloro, fenoxi, fenilo, 4-metoxifenilo, trifluorometoxi, difluorometoxi, metiltio, cianometilo, o -N(R22)R23, en el cual

R22 y R23 juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en donde

Het1 es morfolin-4-ilo, o 4N-metil-piperazin-1-ilo,

R3 es hidrógeno, metoxi o etoxi,

35 y las sales de estos compuestos.

Compuestos de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual

R1 es 4-metoxi-fenilo, 2-metoxi-fenilo, 3-metoxi-fenilo, 2-bromo-fenilo, 3-bromo-fenilo, 4-bromo-fenilo, 2-fluoro-fenilo, 3-fluoro-fenilo, 2-(trifluorometil)-fenilo, o 3-(trifluorometil)-fenilo;

40 R2 es hidrógeno, metilo, metoxi, etoxi, benciloxi, cloro, fenoxi, fenilo, 4-metoxifenilo, trifluorometoxi, difluorometoxi, metiltio, cianometilo, o -N(R22)R23, en el cual

R22 y R23 juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en el cual

Het1 es morfolin-4-ilo, o 4N-metil-piperazin-1-ilo,

R3 es hidrógeno, metoxi o etoxi,

y las sales de estos compuestos.

Compuestos de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual

5 R1 es fenilo, 2-hidroxi-fenilo, 4-fenoxi-fenilo, 3-metoxi-carbonil-fenilo, 4-metoxicarbonil-fenilo, 4-morfolin-4-il-fenilo, 4-metoxi-bencilo,

R2 es -N(R22)R23, en el cual R22 y R23, juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al que están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, que es morfolin-4-ilo,

R3 es hidrógeno,

10 y las sales de estos compuestos.

Compuestos de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual

R1 es 4-metoxi-fenilo,

R2 es hidrógeno, metilo, metoxi, etoxi, fenil-metoxi, fenoxi, cloro, bromo, fenilo sustituido con R21, trifluorometoxi, difluorometoxi, metiltio, ciano-1-4C-alquilo, o -N(R22)R23, en el cual

15 R21 es metoxi,

R22 y R23 juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, que es morfolin-4-ilo, o 4N-metil-piperazin-1-ilo,

R3 es hidrógeno,

y las sales de estos compuestos.

20 Compuestos de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual

R1 es 4-metoxi-fenilo,

R2 y R3 es metoxi o etoxi,

y las sales de estos compuestos.

25 Un interés especial en los compuestos de acuerdo con esta invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I que se incluyen - dentro del alcance de esta invención - por una o, en caso posible, más de las realizaciones especiales siguientes:

Una realización especial (realización 1) de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

U es un enlace directo, y

30 A es fenilo, o fenilo sustituido con R11.

Otra realización especial (realización 2) de los compuestos de acuerdo con la presente invención hace referencia a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

U es un enlace directo, y

A es piridinilo o tiofenilo, tal como v.g. piridin-4-ilo.

35 Otra realización especial (realización 3) de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

U es metileno, y

A es fenilo, o fenilo sustituido con R11.

40 Otra realización especial (realización 4) de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

U es metileno, y

A piridinilo o tiofenilo, tal como v.g., tiofenil-2-ilo.

Otra realización especial (realización 5) de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

R1 es (4-metoxi-fenil)-metilo, o 4-metoxi-fenilo.

5 Otra realización especial (realización 6) de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

R1 es 4-metoxi-fenilo.

Otra realización especial (realización 7) de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

10 R1 es (4-metoxi-fenil)-metilo, 2-hidroxi-fenilo, fenilo, 3-metoxicarbonil-fenilo, o 4-metoxi-fenilo, 2-metoxi-fenilo, 4-bromo-fenilo, 2-bromo-fenilo, 2-fluoro-fenilo, o 2-(trifluorometil)-fenilo, o 2-cloro-fenilo, 4-bromo-fenilo, 2-metil-fenilo.

Otra realización especial (realización 8) de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

15 R1 es 4-metoxifenilo, 2-metoxi-fenilo, 4-bromo-fenilo, 2-bromo-fenilo, 2-fluoro-fenilo, o 2-trifluorometil)-fenilo.

Otra realización especial (realización 9) de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

R1 es 2-bromo-fenilo.

20 Otra realización especial (realización 10) de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

R2 es metilo, metoxi, etoxi, benciloxi, cloro, fenoxi, fenilo, 4-metoxi-fenilo, trifluorometoxi, difluorometoxi, metiltio, cianometilo, o -N(R22)R23, en el cual

25 R22 y R23 juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en el cual

Het1 es morfolin-4-ilo, o 4N-metil-piperazin-1-ilo, y

R3 es hidrógeno.

Otra realización especial (realización 11) de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

30 R2 es metoxi, etoxi, fenoxi, cianometilo, o -N(R22)R23, en el cual

R22 y R23 juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en el cual

Het1 es morfolin-4-ilo, o 4N-metil-piperazin-1-ilo, y

R3 es hidrógeno.

35 Otra realización especial (realización 11) de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

R2 está fijado en la posición meta con respecto a la posición de enlace en la cual el anillo fenilo está enlazado al grupo amino del armazón de triazolofalazina, y

40 R3 está fijado en la posición meta o para con respecto a la posición de enlace en la cual el anillo fenilo está enlazado al grupo amino del armazón de triazolofalazina.

Otra realización especial (realización 14) de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

R2 está fijado en la posición para con respecto a la posición de enlace en la cual el anillo fenilo está enlazado al grupo amino del armazón de triazolofalazina, y



R3 está fijado en la posición meta con respecto a la posición de enlace en la cual el anillo fenilo está enlazado al grupo amino del armazón de triazoloftalazina.

Un grupo especial de los compuestos de acuerdo con la presente invención se refiere a aquellos compuestos de fórmula I, en la cual

5 R1 es 4-metoxi-fenilo, 2-metoxi-fenilo, 4-bromo-fenilo, 2-bromo-fenilo, 2-fluoro-fenilo, o 2-(trifluorometil)-fenilo,

R2 está fijado en la posición para o meta con respecto a la posición de enlace en la cual el anillo fenilo está enlazado al grupo amino del armazón de triazoloftalazina, y es cianometilo, o -N(R22)R23, en el cual

10 R22 y R23 juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en el cual

Het1 es morfolin-4-ilo, o 4N-metil-piperazin-1-ilo.

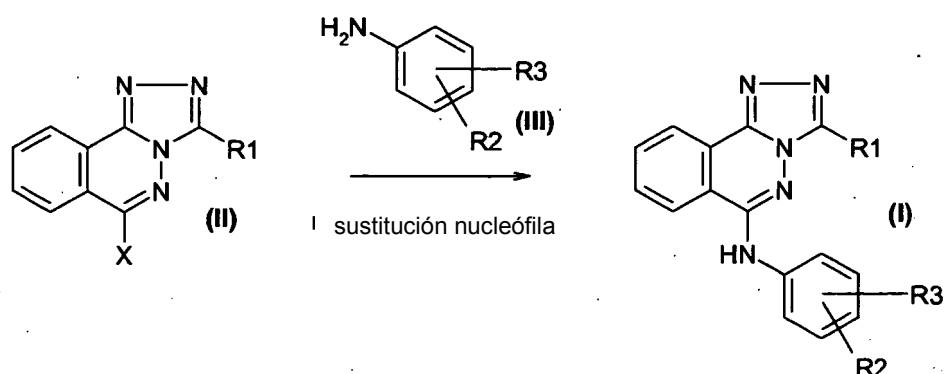
15 Los compuestos de acuerdo con la invención pueden prepararse, v.g., como se describe a modo de ejemplo más adelante y de acuerdo con los pasos de reacción especificados siguientes, o, particularmente, de una manera como se describe a modo de ejemplo en los ejemplos siguientes, o de modo análogo o similar a los mismos de acuerdo con procedimientos de preparación o estrategias de síntesis conocidas por las personas expertas en la técnica.

20 Como se muestra en el esquema de reacción 1 siguiente, los compuestos de fórmula I, en la cual R1, R2 y R3 tienen los significados arriba mencionados, se pueden obtener a partir de compuestos correspondientes de fórmula II, en la cual X es un grupo lábil adecuado, particularmente cloro, por reacción con derivados de anilina correspondientes de fórmula III.

