

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 424 023**

51 Int. Cl.:

C07D 401/04 (2006.01)

A61K 31/4196 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **15.10.2008 E 08839205 (5)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.06.2013 EP 2212309**

54 Título: **1,2,4-triazoles trisustituidos**

30 Prioridad:

18.10.2007 EP 07118825

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

26.09.2013

73 Titular/es:

**JANSSEN PHARMACEUTICA N.V. (100.0%)
TURNHOUTSEWEG 30
2340 BEERSE, BE**

72 Inventor/es:

**THURING, JOHANNES WILHELMUS JOHN F.;
DINKLO, THEODORUS;
LESAGE, ANNE SIMONE JOSEPHINE;
DE BRUYN, MARCEL FRANS LEOPOLD y
ZHUANG, WEI**

74 Agente/Representante:

PÉREZ BARQUÍN, Eliana

ES 2 424 023 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

1,2,4-triazoles trisustituídos

5 La presente invención se refiere a derivados de 1-alkil-3-anilino-5-aryl-triazol sustituidos y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos, a procedimientos para prepararlos, a composiciones farmacéuticas que los contienen y a su uso en terapia. La invención se refiere a moduladores alostéricos positivos potentes, selectivos, de receptores de acetilcolina nicotínicos $\alpha 7$ que tienen la capacidad de aumentar la eficacia de agonistas de receptores nicotínicos.

10 **Técnica anterior antecedente**

El documento EP 1044970 describe 3-alkilamino-1,2,4-triazoles como ligandos de receptor neuropeptídico Y.

15 El artículo de Makara G.M., *et al.* (Organic Letters (2002) vol. 4 (10); 1751-1754) describe la síntesis en fase sólida de 3-alkilamino-1,2,4-triazoles y muestra a modo de ejemplo la síntesis infructuosa de N-(4-metoxifenil)-1-metil-5-(4-metilfenil)-1H-1,2,4-triazol-3-amina y no menciona nada acerca de las posibles aplicaciones terapéuticas de este compuesto, en particular acerca de su uso como modulador alostérico positivo del receptor de acetilcolina nicotínico $\alpha 7$.

20 Chen Chen *et al.*, en Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 11 (2001) 3165-3168 describen la síntesis de 1-alkil-3-amino-5-aryl-1H-[1,2,4]triazoles, en particular N-(2-metoxifenil)-1-metil-5-(2,4-diclorofenil)-1H-1,2,4-triazol-3-amina, y sus usos como antagonistas de factor liberador de corticotropina 1 (CRF1).

25 El documento WO-2007/031440 da a conocer compuestos de triazol sustituido con 2-anilino-4-aryl útiles como moduladores positivos de receptores de acetilcolina nicotínicos.

Antecedentes de la invención

30 Los receptores colinérgicos se unen normalmente al neurotransmisor endógeno acetilcolina (ACh), desencadenando de ese modo la apertura de canales iónicos. Los receptores de ACh en el sistema nervioso central de mamíferos pueden dividirse en subtipos muscarínico (mAChR) y nicotínico (nAChR) basándose en las actividades agonistas de muscarina y nicotina, respectivamente. Los receptores de acetilcolina nicotínicos son canales iónicos regulados por ligandos que contienen cinco subunidades. Los miembros de la familia génica de subunidades de nAChR se han dividido en dos grupos basándose en sus secuencias de aminoácidos; un grupo que contiene las denominadas subunidades β y un segundo grupo que contiene subunidades α . Se ha mostrado que tres tipos de subunidades α , $\alpha 7$, $\alpha 8$ y $\alpha 9$, forman receptores funcionales cuando se expresan solos y por tanto se supone que forman receptores pentaméricos homooligoméricos.

40 Se ha desarrollado un modelo de estado de transición alostérico del nAChR que implica al menos un estado de reposo, un estado activado y un estado de canal cerrado "desensibilizado", un procedimiento mediante el cual los receptores se vuelven insensibles al agonista. Diferentes ligandos de nAChR pueden estabilizar el estado conformacional de un receptor al que se unen preferentemente. Por ejemplo, los agonistas ACh y (-)-nicotina estabilizan respectivamente los estados activo y desensibilizado.

45 Se han implicado cambios de la actividad de receptores nicotínicos en varias enfermedades. Algunas de estas, por ejemplo miastenia grave y epilepsia del lóbulo frontal nocturna autosómica dominante (ADNFLE), están asociadas con reducciones en la actividad de la transmisión nicotínica o bien debido a una disminución en el número de receptores o bien al aumento de desensibilización.

50 También se ha planteado como hipótesis que reducciones en receptores nicotínicos median los déficits cognitivos observados en enfermedades tales como enfermedad de Alzheimer y esquizofrenia.

55 Los efectos de la nicotina del tabaco también están mediados por receptores nicotínicos y puesto que el efecto de la nicotina es el de estabilizar los receptores en un estado desensibilizado, un aumento de la actividad de receptores nicotínicos puede reducir el deseo de fumar.

60 Se han sugerido compuestos que se unen a los nAChR para el tratamiento de una gama de trastornos que implican la reducción de la función colinérgica tales como déficit de aprendizaje, déficit cognitivo, déficit de atención o pérdida de la memoria. Se espera que la modulación de la actividad de receptor nicotínico $\alpha 7$ sea beneficiosa en varias enfermedades incluyendo enfermedad de Alzheimer, demencia con cuerpos de Lewy, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, ansiedad, esquizofrenia, manía, depresión maniaca, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, síndrome de Tourette, traumatismo cerebral u otros trastornos neurológicos, degenerativos o psiquiátricos en los que hay pérdida de sinapsis colinérgicas, incluyendo desfase horario, tabaquismo, dolor.

65 Sin embargo, el tratamiento con agonistas de receptores nicotínicos que actúan en el mismo sitio que ACh es

problemático porque el ACh no sólo activa, sino que también bloquea la actividad de receptores a través de procesos que incluyen desensibilización y bloqueo no competitivo. Además, una activación prolongada parece inducir una inactivación de larga duración. Por tanto, puede esperarse que agonistas de ACh reduzcan la actividad así como que la potencien.

5 En receptores nicotínicos en general, y particularmente en el receptor nicotínico $\alpha 7$, la desensibilización limita la duración de la acción de un agonista aplicado.

Descripción de la invención

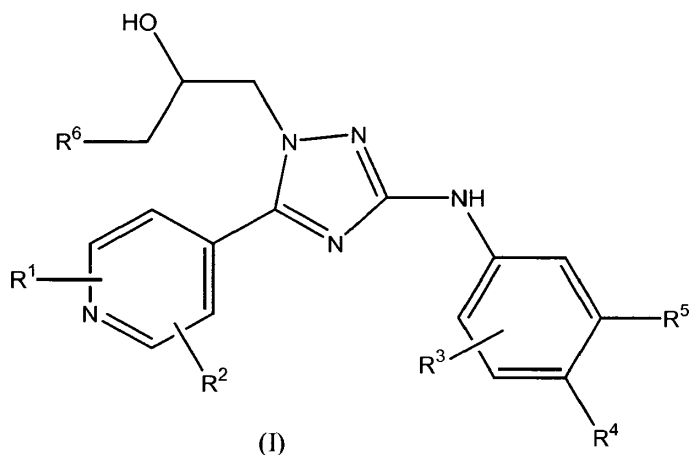
10 Se ha encontrado sorprendentemente que determinados compuestos novedosos pueden aumentar la eficacia de agonistas en receptores de acetilcolina nicotínicos. Los compuestos que tienen este tipo de acción se denominan "moduladores alostéricos positivos" y probablemente son útiles para el tratamiento de estados asociados con reducciones en la transmisión nicotínica. En un entorno terapéutico tales compuestos pueden restablecer la comunicación interneuronal normal sin afectar al perfil temporal de activación. Además, no se espera que moduladores alostéricos positivos produzcan una inactivación a largo plazo de receptores tal como puede producirse tras una aplicación repetida o prolongada de agonistas.

20 Los moduladores de nAChR positivos de la presente invención son útiles para el tratamiento o la profilaxis de trastornos psicóticos, enfermedades o trastornos de deficiencia intelectual, o estados o enfermedades inflamatorias en las que la modulación del receptor nicotínico $\alpha 7$ es beneficiosa.

25 La presente invención se refiere a derivados de 1-alkil-3-anilino-5-aryl-triazol sustituidos que tienen propiedades de moduladores alostéricos positivos, que aumentan la eficacia de agonistas en el receptor nicotínico $\alpha 7$. La invención se refiere además a métodos para su preparación y a composiciones farmacéuticas que los comprenden. La invención también se refiere a compuestos según la fórmula (I) para su uso en el tratamiento o la prevención de trastornos psicóticos, enfermedades o trastornos de deficiencia intelectual, estados o enfermedades inflamatorias en las que la modulación del receptor nicotínico $\alpha 7$ es beneficiosa. La invención también se refiere al uso de estos derivados para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de trastornos psicóticos, enfermedades o trastornos de deficiencia intelectual, estados o enfermedades inflamatorias en las que la modulación del receptor nicotínico $\alpha 7$ es beneficiosa.

30 Los compuestos de la presente invención difieren estructuralmente de los compuestos de la técnica anterior y farmacológicamente en su actividad como moduladores alostéricos positivos del receptor de acetilcolina nicotínico $\alpha 7$. La configuración absoluta en el átomo de carbono quiral tiene un efecto sutil sobre la respuesta electrofisiológica del receptor de acetilcolina nicotínico $\alpha 7$.

La presente invención se refiere a un compuesto según la fórmula (I)



40 o una forma estereoisomérica del mismo, en la que:

45 R^1 es metilo, etilamino o metoxietilamino;

R^2 es hidrógeno o metilo;

R^3 es fluoro, cloro, trifluorometilo o metilo;

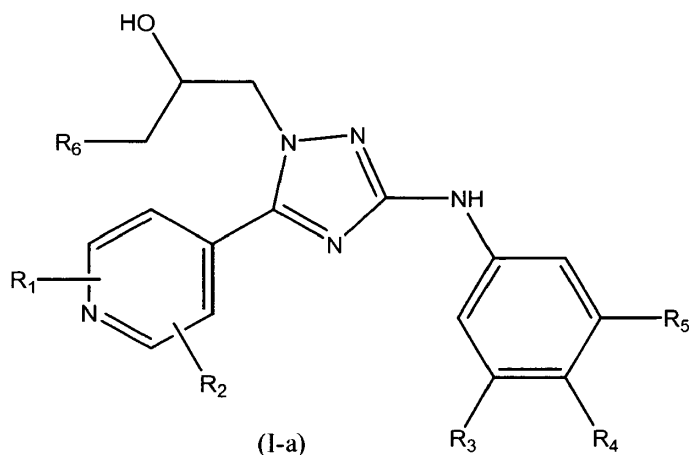
50 R^4 es hidrógeno o fluoro;

R⁵ es hidrógeno, fluoro, cloro o metoxilo;

R⁶ es alquilo C₁₋₃;

5 o una sal o un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una primera realización la presente invención se refiere a un compuesto según la fórmula (I-a)



o una forma estereoisomérica del mismo, en la que:

R¹ es metilo, etilamino o metoxietilamino;

15 R² es hidrógeno o metilo;

R³ es fluoro, cloro, trifluorometilo o metilo;

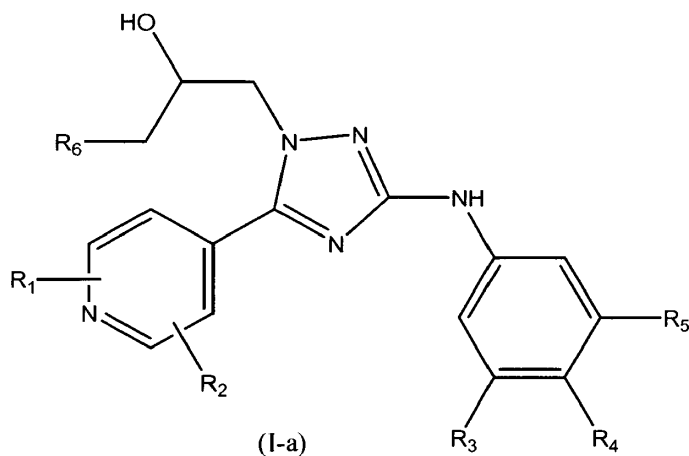
20 R⁴ es hidrógeno o fluoro;

R⁵ es hidrógeno, fluoro, cloro o metoxilo;

25 R⁶ es alquilo C₁₋₃;

o una sal o un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una segunda realización la presente invención se refiere a un compuesto según la fórmula (I-a)



o una forma estereoisomérica del mismo, en la que:

R¹ es metilo, etilamino o metoxietilamino;

35

R² es hidrógeno o metilo;

R³ es fluoro, cloro, trifluorometilo o metilo;

5 R⁴ es hidrógeno o fluoro;

R⁵ es hidrógeno, fluoro o metoxilo;

R⁶ es alquilo C₁₋₃;

10 o una sal o un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una tercera realización la presente invención se refiere a un compuesto según la fórmula (I) o una forma estereoisomérica del mismo, en el que:

15 R¹ es 2-metilo, 2-etilamino o 2-metoxietilamino;

R² es hidrógeno o 6-metilo;

20 R³ es fluoro, cloro, trifluorometilo o metilo;

R⁴ es hidrógeno o fluoro;

R⁵ es hidrógeno, fluoro, cloro o metoxilo;

25 R⁶ es alquilo C₁₋₃;

o una sal o un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

30 En una cuarta realización la presente invención se refiere a un compuesto según la fórmula (I) o una forma estereoisomérica del mismo, en el que:

R¹ es 2-metilo, 2-etilamino o 2-metoxietilamino;

35 R² es hidrógeno o 6-metilo;

R³ es fluoro, cloro, trifluorometilo o metilo;

R⁴ es hidrógeno o fluoro;

40 R⁵ es hidrógeno, fluoro, cloro o metoxilo;

R⁶ es metilo;

45 o una sal o un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

En una quinta realización, la presente invención se refiere a un compuesto según la fórmula (I) que tiene la configuración R absoluta.

50 En una sexta realización, la presente invención se refiere a un compuesto según la fórmula (I) que tiene la configuración S absoluta.

En una séptima realización, la presente invención se refiere a un compuesto según la fórmula (I) que tiene la sustitución R³ en la posición orto del anillo de fenilo.

55 En una octava realización, la presente invención se refiere a un compuesto según cualquiera de las realizaciones anteriores, en el que:

R⁵ es hidrógeno, fluoro o metoxilo.

60 En una novena realización el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que comprende:

(S)-1-[3-(3,4-difluoro-fenilamino)-5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

65 (R)-1-[3-(3-cloro-fenilamino)-5-(2-etilamino-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

(S)-1-[5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-3-(3-metoxi-5-trifluorometil-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,
sal de HCl de (S)-1-[3-(3-fluoro-5-metoxi-fenilamino)-5-(2-metil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

5 (S)-1-[3-(3-fluoro-5-metoxi-fenilamino)-5-(2-metil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,
sal de HCl de (S)-1-[5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-3-(3-fluoro-5-metoxi-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

10 (S)-1-[5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-3-(3-fluoro-5-metoxi-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,
(S)-1-[3-(4-fluoro-3-metil-fenilamino)-5-(2-metil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica de los mismos,

15 y las sales de adición y los solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

En una décima realización el compuesto de fórmula (I) se selecciona del grupo que comprende:

20 (S)-1-[5-(2-metil-piridin-4-il)-3-(2,3,4-trifluoro-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

(S)-1-[5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-3-(2,3,4-trifluoro-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

sal de HCl de (S)-1-[5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-3-(2,3,4-trifluoro-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

25 (S)-1-[3-(3-cloro-2-fluoro-fenilamino)-5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

sal de HCl de (S)-1-[3-(3-cloro-2-fluoro-fenilamino)-5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol HCl sal,

30 incluyendo cualquier forma estereoquímicamente isomérica de los mismos,

y las sales de adición y los solvatos farmacéuticamente aceptables de los mismos.

35 En una realización adicional, la presente invención se refiere preferiblemente a (S)-1-[3-(3,4-difluoro-fenilamino)-5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol, o (R)-1-[3-(3-cloro-fenilamino)-5-(2-etilamino-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol.

Los compuestos según la fórmula (I) y sus sales de adición, hidratos y solvatos, contienen uno o más centros de quiralidad y existen como formas estereoquímicamente isoméricas.

40 El término "formas estereoquímicamente isoméricas" tal como se usó anteriormente en el presente documento o a continuación en el presente documento, define todas las posibles formas estereoisoméricas que pueden presentar los compuestos según la fórmula (I) y sus sales de adición. A menos que se mencione o se indique lo contrario, la denominación química de los compuestos indica la mezcla de todas las posibles formas estereoquímicamente isoméricas, conteniendo dichas mezclas todos los diastereómeros y enantiómeros de la estructura molecular básica
45 así como cada una de las formas isoméricas individuales según la fórmula (I) y sus sales, solvatos, sustancialmente libres, es decir asociados con menos del 10%, preferiblemente menos del 5%, en particular menos del 2% y lo más preferiblemente menos del 1% de los otros isómeros. Obviamente se pretende que las formas estereoquímicamente isoméricas de los compuestos según la fórmula (I) queden abarcadas dentro del alcance de esta invención.

50 Para uso terapéutico, sales de los compuestos según la fórmula (I) son aquellas en las que el contraión es farmacéuticamente aceptable. Sin embargo, también pueden encontrar uso sales de ácidos y bases que no son farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, en la preparación o purificación de un compuesto farmacéuticamente aceptable. Todas las sales, ya sean farmacéuticamente aceptables o no están incluidas dentro del ámbito de la presente invención.

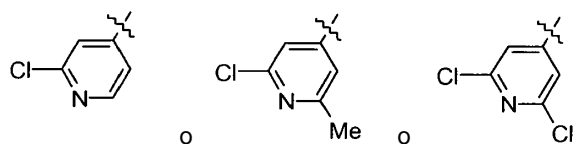
55 Las sales de adición de ácido y base farmacéuticamente aceptables tal como se mencionó anteriormente en el presente documento o a continuación en el presente documento pretenden comprender las formas de sal de adición de ácido y base no tóxicas terapéuticamente activas que pueden formar los compuestos según la fórmula (I). Las sales de adición de ácido farmacéuticamente aceptables pueden obtenerse convenientemente tratando la forma de base con tal ácido apropiado. Los ácidos apropiados comprenden, por ejemplo, ácidos inorgánicos tales como ácidos hidrácidos, por ejemplo ácido clorhídrico o bromhídrico, ácidos sulfúrico, nítrico, fosfórico y similares; o ácidos orgánicos tales como, por ejemplo, ácidos acético, propanoico, hidroxiacético, láctico, pirúvico, oxálico (es decir etanodioico), malónico, succínico (es decir ácido butanodioico), maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, p-aminosalicílico,
60 pamoico y similares. A la inversa, dichas formas de sales pueden convertirse mediante tratamiento con una base apropiada en la forma de base libre.