25 Dicha reacción de sustitución nucleófila puede llevarse a cabo como se describe en los ejemplos siguientes o como es conocido por las personas expertas; así, dependiendo de la reactividad de las sustancias reaccionantes, la misma se puede llevar a cabo por fusión de las parejas de reacción sin disolvente o por reacción de las parejas de reacción en un disolvente adecuado, tal como v.g. N,N-dimetilformamida, en presencia de una base adecuada, tal como v.g. hidruro de sodio o carbonato de potasio, a una temperatura que permita que transcurra la reacción (ésta puede ser, dependiendo de las sustancias reaccionantes, la temperatura ambiente, temperatura elevada, o la temperatura de reflujo del disolvente utilizado o, en condiciones apropiadas, superior a la misma), opcionalmente bajo irradiación con microondas.

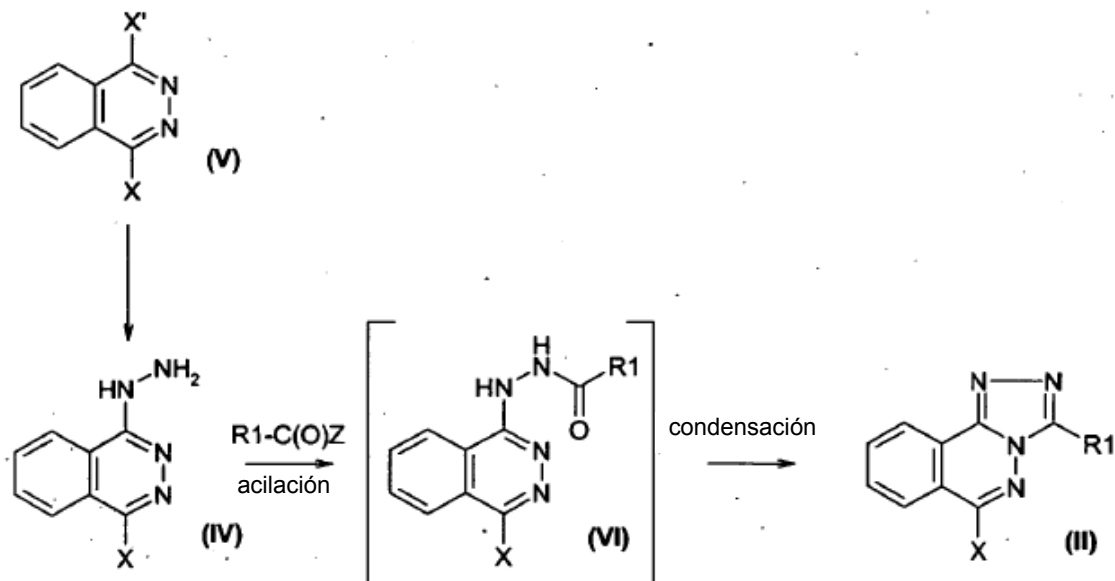
30 Los compuestos de fórmula III son conocidos, y están disponibles comercialmente o se pueden obtener de manera conocida. Los compuestos de fórmula II pueden obtenerse como se describe más adelante en esta memoria.

#### Esquema de reacción 1



35 Los compuestos de partida de fórmula II pueden obtenerse como se muestra en el esquema de reacción 4 o como se especifica en los ejemplos siguientes; o son conocidos en la técnica, tal como v.g. por R.W. Carling et al., J. Med. Chem. Vol. 47, No. 7, 1807-1822 (2004), o pueden prepararse de acuerdo con procedimientos conocidos o de modo análogo o similar a compuestos descritos en la técnica.

## Esquema de reacción 4



Los compuestos de fórmula II, en la cual R1 tiene los significados arriba mencionados y X es un grupo lábil adecuado, particularmente cloro, se pueden obtener a partir de compuestos correspondientes de fórmula IV sea en un solo paso por reacción de ciclación con compuestos correspondientes de fórmula R1-C(O)Z, en la cual Z es un grupo lábil adecuado, tal como v.g. cloro; o en dos pasos por la vía del compuesto intermedio aislable de fórmula VI, que es accesible por acilación de compuestos de fórmula IV y que puede hacerse reaccionar ulteriormente para dar los compuestos deseados de fórmula II por reacción de condensación.

Dichas reacciones pueden llevarse a cabo como se describe en los ejemplos siguientes, o en condiciones conocidas por las personas expertas o análogamente a reacciones conocidas en la técnica similares a ellas. Así, la reacción de ciclación en un solo paso arriba mencionada puede llevarse a cabo de modo análogo al descrito en J. Med. Chem. Vol. 31, 1988, p. 1115, en un disolvente adecuado, tal como v.g. tolueno, piridina o dioxano, en presencia de una base adecuada (v.g. trietilamina) a temperatura elevada o a la temperatura de reflujo del disolvente utilizado.

Los compuestos de fórmula IV se pueden obtener por sustitución nucleófila de compuestos de fórmula V, en la cual X y X' pueden ser iguales y son grupos lábiles adecuados, siendo particularmente ambos X y X' cloro, e hidracina.

Los compuestos de fórmulas R1-C(O)Z y V son conocidos o se pueden obtener de manera conocida.

Opcionalmente, los compuestos de la fórmula I pueden convertirse en sus sales u, opcionalmente, las sales de los compuestos de la fórmula I se pueden convertir en los compuestos libres.

Es adicionalmente conocido por las personas expertas en la técnica que, si existen varios centros reactivos en un compuesto de partida o compuesto intermedio, puede ser necesario bloquear uno o más centros reactivos temporalmente por grupos protectores a fin de permitir que una reacción transcurra específicamente en el centro de reacción deseado. Una descripción detallada del uso de un gran número de grupos protectores demostrados se encuentra, por ejemplo, en "Protective Groups in Organic Synthesis" por T. Greene y P. Wuts (John Wiley & Sons, Inc. 1999, 3ª edición) o en "Protecting Groups (Thieme Foundations Organic Chemistry Series N Group)" por P. Kocienski (Thieme Medical Publishers, 2000).

Las sustancias de fórmula I de acuerdo con la invención se aíslan y purifican de una manera conocida per se, por ejemplo por destilación del disolvente a presión reducida y recristalización del residuo obtenido a partir de un disolvente adecuado o sometiendo el mismo a uno de los métodos de purificación habituales, tales como, por ejemplo, cromatografía en columna sobre un material soporte adecuado.

Las sales se obtienen por disolución del compuesto libre en un disolvente adecuado (v.g. una cetona, tal como acetona, metil-etil-cetona o metil-isobutil-cetona, un éter, tal como éter dietílico, tetrahidrofurano o dioxano, un hidrocarburo clorado, tal como cloruro de metileno o cloroformo, o un alcohol alifático de peso molecular bajo, tal como etanol o isopropanol) que contiene el ácido o base deseado, o al cual se añade luego el ácido o base deseado. Las sales se obtienen por filtración, reprecipitación, precipitación con una sustancia no disolvente para la sal de adición o por evaporación del disolvente. Las sales obtenidas se pueden convertir en los compuestos libres, los cuales se pueden convertir a su vez en sales, por alcalinización o por acidificación. De esta manera, las sales farmacológicamente inaceptables se pueden convertir en sales farmacológicamente aceptables.

Convenientemente, las conversiones mencionadas en esta invención pueden llevarse a cabo análogamente o de modo similar a métodos que son familiares per se para las personas expertas en la técnica.

5 Las personas expertas en la técnica conocen, sobre la base de su experiencia y sobre la base de las rutas de síntesis que se muestran y se describen dentro de la descripción de esta invención, el modo de encontrar otras posibles rutas de síntesis para los compuestos de fórmula I. Todas estas otras posibles rutas de síntesis forman también parte de esta invención.

10 Una vez descrita en detalle la invención, el alcance de la presente invención no se limita únicamente a las características o realizaciones descritas. Como será evidente para las personas expertas en la técnica, pueden hacerse modificaciones, analogías, variaciones, derivaciones, homologaciones y adaptaciones de la invención descrita sobre la base la experiencia en la técnica y/o, particularmente, sobre la base de la descripción (v.g., la descripción explícita, implícita o inherente) de la presente invención sin desviarse del espíritu y alcance de esta invención como se define por el alcance de las reivindicaciones adjuntas.