El término solvatos se refiere a hidratos y alcoholatos que pueden formar los compuestos según la fórmula (I) así como las sales de los mismos.

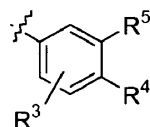
5 Algunos de los compuestos según la fórmula (I) también pueden existir en su forma tautomérica. Aunque tales formas no se indiquen explícitamente en la fórmula anterior, se pretende que se incluyan dentro del alcance de la presente invención.

Preparación de los compuestos

10 Un compuesto según la invención puede prepararse generalmente mediante una sucesión de etapas, cada una de las cuales conoce el experto. En particular, los compuestos en esta solicitud de patente pueden prepararse según uno o más de los siguientes métodos de preparación. En los siguientes esquemas, y a menos que se indique lo contrario, todas las variables se usan tal como se define en la fórmula (I). L' representa un radical de fórmula



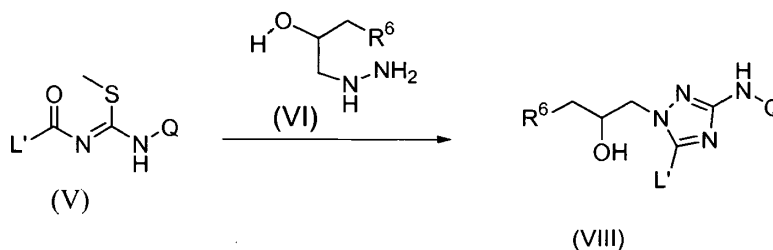
y Q representa



en el que R³, R⁴ y R⁵ son tal como se definieron anteriormente en el presente documento.

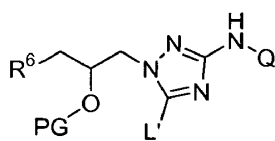
Los compuestos de esta invención pueden prepararse mediante cualesquiera de varios procedimientos sintéticos convencionales usados comúnmente por los expertos en la técnica de química orgánica.

Esquema 1

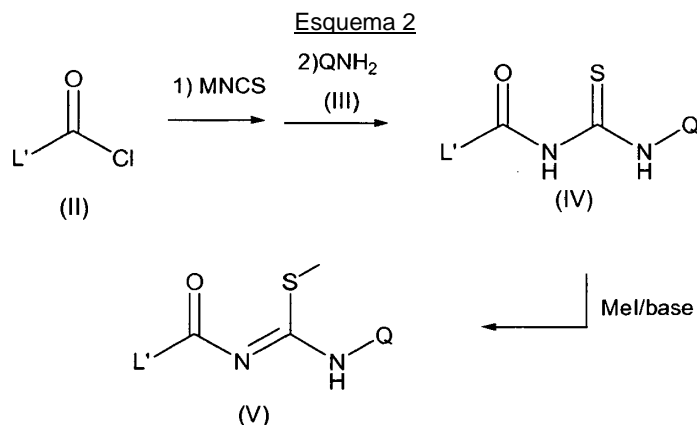


30 Productos intermedios cruciales según la fórmula (VIII), pueden prepararse generalmente según el esquema 1 transformando un derivado de éster metílico del ácido N-acil-carbomimidotioico de fórmula general (V) en los 1,2,4-triazoles de fórmula (VIII) usando una hidrazina (VI) apropiada en condiciones conocidas en la técnica. Esta transformación se lleva a cabo normalmente en un disolvente prótico, tal como metanol o un alcohol superior tal como, por ejemplo, 2-metil-2-propanol (t-BuOH) y requiere una temperatura de entre temperatura ambiente y 150°C. En una realización particular el alcohol superior es alcohol butílico terciario y la temperatura de reacción está entre 35 70° y 120°C, lo más preferiblemente 100°C. Para las reacciones en las que se usa hidrazina (VI) como sal de HCl, se prefiere la adición de una cantidad estequiométrica de una base. Dicha base puede ser una base inorgánica, tal como acetato de potasio o carbonato de potasio, sin embargo, más preferiblemente, dicha base es una amina terciaria, tal como diisopropiletilamina o similar (esquema 1). Todas las variables en el esquema 1 son tal como se definieron anteriormente.

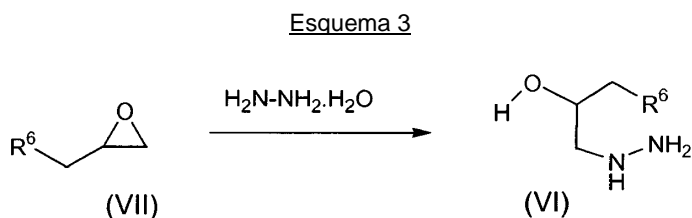
40 Opcionalmente, el grupo hidroxilo libre en los productos intermedios de fórmula (VIII) puede protegerse mediante un grupo protector (PG) típico, denominado en el presente documento (VIII-1), tal como, por ejemplo, un grupo acetilo. Este tipo de reacción puede llevarse a cabo en presencia de acetato de etilo. Normalmente se añade un catalizador tal como, por ejemplo, N,N-dimetil-4-piridinamina (DMAP). La reacción puede llevarse a cabo a una temperatura 45 elevada tal como, por ejemplo, a temperatura de reflujo.



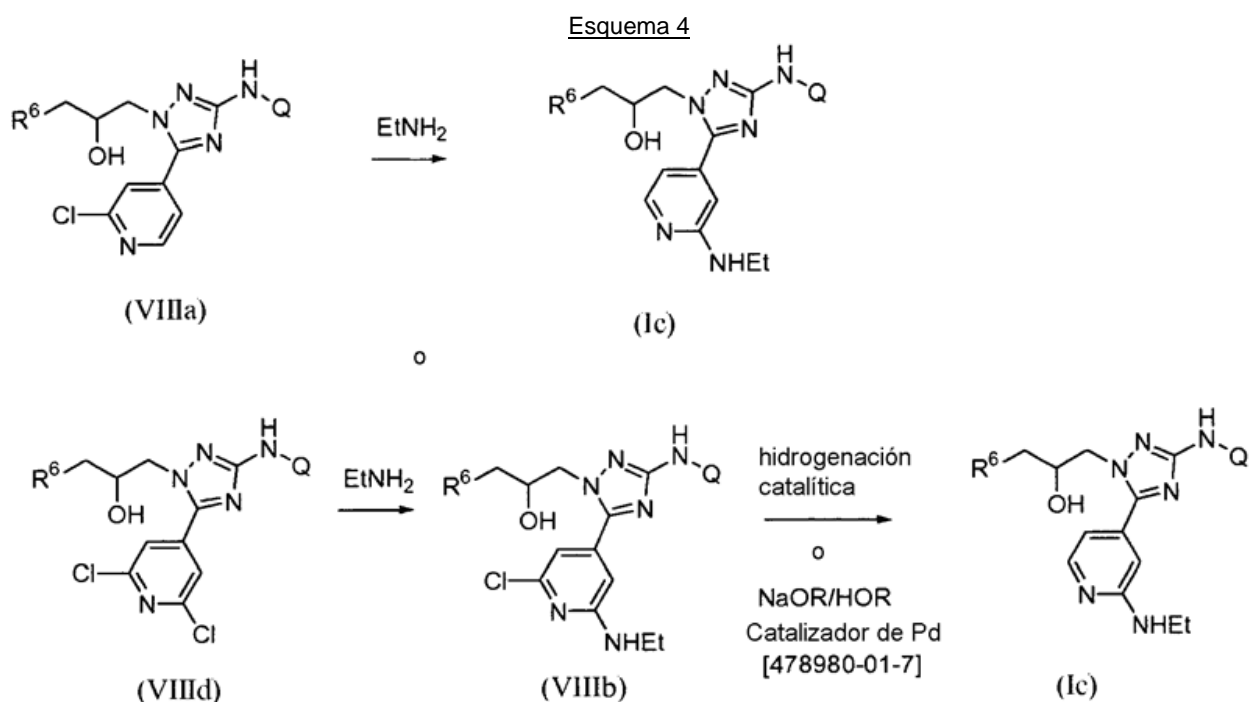
(VIII-1)



- 5 El producto intermedio (V) común en la síntesis de los triazoles trisustituidos de la presente invención se prepara normalmente mediante un protocolo que consiste en 3 transformaciones sintéticas (esquema 2), comenzado a partir de un cloruro de acilo de fórmula general (II).
- 10 En una primera etapa se hace reaccionar un agente acilante, tal como un cloruro de acilo (II), un anhídrido simétrico o mixto, un fluoruro de acilo o similares; con un tiocianato de catión monovalente (M⁺) (MNCS en el esquema 2), tal como por ejemplo tiocianato de potasio o tiocianato de amonio para producir el isotiocianato de acilo correspondiente. Esta reacción se lleva a cabo habitualmente usando acetona como disolvente y a una temperatura de entre 0°C y 70°C, preferiblemente a temperatura ambiente.
- 15 El producto intermedio isotiocianato de acilo no se aísla sino que se trata en el mismo medio de reacción con una anilina (III) apropiada para producir la N-aciltiourea de fórmula general (IV). Esta transformación se lleva a cabo habitualmente a una temperatura de entre 0°C y 70°C, preferiblemente a temperatura ambiente.
- 20 En una etapa final, la S-metilación de la N-aciltiourea (IV) proporciona el derivado de éster metílico del ácido N-acilcarbomimidotioico de fórmula general (V). Esta transformación final requiere la presencia de una base, preferiblemente una base inorgánica fuerte, tal como NaH o carbonato de potasio, y se lleva a cabo en un disolvente aprótico tal como por ejemplo DMF, THF (tetrahidrofurano) o similares, a una temperatura que oscila entre -70°C y temperatura ambiente, preferiblemente 0°C (esquema 2).
- 25

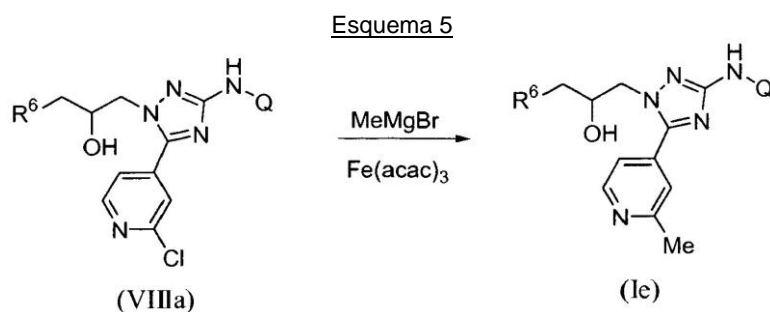


- 30 Los alcoholes de hidrazina de fórmula general VI pueden prepararse a partir de un oxirano monosustituido de fórmula general (VII) calentando en un exceso de hidrato de hidrazina (esquema 3). Preferiblemente la temperatura de reacción es de 40 - 70°C y el tiempo de reacción de 2 horas. Si está disponible el oxirano (VII) en una forma ópticamente pura, se obtiene el alcohol de hidrazina (VI) resultante con la pureza e identidad estereoquímica correspondiente, tal como por ejemplo cuando R⁶ = metilo. En otros ejemplos en la presente invención, dicho oxirano (VII) está disponible como una mezcla racémica, y por tanto se obtienen los productos intermedios y los productos
- 35 finales correspondientes como mezclas racémicas. En un caso de ese tipo, los productos finales pueden obtenerse en forma enantioméricamente pura mediante la separación de la mezcla racémica usando cromatografía quiral. En una realización particular dicha cromatografía quiral se lleva a cabo con CO₂ supercrítico como fase móvil.



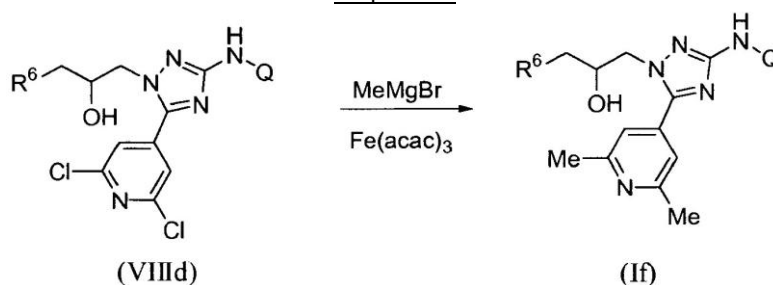
5 El 2-etilamino-pirido-triazol de fórmula general (Ic) puede obtenerse mediante tratamiento del precursor de cloropiridilo (VIIIa) correspondiente con etilamina en un disolvente alcohólico, tal como metanol o 1-butanol o similar, opcionalmente en presencia de un codisolvente tal como THF o similar, y calentamiento a altas temperaturas, preferiblemente en un intervalo de entre 140°C y 160°C en un horno de microondas, o a 160°C-180°C en un autoclave (esquema 4). Dicha transformación puede efectuarse en condiciones más suaves (temperatura inferior, tal como entre 100°C y 130°C) comenzado a partir del compuesto de dicloropiridilo (VIIId) para proporcionar el producto intermedio de fórmula general (VIIIb). El átomo de cloro que queda en (VIIIb) puede eliminarse catalíticamente, bajo una atmósfera de hidrógeno y usando Pd/C como catalizador, en presencia de una base inorgánica, tal como acetato de potasio, o una base de amina, tal como trietilamina, o similares (esquema 4). Alternativamente, cuando el sustituyente Q contiene funcionalidades que no son compatibles con las condiciones de hidrogenación catalítica, el compuesto objetivo de fórmula general (Ic) puede obtenerse a partir de la cloropiridina de fórmula general (VIIIb), mediante tratamiento con un catalizador carbonóide, tal como el catalizador de Pd [1,3-bis[2,6-bis(1-metiletil)fenil]-2-imidazolidinilideno]cloro(η³-2-propenil)-paladio (CAS [478980-01-7]), en presencia de una base fuerte, tal como metóxido de sodio en un disolvente prótico, tal como metanol o 2-propanol o similares. Dicha reacción puede llevarse a cabo a una temperatura elevada, tal como 100-120°C en un horno de microondas (esquema 4).

20



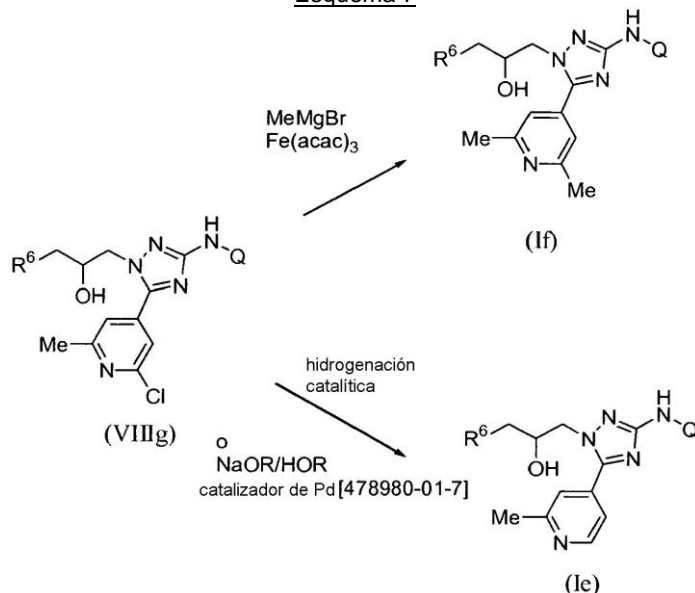
25 Un pirido-triazol sustituido con monometilo de fórmula general (Ic), puede prepararse mediante el tratamiento del precursor de 2-cloropiridilo (VIIIa) con un reactivo de Grignard MeMgBr en exceso (3-15 equiv.) en presencia de una cantidad catalítica de acetilacetonato de hierro (III) en un disolvente orgánico o un sistema de disolventes que consiste en diferentes disolventes tales como, por ejemplo, una mezcla de THF/NMP. Mezclas de THF/NMP (1-metil-2-pirrolidinona) típicas consisten en del 75% al 99% de THF y del 1% al 25% de NMP en volumen. Dicha transformación puede llevarse a cabo en un intervalo de temperatura de entre 0°C y 50°C, lo más preferiblemente entre 0°C y 25°C (esquema 5).

Esquema 6



Un pirido-triazol sustituido con dimetilo de fórmula general (If), puede prepararse mediante el tratamiento del precursor de 2,6-dicloro-piridilo (VIIIId) con un reactivo de Grignard MeMgBr en exceso (10-15 equiv.) en presencia de una cantidad catalítica de acetilacetato de hierro (III) en un disolvente orgánico o un sistema de disolventes que consiste en diferentes disolventes tales como, por ejemplo, una mezcla de THF/NMP (1-metil-2-pirrolidinona) típicas consisten en del 75% al 99% de THF y del 1% al 25% de NMP en volumen. Dicha transformación puede llevarse a cabo en un intervalo de temperatura de entre 0°C y 50°C, lo más preferiblemente entre 0°C y 25°C (esquema 6).

Esquema 7



Alternativamente, el pirido-triazol sustituido con monometilo de fórmula general (Ic) y el pirido-triazol sustituido con dimetilo de fórmula general (If) pueden obtenerse mediante un producto intermedio (VIIIg) común (esquema 7). La reacción con un reactivo de Grignard de metilo, MeMgBr, catalizada mediante acetilacetato de hierro (III), usando condiciones tal como se describieron anteriormente, conduce al compuesto final (If) (esquema 7). Tras la hidrogenación catalítica del producto intermedio (VIIIg) usando condiciones conocidas en la técnica tal como se describieron anteriormente, se forma el compuesto final (Ic). Alternativamente, cuando el sustituyente Q contiene funcionalidades que no son compatibles con condiciones de hidrogenación catalítica, el compuesto objetivo de fórmula general (Ic) puede obtenerse a partir de la cloropiridina de fórmula general (VIIIg), mediante tratamiento con un catalizador carbonilo, tal como el catalizador de Pd [1,3-bis(2,6-bis(1-metiletil)fenil)-2-imidazolidinilideno]cloro(η³-2-propenil)-paladio (CAS [478980-01-7]), en presencia de una base fuerte, tal como metóxido de sodio en un disolvente prótico, tal como metanol o 2-propanol o similar. Dicha reacción puede llevarse a cabo a una temperatura elevada, tal como 100-120°C en un horno de microondas.

En el caso de que el producto intermedio (VIIIg) tenga un grupo hidroxilo protegido, tal como, por ejemplo, un acetato, puede obtenerse un compuesto de fórmula general (If) mediante reacción con un reactivo de Grignard de metilo, MeMgBr, catalizada mediante acetilacetato de hierro (III) en presencia de un disolvente orgánico o una mezcla de disolventes orgánicos tales como, por ejemplo, una mezcla de NMP y THF. Para facilitar la eliminación del grupo protector (tal como por ejemplo el grupo acetilo) puede añadirse opcionalmente una base tal como, por ejemplo, NaOH, a la mezcla de reacción.