15 Los ejemplos que siguen sirven para ilustrar la invención sin restringirla adicionalmente. Análogamente, compuestos adicionales de fórmula I, cuya preparación no se describe explícitamente, se pueden preparar de manera análoga o similar o de una manera familiar per se para las personas expertas en la técnica, utilizando técnicas de proceso convencionales.

Los compuestos de fórmula I de acuerdo con la presente invención que se mencionan en los ejemplos que siguen como compuestos finales, así como sus sales son un objeto preferido de la presente invención.

20 En los ejemplos, MS significa espectro de masas, M ión molecular en espectrometría de masas, p.f. punto de fusión, EF fórmula empírica, MW peso molecular, calc. calculado, enc. encontrado, h horas, y otras abreviaturas tienen los significados habituales per se para las personas expertas.

## **EJEMPLOS**

### **Compuestos finales:**

#### **1. (4-Metoxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina**

25 5,0 g de 6-cloro-3-(4-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina (compuesto B1), y 20 g de p-anisidina se agitan a 170°C durante 5 h. La mixtura de reacción se diluye con 40 ml de etanol y el precipitado se filtra con succión. El sólido se recristaliza en N,N-dimetilformamida para dar 5,2 g del compuesto del título. P.f.: 301-304°C.

EF: C<sub>23</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>2</sub> (397,44) encontrado: [M+1] 398,2

Procedimiento de reacción alternativo I:

30 100 mg de 6-cloro-3-(4-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina (compuesto B1), 1-3 mmoles del derivado de anilina apropiado y 30 mg de carbonato de potasio se agitan en 2,5 ml de N,N-dimetilformamida a 140°C durante 4 h o a 200°C durante 10 min bajo irradiación de microondas. La mixtura de reacción se diluye con diclorometano/agua o solución de hidróxido de sodio, el precipitado se filtra con succión, se lava con agua y se recristaliza en N,N-dimetilformamida.

35 Procedimiento de reacción alternativo II:

2,5 mmoles del derivado de anilina apropiado y 2,5 mmoles de hidruro de sodio (60%) en 2,5 ml de N,N-dimetilformamida se tratan con 100 mg de 6-cloro-3-(4-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina (compuesto B1), a la temperatura ambiente. Después de 10 min, se añade la mixtura de reacción a agua, se filtra el precipitado con succión y se recristaliza el sólido en N,N-dimetilformamida.

40 Procedimiento de acabado alternativo:

El producto se purifica por cromatografía en columna con gel de sílice.

45 Partiendo de los compuestos de partida correspondientes descritos a continuación (compuestos B1 a B16) y los derivados de anilina apropiados conocidos en la técnica, pueden obtenerse de modo análogo los compuestos siguientes de la Tabla 1 y compuestos similares relevantes adicionales, no descritos explícitamente, utilizando uno de los procedimientos arriba descritos:

Tabla 1:

Ejemplo No.	Nombre químico	EF	MW	Caracterización
2.	(3,4-Dimetoxi-fenil)-[3-(4-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C24H21N5O3	427,47	encontrado: [M+1] 428,3
3.	[3-(4-Metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-fenil-amina	C22H17N5O	367,41	encontrado: [M+1] 368,3
4.	(3-Benciloxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C29H23N5O2	473,54	p.f.:260°C
5.	(4-Clorofenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C22H16ClN5O	401,86	p.f.:295°C
6.	(4'-Metoxibifenil-4-il)H3-(4-etoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C29H23N5O2	473,54	encontrado: [M+1] 474,4
7.	(3-Metoxifenil)-[3-(4-etoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C23H19N5O2	397,44	encontrado: [M+1] 398,3
8.	[3-(4-Metoxifenil)-1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-(4-fenoxifenil)-amina	C28H21N5O2	459,51	p.f.:275,5°C

(continuación)

Ejemplo No.	Nombre químico	EF	MW	Caracterización
9.	[3-(4-Metoxifenil)-1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-(3-fenoxifenil)-amina	C28H21N5O2	459,51	encontrado: [M+1] 460,3
10.	(4-Benciloxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C29H23N5O2	473,54	p.f.:297°C
11.	3-(4-Metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-p-tolil-amina	C23H19N5O	381,44	p.f.:311°C
12.	(4-Etoxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C24H21N5O2	411,47	p.f.:297,5°C
13.	[3-(4-Metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-(4-morfolin-4-il-fenil)-amina	H24N6O2	452,52	p.f.:314°C
14.	3-(4-Metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-(4-trifluorometoxifenil)-amina	H16F3N5	451,41	p.f.:300°C
15.	{4-[3-(4-Metoxifenil)-1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-ilamino}-fenil}-acetonitrilo	C24H18N6O	406,45	p.f.:295°C

16.	[3-(4-Metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]-ftalazin-6-il]-(4-metilsulfanilfenil)-amina	H19N5OS	413,5	p.f.:326°C
17.	(4-Morfolin-4-il-fenil)-[3-(4-fenoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]-ftalazin-6-il]-amina	C31H26N6O2	514,59	p.f.:306°C
18.	[3-(4-Metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-amina	C27H27N7O	465,56	p.f.:266°C
19.	Éster metílico del ácido 3-[6-(4-morfolin-4-il-fenilamino)-[1,2,4]-triazolo[3,4-a]ftalazin-3-il]-benzoico	C27H24N6O3	480,53	NMR(d <sub>6</sub> -DMSO,200MHz) 3,09-3,17(m, 4H, CH <sub>2</sub> ), 3,72-3,83 (m, 4H, CH <sub>2</sub> ), 3,9 (s, 3H, OCH <sub>3</sub> ), 6,95-7,05 (m, 2H, H <sup>Ar</sup> ), 7,62-7,77 (m, 3H, H <sup>Ar</sup> ), 7,88-8,15 (m, 3H, H <sup>Ar</sup> ), 8,5-8,68 (m, 3H, H <sup>Ar</sup> ), 8,9 (s,1H, H <sup>Ar</sup> ), 9,29 (s,1H, NH)
20.	(4-Morfolin-4-il-fenil)-[3-(4-morfolin-4-il-fenil)-[1,2,4]-triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C29H29N7O2	507,6	p.f.:322°C
21.	[3-(4-Metoxi-bencil)-[1,2,4]-triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-(4-morfolin-4-il-fenil)-amina	C27H26N6O2	466,55	encontrado: [M+1] 467,3

(continuación)

Ejemplo No.	Nombre químico	EF	MW	Caracterización
22.	Éster metílico del ácido 4-[6-(4-Morfolin-4-il-fenilamino)-[1,2,4]-triazolo[3,4-a]ftalazin-3-il]-benzoico	C27H24N6O3	480,53	p.f.:303°C
23.	(3-Etoxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C24H21N5O2	411,47	encontrado: [M+1] 412,3
24.	[3-(4-Metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-(3-trifluoro-metoxifenil)-amina	C23H16F3N5O2	451,41	encontrado: [M+1] 452,3
25.	(4-Morfolin-4-ilfenil)-(3-fenil-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il)-amina	C25H22N6O	422,49	p.f.:306°C
26.	[6-(4-Morfolin-4-il-fenilamino)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-3-il]-fenol	C25H22N6O2	438,49	p.f.:317°C
27.	(3,5-Dimetoxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C24H21N5O3	427,47	p.f.:218°C

28.	[3-(1,1-Difluorometoxi)-fenil]-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C23H17F2N5O2	433,42	p.f.:247°C
29.	(3,4-Dietoxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C26H25N5O3	455,52	p.f.:242,5°C
30.	[4-(1,1-Difluorometoxi)-fenil]-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina	C23H17F2N5O2	433,42	p.f.:294°C
31.	(4-Bromo-fenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-il]-amina	C22H16BrN5O	446,31	p.f.:314-316°C

### Compuestos de partida

#### B1. 6-Cloro-3-(4-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina.

5 Se suspenden 6,0 g de (4-cloro-ftalazin-1-il)-hidrazina (compuesto C1) en una mezcla de 160 ml de tolueno y 18 ml de trietilamina a 60°C y se tratan con una solución de 6,0 g de cloruro de 4-metoxi-benzoílo en 48 ml de tolueno. La mezcla se agita a 110°C durante 6 h, se enfría a la temperatura ambiente, se filtra con succión y se lava con tolueno. El sólido se recristaliza en N,N-dimetilformamida, y el precipitado se lava con agua y se seca para dar 5,2 g del compuesto del título (p.f.: 192-193°C).