Farmacología

Se encontró que los compuestos de la presente invención son moduladores alostéricos positivos del receptor nicotínico $\alpha 7$. El receptor nicotínico $\alpha 7$ (nAChR $\alpha 7$) pertenece a la superfamilia de canales iónicos regulados por ligandos ionotrópicos de bucle Cys que incluye las familias de receptores de 5-HT₃, GABA_A y glicina. Se activa mediante acetilcolina y su producto de degradación colina y una característica principal del nAChR $\alpha 7$ es su rápida desensibilización en presencia persistente de agonista. Es el segundo subtipo de receptores nicotínicos más abundante en el cerebro y es un regulador importante de la liberación de muchos neurotransmisores. Tiene una distribución diferenciada en varias estructuras cerebrales con relevancia para procesos de atención y cognitivos, tales como la corteza prefrontal y el hipocampo, y se ha implicado en una variedad de trastornos psiquiátricos y neurológicos en seres humanos. También está implicado en la ruta inflamatoria colinérgica.

Se observan evidencias genéticas para su asociación con esquizofrenia en forma de una fuerte unión entre un marcador de esquizofrenia (déficit de regulación sensorial) y el locus $\alpha 7$ en 15q13-14 y polimorfismos en la región de promotor central del gen $\alpha 7$.

Las evidencias patológicas apuntan a una pérdida de inmunoreactividad de $\alpha 7$ y unión a α -Btx en la corteza del cuerpo calloso, frontal e hipocampo de cerebros esquizofrénicos, en enfermedad de Alzheimer y Parkinson y núcleo paraventricular y núcleo reuniens en autismo.

Las evidencias farmacológicas tales como los hábitos de fumar marcados de personas esquizofrénicas en comparación con normales se han interpretado como un intento por parte los pacientes de automedicarse para compensar un déficit en la transmisión nicotínica $\alpha 7$. Una normalización transitoria de los defectos en la regulación sensorial (inhibición prepulso PPI) tanto en modelos animales como en seres humanos tras la administración de nicotina y el restablecimiento temporal de la regulación sensorial normal en personas esquizofrénicas cuando hay baja actividad colinérgica del prosencéfalo (por ejemplo etapa 2 de sueño) se han interpretado ambos como que son el resultado de un activación transitoria del receptor nicotínico $\alpha 7$ seguida por desensibilización.

Por tanto hay un buen motivo para suponer que la activación del nAChR $\alpha 7$ tendrá efectos terapéuticamente beneficiosos para varios trastornos del SNC (psiquiátricos y neurológicos).

Tal como ya se mencionó el nAChR $\alpha 7$ se desensibiliza rápidamente en presencia persistente del transmisor natural acetilcolina así como ligandos exógenos tales como nicotina. En el estado desensibilizado el receptor permanece unido a ligando pero funcionalmente inactivo. Esto no es tanto un problema para transmisores naturales tales como acetilcolina y colina puesto que éstos son sustratos para mecanismos muy potentes de degradación (acetilcolinesterasa) y aclaramiento (transportador de colina). Es probable que estos mecanismos de degradación/aclaramiento de transmisores mantengan el equilibrio entre los nAChR $\alpha 7$ que pueden activarse y desensibilizados en un intervalo fisiológicamente útil. Sin embargo, se percibe que agonistas sintéticos, que no son sustratos para los mecanismos de degradación y aclaramiento naturales, tienen una posible desventaja tanto para la sobreestimulación como también para empujar el equilibrio de la población de nAChR $\alpha 7$ hacia un estado persistentemente desensibilizado, que no es deseable en trastornos en los que deficiencias en la función o expresión de AChR $\alpha 7$ desempeñan un papel. Los agonistas por su naturaleza deben seleccionar como diana la bolsa de unión de ACh que se conserva sumamente en los diferentes subtipos de receptores nicotínicos conduciendo a la posibilidad de reacciones adversas mediante la activación no específica de otros subtipos de receptores nicotínicos. Por tanto, para evitar estas posibles desventajas, una estrategia terapéutica alternativa para un agonismo de $\alpha 7$ es potenciar la receptividad de los receptores frente a los agonistas naturales con un modulador alostérico positivo (PAM). Un PAM se define como un agente que se une a un sitio distinto del sitio de unión a agonista, y por tanto no se espera que tenga propiedades de agonistas o de desensibilización, sino que potencia la receptividad del nAChR $\alpha 7$ al transmisor natural. El valor de esta estrategia es que para una cantidad dada de transmisor se aumenta la magnitud de respuesta a nAChR $\alpha 7$ en presencia del PAM con respecto al nivel de una posible transmisión en su ausencia. Por tanto, para trastornos en los que hay un déficit en proteína de nAChR $\alpha 7$ puede ser beneficioso el aumento inducido por PAM en una transmisión nicotínica $\alpha 7$. Ya que un PAM se basa en la presencia del transmisor natural, la posibilidad de sobreestimulación está limitada por los mecanismos de degradación/aclaramiento para el transmisor natural.

Los compuestos de la presente invención se clasifican como de tipo 1-4, basándose en propiedades cinéticas cualitativas, tal como se determina mediante registros de fijación de voltaje de célula completa. Esta clasificación se basa en el efecto de un compuesto PAM $\alpha 7$, tal como se describió anteriormente en el presente documento, sobre la señal provocada por una aplicación de agonista. En particular, dicho agonista es colina a una concentración de 1 mM. En una configuración experimental preferida, dicho compuesto PAM $\alpha 7$ y colina se aplican simultáneamente a la célula, tal como se describe a continuación en el presente documento. La desensibilización se define como el cierre del receptor tras la activación durante la aplicación del agonista en mediciones de electrofisiología de fijación de voltaje de célula completa visto como la reducción de la corriente de salida tras la activación inicial por el agonista.

La definición de los tipos 1-4 de PAM se describe a continuación en el presente documento:

Los compuestos de tipo 1 potencian el tamaño del efecto de la corriente provocada por colina 1 mM pero alteran mínimamente la cinética del receptor. En particular, no se afecta la tasa ni el grado de desensibilización provocada por el agonista. Por tanto, la respuesta modulada por el compuesto a colina 1 mM es una escala próxima a la lineal de la respuesta a colina 1 mM en ausencia del compuesto PAM $\alpha 7$.

Los compuestos de tipo 2 potencian el tamaño del efecto de la corriente provocada por colina 1 mM mientras reducen la tasa y/o el grado de desensibilización.

Los compuestos de tipo 3 potencian el tamaño del efecto de la corriente provocada por colina 1 mM. Cuando se someten a prueba a concentraciones superiores de hasta 10 μ M inhiben completamente la desensibilización, en particular una aplicación de colina 1 mM de 250 milisegundos.

Los compuestos de tipo 4 permiten una desensibilización inicial del receptor seguida por una reapertura del receptor durante la aplicación del agonista. A concentraciones de baja potencia del compuesto PAM $\alpha 7$, la activación inducida por agonista, que va seguida por desensibilización, todavía puede separarse de la reapertura inducida por compuesto como un máximo de corriente de entrada inicial. A concentraciones de potencia superior del compuesto PAM $\alpha 7$, la reapertura se produce más rápido que el cierre debido a desensibilización de modo que desaparece el máximo de corriente inicial.

Por consiguiente un objeto de la presente invención es proporcionar los compuestos de la presente invención para su uso en métodos de tratamiento que incluyen administrar o bien un modulador alostérico positivo como la única sustancia activa, modulando así la actividad de agonistas de receptores nicotínicos endógenos tales como acetilcolina o colina, o bien administrar un modulador alostérico positivo junto con un agonista de receptores nicotínicos. En una forma particular de este aspecto de la invención, el método de tratamiento comprende tratamiento con un modulador alostérico positivo del receptor nicotínico $\alpha 7$ tal como se describe en el presente documento y un agonista o agonista parcial de receptor nicotínico $\alpha 7$. Los ejemplos de compuestos adecuados con actividad agonística de receptor nicotínico $\alpha 7$ incluyen, pero no se limitan a:

- monoclóhidrato del éster 4-bromofenílico del ácido 1,4-diazabicyclo[3.2.2]nonan-4-carboxílico, (SSR180711A);
- (-)-espiro[1-azabicyclo[2.2.2]octan-3,5'-oxazolidin]-2'-ona;
- diclorhidrato de 3-[(2,4-dimetoxi)enciliden]-anabaseína (GTS-21);
- [clorhidrato de N-[(3R)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il]-4-clorobenzamida] PNU-282987).

Moduladores de nAChR positivos de la presente invención son útiles para el tratamiento o la profilaxis de trastornos psicóticos, enfermedades o trastornos de deficiencia intelectual o estados en los que la modulación de la actividad de receptor nicotínico $\alpha 7$ es beneficiosa. Un aspecto particular de la invención son los compuestos de la presente invención para su uso en un método de tratamiento para déficit de aprendizaje, déficit cognitivo, déficit de atención o pérdida de la memoria, se espera que una modulación de la actividad de receptor nicotínico $\alpha 7$ sea beneficiosa en varias enfermedades incluyendo enfermedad de Alzheimer, demencia con cuerpos de Lewy, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, ansiedad, esquizofrenia, manía, depresión maniaca, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, síndrome de Tourette, traumatismo cerebral u otros trastornos neurológicos, degenerativos o psiquiátricos en los que hay pérdida de sinapsis colinérgicas, incluyendo desfase horario, tabaquismo, dolor.

Los compuestos también pueden encontrar uso terapéutico como medicamentos antiinflamatorios porque la subunidad $\alpha 7$ de receptor de acetilcolina nicotínico es esencial para inhibir la síntesis de citocinas mediante la ruta inflamatoria colinérgica. Ejemplos de indicaciones que pueden tratarse por los compuestos son endotoxemia, choque endotóxico, septicemia, artritis reumatoide, asma, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria del intestino, enfermedad inflamatoria de la bilis, enfermedad de Crohn, pancreatitis, insuficiencia cardíaca y rechazo a aloinjerto.