EF: C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>ClN<sub>4</sub>O (310,75) encontrado: [M+1] 311,2

10 Procedimiento alternativo de acabado:

Los productos pueden purificarse por cromatografía en columna con gel de sílice.

Partiendo de (4-cloro-ftalazin-1-il)-hidrazina (compuesto C1) y los derivados de ácido benzoico apropiados, pueden obtenerse los compuestos B2 a B15 siguientes análogamente al procedimiento que se ha descrito para los compuestos B1 o B16.

15 **B2. 6-Cloro-3-(2-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina**

EF: C<sub>16</sub>H<sub>11</sub>ClN<sub>4</sub>O (310,75) encontrado: [M+1] 311,3

p.f.: 136-140°C

**B3. 6-Cloro-3-(2-fluoro-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina**

EF: C<sub>15</sub>H<sub>8</sub>ClF<sub>2</sub>N<sub>4</sub> (298,71) encontrado: [M+1] 299,0

20

p.f.: 185-188°C

**B4. 6-Cloro-3-(2-bromo-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina**

EF: C<sub>15</sub>H<sub>8</sub>BrClN<sub>4</sub> (359,61) encontrado: [M+1] 358,8

p.f.: 197-200°C

**B5. 6-Cloro-3-(2-trifluorometil-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina**

25

EF: C<sub>16</sub>H<sub>8</sub>ClF<sub>3</sub>N<sub>4</sub> (348,72) encontrado: [M+1] 348,9

p.f.: 225-228°C

**B6. 6-Cloro-3-(2-metil-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina**

p.f.: 189-191°C

**B7. 6-Cloro-3-(4-bromo-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina**EF: C<sub>15</sub> H<sub>8</sub> Br Cl N<sub>4</sub> (359,61) encontrado: [M+1] 358,8

p.f.: 191-195°C

**B8. 6-Cloro-3-(2-N,N-dimetilamino-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina**5 EF: C<sub>17</sub> H<sub>14</sub> Cl N<sub>5</sub> (323,79) encontrado: [M+1] 324,0

p.f.: 180-185°C

**B9. 6-Cloro-3-(4-metoxibencil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina**EF: C<sub>17</sub> H<sub>13</sub> Cl N<sub>4</sub> O (324,77) p.f.: 219,5°C**B10. Ácido 4-(6-cloro-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-3-il)-benzoico, éster metílico**10 EF: C<sub>17</sub> H<sub>11</sub> Cl N<sub>4</sub> O<sub>2</sub> (338,76) p.f. 211°C

p.f. 210-211°C

**B11. 6-Cloro-3-(3-fenoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina**C<sub>21</sub> H<sub>13</sub> Cl N<sub>4</sub> O (372,82) p.f.: 102°C**B12. Ácido 3-(6-Cloro-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-3-il)-benzoico, éster metílico**15 C<sub>17</sub> H<sub>11</sub> Cl N<sub>4</sub> O<sub>2</sub> (338,76) encontrado: [M+1] 339,3**B13. 2-(6-Cloro-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-3-il)-fenol**C<sub>15</sub> H<sub>9</sub> Cl N<sub>4</sub> O (296,72) encontrado: [M+1] 297,4**B14. 3-(6-Cloro-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-3-il)-fenol**C<sub>15</sub> H<sub>9</sub> Cl N<sub>4</sub> O (296,72) encontrado: [M+1] 297,3**B15. 6-Cloro-3-(4-morfolin-4-il-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina**20 C<sub>19</sub> H<sub>16</sub> Cl N<sub>5</sub> O (365,83) p.f.: 286°C**B16. 6-Cloro-3-fenil-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazina**

Paso 1:

25 Se suspenden 2,5 g de (4-cloro-ftalazin-1-il)-hidrazina (compuesto C1) en 250 ml de tolueno y se tratan con una solución de 1,7 ml de cloruro del ácido benzoico en 50 ml de tolueno a la temperatura de reflujo. Después de 2 h, la mixtura de reacción se enfría a la temperatura ambiente y se filtra con succión. El filtrado se concentra a presión reducida y el residuo se cristaliza en N,N-dimetilformamida para dar 1,2 g de (4-cloro-2-*H*-ftalazin-1-ilideno)-hidrazida del ácido benzoico.EF: C<sub>15</sub>H<sub>11</sub>ClN<sub>4</sub>O (298,73) encontrado: [M+1] 299,1

30 Paso 2:

35 Se suspenden 2,5 g de (4-cloro-2-*H*-ftalazin-1-ilideno)-hidrazida del ácido benzoico y 1 g de hidrocloreto de trietilamina en 60 ml de etilenglicol y se agita a 130°C durante 3 h. La mixtura de reacción se enfría a la temperatura ambiente y se añade a 600 ml de agua. El producto se extrae con diclorometano, se seca la capa orgánica con sulfato de sodio y se concentra a presión reducida. El residuo se recrystaliza en N,N-dimetilformamida para dar el compuesto del título.EF: C<sub>15</sub> H<sub>9</sub> Cl N<sub>4</sub> (280,72) encontrado: [M+1] 281,2

p.f.: 162°C

Procedimiento de acabado alternativo: Los productos pueden purificarse por cromatografía en columna con gel de sílice.

40

**C1. (4-Cloro-ftalazin-1-il)-hidrazina**

Se añaden poco a poco 10 g de dicloroftalazina disponible comercialmente a 90°C a una solución de 50 ml de etanol y 20 ml de hidrato de hidracina. Después de 10 min, la mixtura de reacción se enfría a la temperatura ambiente, se filtra con succión el precipitado y se lava con etanol para dar 8,4 g del compuesto del título.

5 EF: C8H7CIN4 (194,62) encontrado: [M+1] 195,0

**Aplicabilidad comercial**

Los compuestos de acuerdo con la invención tienen propiedades farmacológicas útiles que los hacen industrialmente utilizables. Como inhibidores selectivos de las fosfodiesterasas cíclicas hidrolizantes de GMP (inhibidores cGMP-PDE) - preferentemente del tipo 2 -, aquéllos son adecuados por una parte como agentes terapéuticos para afecciones de actividad endotelial patológicamente incrementada y función de barrera endotelial deteriorada tal como el choque séptico, el edema vascular, o enfermedades asociadas con neoangiogénesis indeseable. Por otra parte, dada la expresión de PDE2 en el tejido neuronal, los compuestos pueden ser útiles también en afecciones neurodegenerativas. Adicionalmente, PDE2 se expresa en las plaquetas humanas, habiéndose demostrado que los inhibidores de PDE2 suprimen las funciones de las plaquetas. En consecuencia, los compuestos pueden utilizarse como anti-trombóticos/inhibidores de la agregación de las plaquetas. Adicionalmente, dado que se ha demostrado la presencia de PDE2 en el miocardio, los compuestos pueden proporcionar potencial para protección contra las arritmias.