En vista de las propiedades farmacológicas descritas anteriormente, pueden usarse como medicamento los compuestos según la fórmula (I) o cualquier subgrupo de los mismos, sus formas estereoquímicamente isoméricas y sales de adición farmacéuticamente aceptables.

En vista de las propiedades farmacológicas descritas anteriormente, pueden usarse los compuestos según la fórmula (I) o cualquier subgrupo de los mismos, sus formas estereoquímicamente isoméricas y sales de adición farmacéuticamente aceptables, en el tratamiento o la prevención de trastornos psicóticos, enfermedades o trastornos de deficiencia intelectual, estados o enfermedades inflamatorias en las que la modulación del receptor nicotínico $\alpha 7$ es beneficiosa.

En vista de las propiedades farmacológicas descritas anteriormente, los presentes compuestos pueden usarse para la fabricación de un medicamento para el tratamiento o la profilaxis de trastornos psicóticos, enfermedades o trastornos de deficiencia intelectual, estados o enfermedades inflamatorias en las que la modulación del receptor nicotínico $\alpha 7$ es beneficiosa.

5 En vista de la utilidad de los compuestos según la fórmula (I), se proporcionan para su uso en un método de tratamiento de animales de sangre caliente, incluyendo seres humanos, que padecen, o un método de prevención de animales de sangre caliente, incluyendo seres humanos, de padecer, enfermedades en las que la modulación del receptor nicotínico $\alpha 7$ es beneficiosa, tal como esquizofrenia, manía, y depresión maniaca, ansiedad, enfermedad de
10 Alzheimer, déficit de aprendizaje, déficit cognitivo, déficit de atención, pérdida de la memoria, demencia con cuerpos de Lewy, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, síndrome de Tourette, traumatismo cerebral, desfase horario, tabaquismo y dolor. Dichos métodos comprenden la administración, es decir la administración sistémica o tópica, preferiblemente administración oral, de una cantidad eficaz de un compuesto según la fórmula (I), incluyendo todas las formas estereoquímicamente isoméricas del mismo, una sal de adición, un solvato o un hidrato farmacéuticamente aceptable del mismo, a animales de sangre
15 caliente, incluyendo seres humanos.

Un experto en la técnica reconocerá que una cantidad terapéuticamente eficaz de los PAM de la presente invención es la cantidad suficiente para modular la actividad del receptor nicotínico $\alpha 7$ y que esta cantidad varía, entre otras
20 cosas, dependiendo del tipo de enfermedad, la concentración del compuesto en la formulación terapéutica, y el estado del paciente. Generalmente, una cantidad de PAM que va a administrarse como agente terapéutico para tratar enfermedades en las que la modulación del receptor nicotínico $\alpha 7$ es beneficiosa, tales como esquizofrenia, manía y depresión maniaca, ansiedad, enfermedad de Alzheimer, déficit de aprendizaje, déficit cognitivo, déficit de atención, pérdida de la memoria, demencia con cuerpos de Lewy, trastorno de hiperactividad con déficit de atención,
25 enfermedad de Parkinson, enfermedad de Huntington, síndrome de Tourette, traumatismo cerebral, desfase horario, tabaquismo y dolor se determinará caso por caso por un médico encargado.

Generalmente, una dosis adecuada es una que da como resultado una concentración del PAM en el sitio de tratamiento en el intervalo de 0,5 nM a 200 μ M, y más habitualmente de 5 nM a 50 μ M. Para obtener estas
30 concentraciones de tratamiento, a un paciente que necesita tratamiento se le administrarán posiblemente entre 0,005 mg/kg y 10 mg/kg de peso corporal, en particular desde 0,1 mg/kg hasta 0,50 mg/kg de peso corporal. La cantidad de un compuesto según la presente invención, también denominado en el presente documento principio activo, que se requiere para lograr un efecto terapéutico variará, evidentemente dependiendo de cada caso, con el compuesto particular, la vía de administración, la edad y el estado del receptor, y el trastorno o la enfermedad
35 particular que está tratándose. Un método de tratamiento también puede incluir administrar el principio activo en un régimen de entre una y cuatro ingestiones al día. En estos métodos de tratamiento los compuestos según la invención se formulan preferiblemente antes de su ingreso. Tal como se describe a continuación en el presente documento, se preparan formulaciones farmacéuticas adecuadas mediante procedimientos conocidos usando componentes bien conocidos y fácilmente disponibles.

40 La presente invención también proporciona composiciones para prevenir o tratar enfermedades en las que la modulación del receptor nicotínico $\alpha 7$ es beneficiosa, tales como esquizofrenia, manía, y depresión maniaca, ansiedad, enfermedad de Alzheimer, déficit de aprendizaje, déficit cognitivo, déficit de atención, pérdida de la memoria, demencia con cuerpos de Lewy, trastorno de hiperactividad con déficit de atención, enfermedad de
45 Parkinson, enfermedad de Huntington, síndrome de Tourette, traumatismo cerebral, desfase horario, tabaquismo y dolor. Dichas composiciones comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según la fórmula (I) y un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable.

Aunque es posible administrar el principio activo solo, es preferible que esté presente como una composición farmacéutica. Por consiguiente, la presente invención proporciona además una composición farmacéutica que
50 comprende un compuesto según la presente invención, junto con un portador o diluyente farmacéuticamente aceptable. El portador o diluyente debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros componentes de la composición y no perjudicial para los receptores de la misma.

55 Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden prepararse mediante cualquier método bien conocido en la técnica de farmacia, por ejemplo, usando métodos tales como los descritos en Gennaro *et al.* Remington's Pharmaceutical Sciences (18^a ed., Mack Publishing Company, 1990, véase especialmente la parte 8: Pharmaceutical preparations and their Manufacture). Una cantidad terapéuticamente eficaz del compuesto particular, en forma de base o forma de adición de sal, como principio activo se combina en mezcla íntima con un portador
60 farmacéuticamente aceptable, que puede adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la forma de preparación deseada para administración. Estas composiciones farmacéuticas están de manera deseable en una forma de dosificación unitaria adecuada, preferiblemente, para administración sistémica tal como administración oral, percutánea o parenteral; o administración tópica tal como mediante inhalación, un pulverizador nasal, colirios o mediante una crema, un gel, un champú o similares. Por ejemplo, en la preparación de las composiciones en una
65 forma de dosificación oral, pueden emplearse cualquiera de los medios farmacéuticos habituales, tal como, por

ejemplo, agua, glicoles, aceites, alcoholes y similares en el caso de preparaciones líquidas orales tales como suspensiones, jarabes, elixires y disoluciones: o portadores sólidos tales como almidones, azúcares, caolín, lubricantes, aglutinantes, agentes disgregantes y similares en el caso de polvos, píldoras, cápsulas y comprimidos. Debido a su facilidad de administración, comprimidos y cápsulas representan la forma unitaria de dosificación oral más ventajosa, en cuyo caso se emplean obviamente portadores farmacéuticos sólidos. Para composiciones parenterales, el portador comprenderá habitualmente agua estéril, al menos en gran parte, aunque pueden incluirse otros componentes, por ejemplo, para ayudar en la solubilidad. Pueden prepararse disoluciones inyectables, por ejemplo, en las que el portador comprende solución salina, disolución de glucosa o una mezcla de solución salina y disolución de glucosa. También pueden prepararse suspensiones inyectables en cuyo caso pueden emplearse portadores líquidos, agentes de suspensión apropiados y similares. En las composiciones adecuadas para administración percutánea, el portador comprende opcionalmente un agente de potenciación de penetración y/o un agente humectante adecuado, combinado opcionalmente con aditivos adecuados de cualquier naturaleza en proporciones minoritarias, aditivos que no provocan ningún efecto perjudicial significativo en la piel. Dichos aditivos pueden facilitar la administración a la piel y/o pueden ser útiles para preparar las composiciones deseadas. Estas composiciones pueden administrarse de diversas maneras, por ejemplo, como parche transdérmico, como pipeta para aplicación en la piel o como pomada.

Es especialmente ventajoso formular las composiciones farmacéuticas mencionadas anteriormente en forma unitaria de dosificación para una facilidad de administración y uniformidad de la dosificación. Forma unitaria de dosificación tal como se usa en la memoria descriptiva y las reivindicaciones en el presente documento se refiere a unidades físicamente diferenciadas adecuadas como dosificaciones unitarias, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. Ejemplos de tales formas unitarias de dosificación son comprimidos (incluyendo comprimidos recubiertos o ranurados), cápsulas, píldoras, sobres de polvo, obleas, suspensiones o disoluciones inyectables, cucharaditas, cucharadas y similares y múltiples segregados de los mismos.

Los presentes compuestos pueden usarse para administración sistémica tal como administración oral, percutánea o parenteral; o para administración tópica tal como mediante inhalación, un pulverizador nasal, colirios o mediante una crema, gel, champú o similares. Los compuestos se administran preferiblemente por vía oral. La frecuencia y dosificación exacta de administración depende del compuesto particular según la fórmula (I) usado, el estado particular que está tratándose, la gravedad del estado que está tratándose, la edad, el peso, el sexo, el grado de trastorno y estado físico general del paciente particular así como otros medicamentos que el individuo puede estar tomando, tal como conocen bien los expertos en la técnica. Además, es evidente que dicha cantidad diaria eficaz puede disminuirse o aumentarse dependiendo de la respuesta del sujeto tratado y/o dependiendo de la evaluación del médico que prescribe los compuestos de la presente invención.