Teniendo en cuenta sus propiedades inhibitoras de cGMP-PDE (preferentemente PDE2), los compuestos de acuerdo con la invención se pueden emplear en medicina humana y veterinaria como agentes terapéuticos, pudiendo utilizarse los mismos, por ejemplo, para el tratamiento y la profilaxis de las enfermedades siguientes: (1) todas las afecciones de actividad endotelial patológicamente potenciada/función de barrera endotelial deteriorada aumentadas patológicamente tales como fallo multi-orgánico, en particular síndrome de dificultad respiratoria agudo (ARDS) en el choque séptico, neumonía, trastornos agudos y crónicos de las vías aéreas de origen diverso (rinitis, bronquitis, asma bronquial, enfisema, COPD), angioedema, edema periférico, edema cerebral, por ejemplo traumático o subsiguiente a derrame cerebral; (2) todas las afecciones asociadas con neoangiogénesis aumentada patológicamente, tales como todas las clases de tumores (benignos o malignos) que están asociados con neoangiogénesis y todas las clases de enfermedades inflamatorias asociadas con neoangiogénesis, por ejemplo trastornos de tipo artrítico (artritis reumatoide, espondilitis reumatoide, osteoartritis y otras condiciones artríticas), todas las formas de psoriasis, ceguera retinal, asma bronquial, enfermedad intestinal inflamatoria, rechazo de trasplantes, rechazos de aloinjertos, aterosclerosis; (3) todas las afecciones para las cuales es deseable la inhibición de la agregación plaquetaria en asociación con reducción de la activación endotelial aumentada, tales como trastornos tromboembólicos e isquemias que abarcan infarto de miocardio, infarto cerebral, ataques isquémicos transitorios, angina de pecho, trastornos circulatorios periféricos, prevención de la restenosis después de terapia trombolítica, angioplastia transluminal percutánea (PTA), angioplastia coronaria transluminal percutánea (PTCA) y bypass; (4) todos los tipos de cognición deteriorada, en particular trastornos cognitivos tales como trastorno cognitivo moderado (MCI), enfermedad de Alzheimer, demencia de cuerpos de Lewy, enfermedad de Parkinson y demencia cerebrovascular; (5) en arritmias cardíacas, (6) osteoporosis, fractura y/o defecto óseo, y crecimiento interno óseo.

La invención puede aplicarse en un método para el tratamiento de mamíferos, con inclusión de los humanos, que padecen una de las enfermedades arriba mencionadas. El método se caracteriza porque se administra una cantidad terapéuticamente activa y farmacológicamente efectiva y tolerable de uno o más de los compuestos de acuerdo con la invención al mamífero enfermo.

La invención puede aplicarse ulteriormente en un método para inhibición de la PDE, particularmente PDE2, que comprende poner en contacto dicha PDE con una cantidad eficaz de un compuesto de acuerdo con la invención.

45 La invención puede aplicarse adicionalmente en un método para inhibición de la PDE, particularmente PDE2, que comprende administrar una cantidad farmacológicamente activa y terapéuticamente efectiva y tolerable de al menos un compuesto de acuerdo con la invención a un mamífero que se encuentra en necesidad de dicha inhibición.

La invención se refiere adicionalmente a los compuestos de acuerdo con la invención para uso en el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades, especialmente las enfermedades mencionadas.

50 La invención se refiere adicionalmente a los compuestos de acuerdo con la invención que tienen actividad inhibitora de la PDE, particularmente PDE2.

La invención se refiere también al uso de los compuestos de acuerdo con la invención para la producción de composiciones farmacéuticas que se emplean para el tratamiento y/o la profilaxis de las enfermedades mencionadas.



La invención se refiere también al uso de los compuestos de acuerdo con la invención para la producción de composiciones farmacéuticas que se emplean para el tratamiento y/o la profilaxis de enfermedades asociadas con PDE - particularmente PDE2.

5 La invención se refiere adicionalmente a composiciones farmacéuticas para el tratamiento y/o la profilaxis de las enfermedades mencionadas, que contienen uno o más de los compuestos de acuerdo con la invención.

La invención se refiere adicionalmente a composiciones farmacéuticas que tienen actividad inhibitora de la PDE, particularmente PDE2.

10 Adicionalmente, la invención se refiere a un artículo de fabricación, que comprende material de envasado y un agente farmacéutico contenido dentro de dicho material de envasado, en el cual el agente farmacéutico es terapéuticamente eficaz para antagonizar los efectos de la nucleótido-fosfodiesterasa cíclica de tipo 2 (PDE2), mejorar los síntomas de un trastorno mediado por PDE2, y en el cual el material de envasado comprende una etiqueta o un prospecto del envase que indica que el agente farmacéutico es útil para prevención o tratamiento de trastornos mediados por PDE2, y en el cual dicho agente farmacéutico comprende uno o más compuestos de fórmula 1 de acuerdo con la invención. El material de envasado, la etiqueta y el prospecto del envase corren parejas con o se asemejan a lo que se considera generalmente como material estándar de envasado, etiquetas y prospectos de envase para productos farmacéuticos que tienen utilidades afines.

15 La administración de las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención puede realizarse en cualquiera de los modos de administración disponibles en la técnica y aceptados generalmente. Ejemplos ilustrativos de modos de administración adecuados incluyen administración intravenosa, oral, nasal, parenteral, tópica, transdérmica y rectal. Se prefiere la administración intravenosa y oral.

20 Las composiciones farmacéuticas se preparan por procesos que son conocidos per se y familiares para las personas expertas en la técnica. Como composiciones farmacéuticas, los compuestos de acuerdo con la invención (= compuestos activos) se emplean o bien como tales, o preferiblemente en combinación con adyuvantes y/o excipientes farmacéuticos adecuados, v.g. en forma de tabletas, tabletas recubiertas, cápsulas, "caplets", supositorios, parches (v.g., como TTS), emulsiones, suspensiones, geles o soluciones, estando comprendido ventajosamente el contenido del compuesto activo entre 0,1 y 95% y donde, por la elección apropiada de los adyuvantes y/o excipientes, puede conseguirse una forma de administración farmacéutica (v.g. una forma de liberación retardada o una forma entérica) exactamente adecuada para el compuesto activo y/o para el comienzo de acción deseado.

30 La persona experta en la técnica está familiarizada con adyuvantes o excipientes que son adecuados para las formulaciones farmacéuticas deseadas por su conocimiento experto. Además de disolventes, pueden utilizarse formadores de gel, bases de ungüentos y otros excipientes del compuesto activo, por ejemplo, antioxidantes, dispersantes, emulsionantes, conservantes, solubilizantes, colorantes, agentes complejantes o promotores de permeación.

35 Para el tratamiento de trastornos del tracto respiratorio, los compuestos de acuerdo con la invención se administran también preferiblemente por inhalación en la forma de un aerosol, teniendo preferiblemente las partículas de aerosol de composición sólida, líquida o mixta, un diámetro de 0,5 a 10  $\mu\text{m}$ , ventajosamente de 2 a 6  $\mu\text{m}$ .

40 La generación de aerosoles puede llevarse a cabo, por ejemplo, por atomizadores de chorro accionados a presión o atomizadores ultrasónicos, pero ventajosamente por aerosoles dosificados accionados por propelentes o por administración sin propelente de los compuestos activos micronizados desde cápsulas de inhalación.

Dependiendo del sistema inhalador utilizado, además de los compuestos activos, las formas de administración contienen adicionalmente los excipientes requeridos, tales como, por ejemplo, propelentes (v.g. Freón en el caso de aerosoles dosificados), sustancias tensioactivas, emulsionantes, estabilizadores, conservantes, saborizantes, cargas (v.g. lactosa en el caso de los inhaladores de polvo) o, en caso apropiado, compuestos activos adicionales.

45 Para los propósitos de inhalación, están disponibles un gran número de aparatos con los cuales pueden generarse y administrarse aerosoles de tamaño de partícula óptimo, utilizando una técnica de inhalación que sea lo más adecuada posible para el paciente. Además del uso de adaptadores (espaciadores, expansores) y envases en forma de pera (v.g. Nebulator®, Volumatic®), y dispositivos automáticos que emiten un spray a bocanadas (Autohaler®), para aerosoles medidos, en particular en el caso de inhaladores de polvo, están disponibles varias soluciones técnicas (v.g. Diskhaler®, Rotadisk®, Turbohaler® o el inhalador descrito en la Solicitud de Patente Europea EP 0505321), utilizando los cuales puede conseguirse una administración óptima del compuesto activo.

55 Para el tratamiento de enfermedades de la piel, los compuestos de acuerdo con la invención se administran en particular en la forma de aquellas composiciones farmacéuticas que son adecuadas para aplicación tópica. Para la producción de las composiciones farmacéuticas, los compuestos de acuerdo con la invención (= compuestos activos), se mezclan preferiblemente con adyuvantes farmacéuticos adecuados y se procesan ulteriormente para dar formulaciones farmacéuticas adecuadas. Formulaciones farmacéuticas adecuadas son, por ejemplo, polvos, emulsiones, suspensiones, sprays, aceites, ungüentos, pomadas grasas, cremas, pastas, geles o soluciones.

Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención se preparan por procesos conocidos per se. La dosificación de los compuestos activos tiene lugar en el orden de magnitud habitual para los inhibidores de PDE. Las formas de aplicación tópica (tal como ungüentos) para el tratamiento de las dermatosis contienen así los compuestos activos en una concentración de, por ejemplo, 0,1-99%. La dosis para administración por inhalación está comprendida habitualmente entre 0,1 y 3 mg por día. La dosis habitual en el caso de la terapia sistémica (p.o. o i.v.) está comprendida entre 0,03 y 3 mg/kg por día.

### Investigaciones biológicas

#### **Método para medida de la inhibición de las actividades de PDEs**

Abreviaturas: PDE: fosfodiesterasa, PCR: reacción en cadena de polimerasa, RT-PCR: transcripción inversa-reacción en cadena de polimerasa, dNTPs: desoxinucleótido-trifosfatos, RNA: ácido ribonucleico, cDNA: ácido desoxirribonucleico complementario, bp: pares de bases, (dT)<sub>15</sub>: ácido pentadecatimidílico, ORF: marco de lectura abierto, GB no.: número de acceso a la base de datos GenBank, rBV: baculovirus recombinante, wt: tipo salvaje, aa: aminoácido, UCR: región conservada de aguas arriba, PAA: poliacrilamida.

Los aminoácidos se abrevian con el símbolo de 1 carácter: A para alanina, C para cisteína, D para ácido aspártico, E para ácido glutámico, F para fenilalanina, G para glicina, H para histidina, I para isoleucina, K para lisina, L para leucina, M para metionina, N para asparagina, P para prolina, Q para glutamina, R para arginina, S para serina, T para treonina, V para valina, W para triptófano, Y para tirosina.

#### **Métodos generales para clonación de PDEs recombinantes**

Se purificó RNA a partir de líneas de células utilizando el RNeasy Mini Kit de Qiagen. Se sometió 1 µg de RNA a transcripción inversa en cDNA monocatenario en una reacción de 20 µl utilizando la Transcriptasa Inversa Expand (Roche) con 50 pM de cebador (dT)<sub>15</sub> y 1 mM de dNTPs (ambos de Roche). Se utilizaron como molde 5 µl de cDNA para la reacción PCR subsiguiente. Los cDNAs humanos procedentes de tejidos se adquirieron de Clontech o Invitrogen. Se utilizó 1 µl para la reacción PCR.

La PCR se llevó a cabo en un *Robocycler 40 Stratagene* o en un termociclador *MWG Primus 96 plus*. Típicamente, la PCR se llevó a cabo con el sistema PCR Expand Lond Template de Roche en tampón 3 más 0,75 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,3 µM de cada cebador, y 500 µM de dNTPs.

Los productos PCR se purificaron con el Kit de Purificación de Productos High Pure PCR (Roche) o a partir de gel de agarosa con el kit QIAquick Gel Extraction de Qiagen, y se clonó en el vector pCR2.1-tio TOPO de Invitrogen. Los ORFs se subclonaron en vectores de expresión de baculovirus (plásmidos de transferencia). Los vectores pCR-Bac y pVL eran de Invitrogen. Los vectores pBacPak (pBp8 o pBp9) eran de Clontech. Las endonucleasas de restricción eran de Roche y MBI Fermentas. Las enzimasificadoras y la DNA-ligasa T4 eran de New England Biolabs. El DNA fue secuenciado por la compañía GATC GmbH (Konstanz, Alemania, [www.gatc.de](http://www.gatc.de)) o en el laboratorio de ALTANA Pharma's utilizando un ABI PRISM 310 y la química de secuenciación cíclica con el terminador Big Dye v2 de (Applied Biosystems). El análisis de la secuencia se realizó con Hitachi Software DNASIS, Versión 2.5 o con Vector NT17. En caso necesario, la mutagénesis *in vitro* se realizó finalmente con el Kit de Mutagénesis Orientada QuickChange de Stratagene.

#### **Clonación de PDE 2A3 humana**

La **PDE2A3** (GB No. U67733) se amplificó en dos pasos utilizando PCR de cDNA de cerebro. Se aisló un fragmento N-terminal utilizando los iniciadores CP1 PD2AS (5'-GAGGAGTGATGGGGCAGGC-3') y PR9PD2AA(5'-GCGAAGTGGGAGACAGAAAAG-3') y se aisló un fragmento C-terminal utilizando los cebadores PR7PD2AS(5'-GATCCTGAACATCCCTGACG-3') y CP3PD2AA (5'-GGGATCACTCAGCATCAAGGC-3'). Los productos PCR se clonaron en el vector pCR2.1-Topo. El fragmento N-terminal se subclonó primeramente con EcoRI en pBluescript II KS(-), después de lo cual se intercambió un fragmento Bst1107I/EcoRV con el fragmento de restricción correspondiente del clon C-terminal, para obtener un ORF completo. El ORF para la PDE2A3 se subclonó en pBP8 utilizando XbaI y KpnI.

#### **Expresión de PDE2 recombinante**

Se preparó el rBV por medio de recombinación homóloga en células de insecto Sf9. Los plásmidos de expresión se cotransfectaron con Bac-N-Blue (Invitrogen) o DNA Baculo-Gold (Pharmingen) utilizando un protocolo estándar (Pharmingen). Se seleccionaron sobrenadantes virales recombinantes exentos de virus de tipo salvaje utilizando métodos de ensayo de calvas. Después de ello, se prepararon sobrenadantes de virus de título alto por amplificación 3 veces. Se expresó PDE2 en células Sf21 por infección de 2 x 10<sup>6</sup> células/ml con una MOI (multiplicity of infection) entre 1 y 10 en medio SF900 exento de suero (Life Technologies). Las células se cultivaron a 28°C, típicamente durante 48 horas, después de lo cual se redujeron las mismas a un sedimento durante 5-10 min a 1000 g y 4°C. Las células se cultivaron en matraces rotativos a una velocidad de rotación de 75 rpm. Las células de insecto SF21 se resuspendieron, a una concentración de aproximadamente 10<sup>7</sup> células/ml, en tampón de homogeneización enfriado en hielo (4°C) (20 mM Tris, pH 8,2, que contenía las elecciones siguientes: 140 µM NaCl, 3,8 mM KCl, 1 mM EGTA,

1 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 mM β-mercaptoetanol, 2 mM benzamida, 0,4 mM Pefablock, 10 mM leupeptina, 10 mM pepstatina A, 5 μM inhibidor de tripsina) y se disgregaron por tratamiento con ultrasonidos. El homogeneizado se centrifugó luego durante 10 minutos a 1000 x g y el sobrenadante se guardó a -80°C hasta su uso subsiguiente (véase más adelante). El contenido de proteínas se determinó por el método de Bradford (BioRad, Munich) utilizando BSA como estándar. La integridad y el tamaño de las proteínas recombinantes se analizaron por transferencia Western.

#### Medida de la inhibición de PDE2A3 recombinante humana por tecnología SPA

Se inhibieron las actividades de PDE2A3 recombinante humana por las muestras de test en un test SPA (ensayo de proximidad de centelleo) modificado, suministrado por Amersham Pharmacia Biotech (véanse las instrucciones del procedimiento "ensayo enzimático de la fosfodiesterasa [3H]cAMP SPA, código TRKQ 7090"), realizado en placas de microtitulación de 96 pocillos (MTP's). El volumen de test es 100 μl y contiene 20 mM de tampón Tris (pH 7,4), 0,1 mg de BSA (seroalbúmina bovina)/ml, 5 mM Mg<sup>2+</sup>, 0,5 μM cAMP (que incluye aproximadamente 50.000 cpm de [3H]cAMP), 5 μM de cGMP (para activar PDE2A3), 2 μl de la dilución de la sustancia respectiva en DMSO y PDE recombinante suficiente (sobrenadante de 1000 x g, véase arriba) para asegurarse de que el 15-20% del cAMP se convierte en dichas condiciones experimentales. Después de una preincubación de 5 min a 37°C, la reacción se inicia por adición del sustrato (cAMP) y los ensayos se incuban durante 15 minutos más; después de ello, se interrumpen por adición de cuentas de SPA (50μl). De acuerdo con las instrucciones del fabricante, las cuentas de SPA se habían resuspendido previamente en agua y se habían diluido luego en relación 1:3 (v/v); la solución diluida contiene también 3 mM IBMX. Después que se han sedimentado las cuentas (> 30 min), las MTP's se analizan en dispositivos de medición disponibles comercialmente y los valores CI<sub>50</sub> correspondientes de los compuestos para la inhibición de las actividades de PDE se determinan a partir de las curvas concentración-efecto por medio de regresión no lineal.