También pueden usarse los compuestos según la fórmula (I) en combinación con otros agonistas de receptor nicotínico $\alpha 7$ convencionales, tales como por ejemplo monoclóhidrato del éster 4-bromofenílico del ácido 1,4-diazabicyclo[3.2.2]nonan-4-carboxílico (SSR180711A); (-)-espiro[1-azabicyclo[2.2.2]octan-3,5'-oxazolidin]-2'-ona; diclorhidrato de 3-[(2,4-dimetoxi)benziliden]-anabaseína (GTS-21); o [clorhidrato de N-[(3R)-1-azabicyclo[2.2.2]oct-3-il]-4-clorobenzamida] PNU-282987). Por tanto, la presente invención también se refiere a la combinación de un compuesto según la fórmula (I) y un agonista de receptor nicotínico $\alpha 7$. Dicha combinación puede usarse como medicamento. La presente invención también se refiere a un producto que comprende (a) un compuesto según la fórmula (I), y (b) un agonista de receptor nicotínico $\alpha 7$, como una preparación combinada para su uso simultáneo, separado o secuencial en el tratamiento de enfermedades en las que la modulación del receptor nicotínico $\alpha 7$ es beneficiosa. Los diferentes fármacos pueden combinarse en una preparación individual junto con portadores farmacéuticamente aceptables.

Parte experimental

Química

En los siguientes ejemplos se ilustran varios métodos para preparar los compuestos de esta invención. A menos que se indique lo contrario, todos los materiales de partida se obtuvieron de proveedores comerciales y se usaron sin purificación adicional.

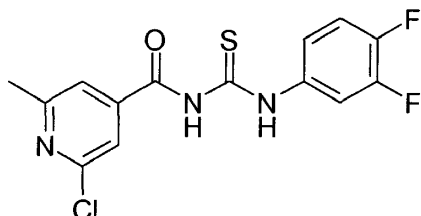
A continuación y anteriormente en el presente documento, "THF" significa tetrahidrofurano; "EtOAc" significa acetato de etilo; "DIPE" significa diisopropil éter; "DMF" significa N,N-dimetilformamida; "NMP" significa 1-metil-2-pirrolidinona, "c.s.p." significa cantidad suficiente para, "D.I." significa diámetro interno y "t-BuOH" significa 2-metil-2-propanol.

Se llevaron a cabo reacciones asistidas por microondas en un reactor monomodal: reactor de microondas Initiator™ Sixty EXP (Biotage AB), o en un reactor multimodal: MicroSYNTH Labstation (Milestone, Inc.).

En la parte C se muestran los datos analíticos.

A. PREPARACIÓN DE LOS PRODUCTOS INTERMEDIOS*Descripción 1*

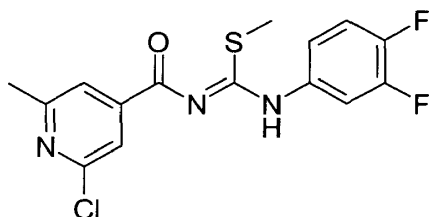
5 1-(2-Cloro-6-metil-piridin-4-carbonil)-3-(3,4-difluoro-fenil)-tiourea (D1)



10 Se añadió sal de amonio de ácido tiocianico (10,6 g) a una mezcla de cloruro de 2-cloro-6-metil-4-piridincarbonilo (22,04 g; 116 mmol) y acetona (400 ml). Se agitó la mezcla de reacción durante 30 minutos y luego se añadió lentamente 3,4-difluorobencenamina (14,98 g; 116 mmol) mediante un embudo de adición. Se agitó la disolución resultante durante 2 horas, se extinguió con agua (100 ml) y luego se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 ml). Se secó la fase orgánica combinada sobre MgSO₄ se filtró y se evaporó el disolvente a vacío. Rendimiento: 38,1 g de producto intermedio D1.

15 *Descripción 2*

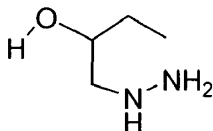
1-(2-Cloro-6-metil-piridin-4-carbonil)-3-(3,4-difluoro-fenil)-2-metil-isotiourea (D2)



20 Se enfrió una mezcla de producto intermedio D1 (38 g; 111,4 mmol) en THF (400 ml) hasta 0°C y se añadió cuidadosamente NaH (puro al 60%) (6,7 g; 167 mmol). Se agitó la mezcla de reacción durante 15 minutos y luego se añadió CH₃I (14,2 g; 100 mmol). Entonces se calentó la mezcla hasta temperatura ambiente y se agitó durante 25 2 horas. Se extinguió la reacción mediante la adición de agua y luego se extrajo la mezcla con CH₂Cl₂ (3 x 100 ml). Se lavó el disolvente orgánico combinado con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna de sílice (gradiente: heptano/EtOAc desde 80/20 hasta 50/50). Rendimiento: 22,2 g de producto intermedio D2.

30 *Descripción 3*

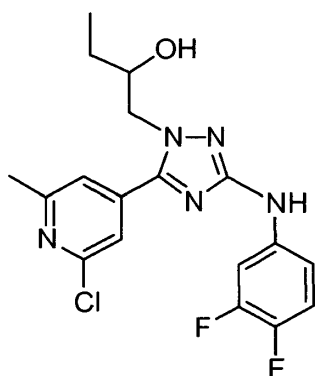
(S)-1-Hidrazino-butan-2-ol (D3)



35 Se disolvió (2-S)-2-etiloxirano (15 g; 208 mmol) en hidrazina, al 64% (42 g; 832 mmol). Se agitó la mezcla de reacción a 50°C durante 2 horas y luego se evaporó bajo la campana en un baño de agua a 50°C. Se añadió xileno (x 2) para coevaporar la cantidad en exceso de hidrazina de la mezcla de reacción bruta. Rendimiento: 18,9 g de producto intermedio D3 (sólido de color blanco; enantiómero S).

40 *Descripción 4*

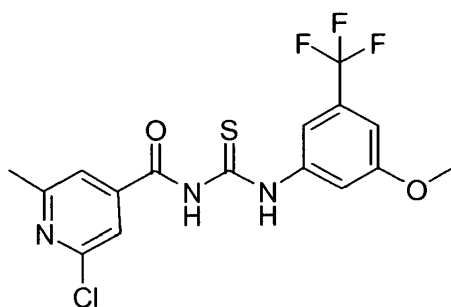
(S)-1-[5-(2-Cloro-6-metil-piridin-4-il)-3-(3,4-difluoro-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (D4)



- 5 Se disolvió el producto intermedio D2 (1 g; 2,81 mmol) en t-BuOH (40 ml), y luego se añadió el producto intermedio D3 (0,44 g; 4,22 mmol). Se agitó la mezcla de reacción y se sometió a reflujo durante 4 horas y luego se evaporó el disolvente. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna de sílice (gradiente: CH₂Cl₂/CH₃OH al 10% en CH₂Cl₂ desde 100/0 hasta 0/100). Rendimiento: 1,1 g de producto intermedio D4 (enantiómero S).

Descripción 5

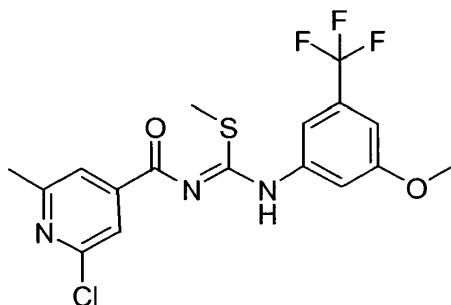
- 10 1-(2-Cloro-6-metil-piridin-4-carbonil)-3-(3-metoxi-5-trifluorometilfenil)-tiourea (D5)



- 15 Se añadió tiocianato de sodio (6,998 g, 0,08632 mol) a una disolución de cloruro de 2-cloro-6-metil-4-piridincarbonilo (14,912 g, 0,078472 mol) en acetona (2 l). Se agitó la mezcla resultante durante 1 hora a temperatura ambiente (formación de un precipitado de color marrón). Posteriormente, se añadió 3-metoxi-5-trifluorometil-bencenammina (15 g, 0,078472 mol) gota a gota y se agitó la mezcla de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente (precipitado de color marrón). Se disolvió la mezcla en CH₂Cl₂ (1,5 l) y luego se lavó con 2 x 250 ml de agua y salmuera. Se evaporó la fase orgánica separada y se trituró el residuo durante la noche con DIPE/heptano. Se separó el producto mediante filtración y se secó a vacío. Rendimiento: 21,32 g de producto intermedio D5 (67%).

Descripción 6

- 25 1-(2-Cloro-6-metil-piridin-4-carbonil)-3-(3-metoxi-5-trifluorometilfenil)-2-metil-isotiourea (D6)

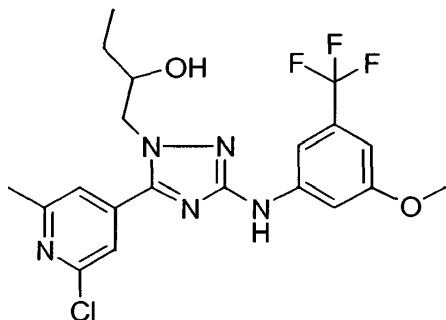


- 30 (Reacción llevada a cabo bajo atmósfera de N₂). Se añadió en porciones NaH (1,267 g, 0,05279 mol) a una disolución enfriada con hielo del producto intermedio D5 (21,32 g, 0,05279 mol) en THF (480 ml) y se agitó la mezcla resultante durante 15 minutos a 0°C. Posteriormente, se añadió una disolución de CH₃I (7,493 g, 0,05279 mol) en THF (40 ml) gota a gota y se agitó la mezcla durante 2 horas a temperatura ambiente. Entonces se extinguió la mezcla de reacción con H₂O y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 500 ml). Se separaron las fases orgánicas, se combinaron, se lavaron con salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se evaporó el disolvente a vacío. Se trituró el producto bruto con DIPE/heptano. Se separó el sólido blanquecino mediante filtración y se secó proporcionando 16,203 g de

producto intermedio D6 (73,5%). Se añadieron heptano y H₂O al filtrado y se agitó esta mezcla durante la noche a temperatura ambiente. Se separó el filtrado blanquecino mediante filtración y se secó proporcionando más (1,957 g) del producto intermedio D6 (9%).