#### Método para evaluar la inhibición de la permeabilidad a las macromoléculas de las monocapas HUVEC

El procedimiento para medir la permeabilidad a las macromoléculas de monocapas de células endoteliales siguió el método descrito por Langeler & van Hinsbergh (1988) con modificaciones. Se aislaron células endoteliales de la vena umbilical humana de cordones umbilicales de acuerdo con procedimientos estándar (Jaffe et al. 1973) se cultivaron en medio basal de células endoteliales (EBM) complementado con 2% FCS, 0,5 ng/ml de VEGF, 10 ng/ml de bFGF, 5 ng/ml de EGF, 20 ng/ml de Long R3 IGF-1, 0,2 μg/ml de hidrocortisona, 1 μg/ml de ácido ascórbico, 22,5 μg/ml de heparina, 50 μg/ml de gentamicina, y 50 ng/ml de anfotericina B (EGM2 adquirida de Promocell GmbH, Heidelberg, Alemania). En la confluencia, las células se tripsinizaron y se extendieron de nuevo en placas a 73000 células por pocillo sobre inserciones de filtros de policarbonato Transwell de 3 μm (Costar GmbH, Bodenheim, Alemania) recubiertas previamente con 10 μg cm<sup>-2</sup> de Fibronectina (Sigma, Taufkirchen, Alemania). Se cultivaron las HUVECs en EGM2 (100 μl en los pocillos superiores y 600 μl en los pocillos inferiores) durante 4 días antes de los experimentos y se cambió el medio en días alternos. El día del experimento, el medio de cultivo se reemplazó por M199 con 1% de seroalbúmina humana. Las células endoteliales se preincubaron con modificadores de nucleótidos cíclicos (el inhibidor selectivo de PDE3 Motapizona, el inhibidor selectivo de PDE4 RP73401, los generadores de cGMP ANP o SNP e inhibidores de PDE2) durante 15 min. Las HUVECs se estimularon luego con trombina (1 U ml<sup>-1</sup>) (Sigma, Taufkirchen Alemania) y se añadió a los pocillos superiores peroxidasa de rábano picante (5 μg/ml) (Sigma, Taufkirchen, Alemania) como la proteína marcadora macromolecular. Después de 1 h de tiempo de incubación, se retiraron los Transwells y se midió en los pocillos inferiores la actividad de peroxidasa de rábano picante que penetraba en la monocapa de células endoteliales con el sistema de sustrato líquido 3,3',5,5'-tetrametilbencidina de Sigma (Taufkirchen, Alemania).

#### Resultados

Los valores inhibidores representativos [medidos como -log CI<sub>50</sub> (mol/l)] determinados en el ensayo mencionado anteriormente se deducen de la tabla A siguiente, en la cual los números de los compuestos corresponden a los números de los ejemplos.

Tabla A

Inhibición de la actividad de PDE2	
Compuesto	-log CI <sub>50</sub> [mol/l]
1 a 19, y 21 a 30	Los valores inhibidores de estos compuestos enumerados están comprendidos en el intervalo de 7,4 a 9,1

En paralelo, los compuestos de acuerdo con la invención pueden inhibir la permeabilidad inducida por trombina de las monocapas HUVEC para peroxidasa de rábano picante (HRP) como marcador macromolecular. Por tanto, se sugiere que los inhibidores de PDE2 mejoran la función de barrera endotelial, que está deteriorada en numerosas afecciones tales como el síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS) o la neumonía grave. El sistema para

5 medir estos efectos celulares de los inhibidores de PDE2 observaba las características enzimológicas de PDE2 que exhibe una Km bastante alta para cAMP y cuya actividad es activada por cGMP. El aumento inducido por trombina de la permeabilidad de HRP se anulaba completamente por inhibición completa de PDE3 (10 μM Motapizona) y PDE4 (1 μM RP73401). Sin embargo, en presencia adicional de ANP (100 nM) o SNP (1 mM) para aumentar cGMP, la inhibición por PDE3 y 4 de la permeabilidad se invertía parcialmente. Los inhibidores de PDE2 bloqueaban la permeabilidad de HRP estimulada por trombina si estaban presentes RP73401 1 μM, Motapizona 10 μM, ANP 100 nM o SNP 1 mM, indicando que ANP o SNP activan PDE2 por generación de cGMP. La inhibición dependiente de la concentración de la permeabilidad de HRP a diferentes concentraciones se evaluó a partir de la inhibición porcentual en presencia y ausencia de los inhibidores de PDE2 y en presencia de RP73401 1 μM, Motapizona 10 μM y ANP 100 nM. En ausencia de inhibición por PDE3 y 4, ANP o SNP, los inhibidores de PDE2 exhibían muy poco efecto en la hiperpermeabilidad a las macromoléculas inducida por trombina.

**Inhibición de la permeabilidad inducida por SNP o ANP de las monocapas HUVEC:**

15 Se preincubaron células HUVEC en filtros de policarbonato de 3 μM (Transwells) con RP73401 1 μM (para bloquear PDE4) y Motapizona 10 μM (para bloquear PDE3), SNP 1 mM o ANP 100 nM y la muestra de test durante 15 min y se estimularon luego con 1 U/ml de trombina. El paso de HRP a los pocillos inferiores se evaluó después de 60 min. RP73401 y Motapizona bloqueaban completamente la hiperpermeabilidad inducida por trombina, que era invertida parcialmente por SNP y ANP.

Los compuestos de acuerdo con esta invención pueden inhibir el aumento de la permeabilidad inducida por SNP o ANP de una manera dependiente de la concentración.

20 Valores inhibidores representativos [medidos como  $-\log CI_{50}$  (mol/l)] determinados en el ensayo mencionado anteriormente se deducen de la tabla B siguiente, en la cual los números de los compuestos corresponden a los números de los ejemplos.

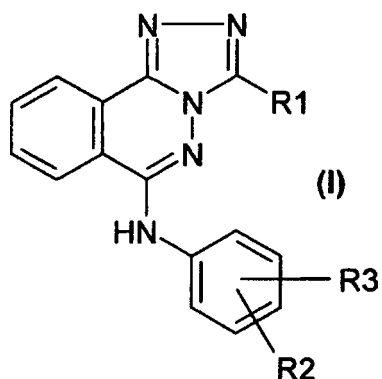
**Tabla B**

<b>Inhibición de la permeabilidad inducida por SNP o ANP</b>	
Compuesto	$-\log CI_{50}$ [mol/l]
2, 6 a 19, y 23 a 30	Los valores inhibidores de estos compuestos enumerados están comprendidos en el intervalo de 6,5 a 8,1

25

## REIVINDICACIONES

1. Compuestos de fórmula I



en la cual

5 R1 es -U-A, en donde

U es un enlace directo, o metileno (-CH<sub>2</sub>-),

A es fenilo, piridinilo, tiofenilo, o fenilo sustituido con R11 y/o R111, en donde

R11 es 1-4C-alquilo, halógeno, trifluorometilo, hidroxilo, 1-4C-alcoxi, 1-4C-alcoxi total o predominantemente sustituido con flúor, fenoxi, 1-4C-alcoxicarbonilo, morfolino, o di-1-4C-alquilamino,

10 R111 es 1-4C-alcoxi, halógeno, hidroxilo, o 1-4C-alquilo,

R2 es hidrógeno, 1-4C-alquilo, 1-4C-alcoxi, fenil-1-4C-alcoxi, fenoxi, 3-7C-cicloalcoxi, 3-7C-cicloalquilmetoxi, halógeno, trifluorometilo, nitro, fenilo, fenilo sustituido con R21, 1-4C-alcoxi total o predominantemente sustituido con flúor, 1-4C-alquiltio, ciano-1-4C-alquilo, o -N(R22)R23, en donde

R21 es 1-4C-alcoxi, halógeno o 1-4C-alquilo,

15 R22 y R23 juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en el cual

Het1 está sustituido opcionalmente con R24, y es un radical de anillo heterocíclico monocíclico totalmente saturado de 3 a 7 miembros que comprende el átomo de nitrógeno al cual están unidos R22 y R23, y opcionalmente un heteroátomo adicional seleccionado de nitrógeno, oxígeno y azufre, en donde

20 R24 es 1-4C-alquilo,

R3 es hidrógeno, 1-4C-alquilo, 1-4C-alcoxi o halógeno,

y las sales de estos compuestos.

2. Compuestos de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual

R1 es -U-A, en donde

25 U es un enlace directo, o metileno (-CH<sub>2</sub>-),

A es fenilo, piridinilo, tiofenilo, dimetoxifenilo, o fenilo sustituido con R11, en donde

R11 es metilo, terc-butilo, cloro, flúor, bromo, trifluorometilo, hidroxilo, metoxi, etoxi, trifluorometoxi, fenoxi, metoxicarbonilo, morfolino, o dimetilamino,

30 R2 es hidrógeno, 1-4C-alquilo, 1-4C-alcoxi, fenil-1-4C-alcoxi, fenoxi, halógeno, fenilo, fenilo sustituido con R21, 1-4C-alcoxi total o predominantemente sustituido con flúor, 1-4C-alquiltio, ciano-1-4C-alquilo, o -N(R22)R23, en donde

R21 es 1-4C-alcoxi,

R22 y R23, juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en el cual

Het1 es pirrolidin-1-ilo, piperidin-1-ilo, morfolin-4-ilo, tiomorfolin-4-ilo, o 4N-(1-4C-alquil)-piperazin-1-ilo,

R3 es hidrógeno o 1-4C-alcoxi,

y las sales de estos compuestos.

3. Compuestos de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual

R1 es -U-A, en donde

5 U es un enlace directo, o metileno (-CH<sub>2</sub>-),

A es fenilo, 4-metoxi-fenilo, 2-metoxi-fenilo, 2-hidroxi-fenilo, 2-bromo-fenilo, 4-bromo-fenilo, 2-fluoro-fenilo, 2-(trifluorometil)-fenilo, 2-metil-fenilo, 3-metoxi-fenilo, 3-bromo-fenilo, 3-fluoro-fenilo, 2-dimetilamino-fenilo, metoxicarbonilo, fenoxi, o 3-(trifluorometil)-fenilo,

10 R2 es hidrógeno, 1-4C-alquilo, 1-4C-alcoxi, fenil-1-4C-alcoxi, fenoxi, halógeno, fenilo, fenilo sustituido con R21, 1-4C-alcoxi total o predominantemente sustituido con flúor, 1-4C-alquiltio, ciano-1-4C-alquilo, o -N(R22)R23, en donde

R21 es 1-4C-alcoxi,

R22 y R23, juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos ambos, forman un anillo heterocíclico Het1, en donde

Het 1 es morfolin-4-ilo, o 4N-(1-4C-alquil)piperazin-1-ilo,

15 R3 es hidrógeno o 1-4C-alcoxi,

y las sales de estos compuestos.

4. Compuestos de fórmula I de acuerdo con la reivindicación 1, en la cual

R1 es 4-metoxi-fenilo, 2-metoxi-fenilo, 3-metoxi-fenilo, 2-bromo-fenilo, 3-bromo-fenilo, 4-bromo-fenilo, 2-fluoro-fenilo, 3-fluoro-fenilo, 2-(trifluorometil)-fenilo, o 3-(trifluorometil)-fenilo;

20 R2 es hidrógeno, metilo, metoxi, etoxi, benciloxi, cloro, fenoxi, fenilo, 4-metoxifenilo, trifluorometoxi, difluorometoxi, metiltio, cianometilo, o -N(R22)R23, en el cual

R22 y R23, juntos y con inclusión del átomo de nitrógeno al cual están unidos, forman un anillo heterocíclico Het1, en el cual

Het1 es morfolin-4-ilo, o 4N-metil-piperazin-1-ilo,

25 R3 es hidrógeno, metoxi o etoxi,

y las sales de estos compuestos.

5. Compuestos de fórmula I, seleccionados de: (4-metoxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, (3,4-dimetoxi-fenil)-[3-(4-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, [3-(4-metoxi-fenil)-[1,2,4]-triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-fenil-amina, (3-benciloxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]-triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, (4-clorofenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, (4'-metoxibifenil-4-il)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]-triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, (3-metoxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, [3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-[4-fenoxifenil]-amina, [3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-[3-fenoxifenil]-amina, (4-benciloxi-fenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, [3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-p-tolil-amina, (4-etoxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, [3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-[4-morfolin-4-il-fenil]-amina, [3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-[4-trifluorometoxifenil]-amina, {4-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il-amino]-fenil}-acetonitrilo, [3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-[4-metilsulfanilfenil]-amina, (4-morfolin-4-il-fenil)-[3-(4-fenoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, [3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-[4-(4-metil-piperazin-1-il)-fenil]-amina, éster metílico del ácido 3-[6-(4-morfolin-4-il-fenilamino)-[1,2,4]-triazolo[3,4-a]ftalazin-3-il]-benzoico, (4-morfolin-4-il-fenil)-[3-(4-morfolin-4-il-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, [3-(4-metoxi-bencil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-[4-morfolin-4-il-fenil]-amina, éster metílico del ácido 4-[6-(4-morfolin-4-il-fenilamino)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-3-il]-benzoico, (3-etoxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, [3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-[3-trifluorometoxifenil]-amina, 1217EPPCT01 2011-12-13 reivindicaciones corregidas – versión depurada (4-morfolin-4-ilfenil)-(3-fenil-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il)-amina, 2-[6-(4-morfolin-4-il-fenilamino)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-3-il]-fenol, (3,5-dimetoxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]-triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, [3-(1,1-difluorometoxi)-fenil]-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]-triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, (3,4-dietoxifenil)-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, [4-(1,1-difluorometoxi)-fenil]-[3-(4-metoxifenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, (4-bromo-fenil)-[3-(4-metoxi-fenil)-[1,2,4]triazolo[3,4-a]ftalazin-6-il]-amina, y las sales de estos compuestos.

6. Un compuesto de fórmula I de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para uso en el tratamiento de enfermedades.
7. Una composición farmacéutica que comprende uno o más compuestos de fórmula I de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 junto con excipientes y/o adyuvantes farmacéuticos habituales.
- 5 8. Uso de compuestos de fórmula I de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para la producción de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de enfermedades asociadas con actividad de PDE2, enfermedades que comprenden afecciones de actividad endotelial patológicamente incrementada y función de barrera endotelial deteriorada.
- 10 9. Uso de compuestos de fórmula I de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para la producción de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de (1) afecciones asociadas con neoangiogénesis patológicamente incrementada o (2) toda clase de enfermedades inflamatorias asociadas con neoangiogénesis.
10. Uso de acuerdo con la reivindicación 8, en el cual las afecciones de actividad endotelial patológicamente incrementada y función de barrera endotelial deteriorada se seleccionan de choque séptico y edema vascular.
- 15 11. Uso de acuerdo con la reivindicación 9, en el cual la enfermedad inflamatoria asociada con neoangiogénesis es un trastorno de tipo artrítico.
12. Uso de compuestos de fórmula I de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para la producción de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de neumonía o síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS) en el choque séptico.
- 20 13. Uso de compuestos de fórmula I de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para la producción de composiciones farmacéuticas para el tratamiento de trastornos agudos y crónicos de las vías aéreas.
14. Uso de acuerdo con la reivindicación 13, en el cual los trastornos agudos y crónicos de las vías aéreas se seleccionan de rinitis, bronquitis, asma bronquial, enfisema y COPD.