5 *Descripción 7*

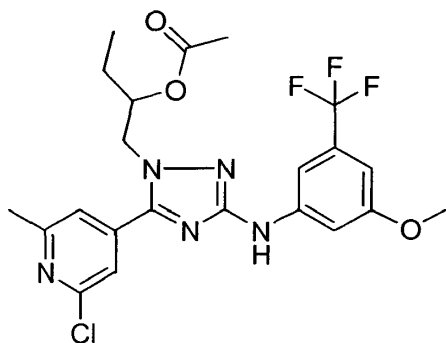
(S)-1-[5-(2-Cloro-6-metil-piridin-4-il)-3-(3-metoxi-5-trifluorometil-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (D7)



10 Se agitó una mezcla del producto intermedio D6 (8,356 g, 0,020 mol) y producto intermedio D3 (2,083 g, 0,020 mol) en etanol (200 ml) durante la noche a reflujo. Posteriormente, se evaporó el disolvente proporcionando el producto intermedio D7 (enantiómero S) como un aceite de color amarillo que se usó como tal en la siguiente etapa de reacción.

15 *Descripción 8*

Éster (S)-1-[5-(2-cloro-6-metil-piridin-4-il)-3-(3-metoxi-5-trifluorometil-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]metil]-propílico del ácido acético (D8)

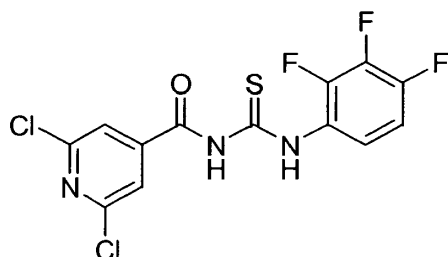


25 Se añadió N,N-dimetil-4-piridinamina (0,1222 g, 0,001 mol) a una disolución del producto intermedio D7 (9,117 g, 0,020 mol) en acetato de acetilo (378 ml). Se agitó la mezcla de reacción a reflujo durante 30 minutos. Posteriormente, se enfrió la mezcla hasta temperatura ambiente y se evaporó el disolvente a vacío. Se volvió a disolver el residuo en CH₂Cl₂. Se lavó esta disolución orgánica con una disolución saturada de bicarbonato de sodio, se lavó con salmuera, y posteriormente se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el aceite de color amarillo obtenido mediante cromatografía de líquidos de alta resolución de fase inversa (Shandon Hyperprep® C18 BDS (sílice desactivada con base) 8 μm, 250 g, D.I. 5 cm). Se aplicó un gradiente con 3 fases móviles. Fase A: una disolución de NH₄HCO₃ al 0,25% en agua; fase B: metanol; fase C: CH₃CN. Se recogieron las fracciones deseadas. Se evaporó el disolvente y se coevaporó con metanol. Se cristalizó el producto en DIPE/heptano. Se separaron los cristales de color blanco mediante filtración y se secaron a vacío. Rendimiento: 3,677 g de producto intermedio D8 (37%; enantiómero S).

30

Descripción 9

1-(2,6-Dicloro-piridin-4-carbonil)-3-(2,3,4-trifluoro-fenil)-tiourea (D9)



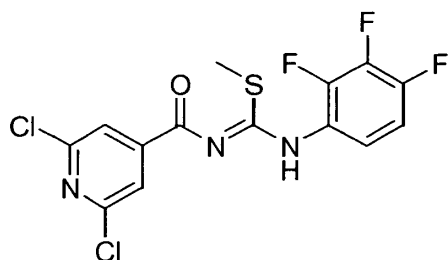
5

Se añadió isotiocianato de amonio (7,726 g, 0,1015 mol) a una disolución de cloruro de 2,6-dicloro-4-piridincarbonilo (17,8 g, 0,0846 mol) en acetona (300 ml). Se agitó la mezcla durante 30 minutos y posteriormente se añadió lentamente 2,3,4-trifluorobencenammina · ácido clorhídrico (· HCl). Se agitó la mezcla de reacción a temperatura ambiente durante 2 horas y luego se extinguió con H₂O (100 ml). Se extrajo la mezcla con CH₂Cl₂ (3 x 80 ml) y se secaron las fases orgánicas combinadas (MgSO₄), se filtraron y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida (eluyente: heptano/EtOAc desde 80/20 hasta 50/50). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporó el disolvente a vacío. Rendimiento: 22,2 g de producto intermedio D9 (69%).

10

15 *Descripción 10*

1-(2,6-Dicloro-piridin-4-carbonil)-2-metil-3-(2,3,4-trifluoro-fenil)-isotiourea (D10)



20

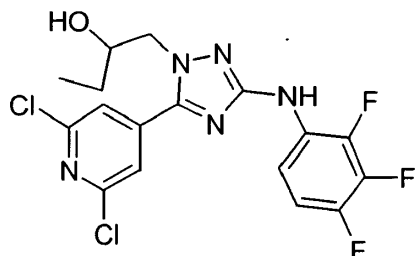
Se añadió cuidadosamente NaH (2,70 g, 0,06747 mol) a una disolución enfriada (0°C) del producto intermedio D9 (28,5 g, 0,04498 mol) en THF (200 ml). Se agitó la mezcla durante 15 minutos y se añadió luego CH₃I (6,38 g, 0,04498 mol). Se eliminó el baño de hielo y se agitó la mezcla de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se extinguió la mezcla con H₂O y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 100 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas (salmuera), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía ultrarrápida (eluyente: gradiente de heptano/EtOAc desde 80/20 hasta 50/50). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporó el disolvente. Rendimiento: 5,7 g de producto intermedio D10 (32%).

25

Descripción 11

30

(S)-1-[5-(2,6-Dicloro-piridin-4-il)-3-(2,3,4-trifluoro-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (D11)



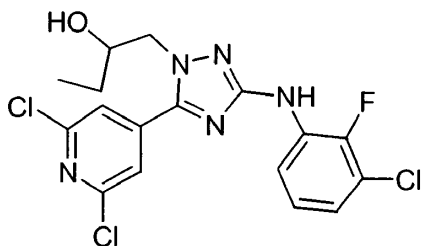
35

Se añadió el producto intermedio D3 (0,143 g, 0,00137 mol) a una disolución del producto intermedio D10 (0,3 g, 0,000457 mol) en t-BuOH (40 ml). Se agitó la mezcla de reacción durante la noche a reflujo. Se evaporó el disolvente a vacío y se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente: gradiente EtOAc/heptano desde 20/80 hasta 50/50). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporó el disolvente. Rendimiento: 0,160 g de producto intermedio D11 (81%; enantiómero S).

40

Descripción 12

(S)-1-[3-(3-Cloro-2-fluoro-fenilamino)-5-(2,6-dicloro-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (D12)

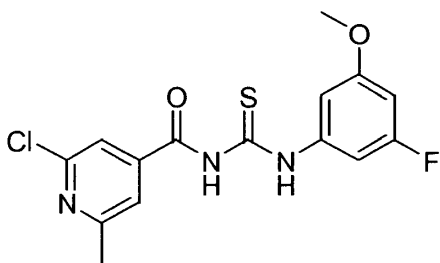


5

Se preparó el producto intermedio D12 según un procedimiento análogo al procedimiento usado para la síntesis de D11. Rendimiento: producto intermedio D12 (79%; enantiómero S).

10 *Descripción 13*

1-(2-Cloro-6-metil-piridin-4-carbonil)-3-(3-fluoro-5-metoxi-fenil)-tiourea (D13)

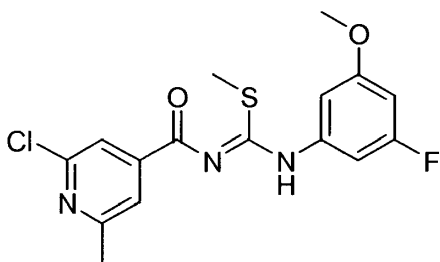


15

Se trató cloruro de 2-cloro-6-metil-4-piridincarbonilo (44,087 g, 0,232 mol) en acetona (1 l) con isotiocianato de amonio (21,192 g, 0,278 mol) y se agitó la mezcla durante 1 hora a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadió una disolución de 3-fluoro-5-metoxibencenamina (36,02 g, 0,255 mol) en acetona (200 ml) gota a gota y se agitó la mezcla de reacción durante 4 horas a temperatura ambiente. Se evaporó el disolvente a vacío y se disolvió el residuo en CH₂Cl₂ (1 l). Se lavó (H₂O) esta disolución orgánica, se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente a vacío proporcionando un sólido de color marrón. Se trituró el sólido de color marrón en acetonitrilo (0,8 l), se agitó durante la noche y se separó el sólido mediante filtración y se secó (horno de vacío, 4 horas a 65°C). Rendimiento: 59,69 g de producto intermedio D13 (73%).

25 *Descripción 14*

1-(2-Cloro-6-metil-piridin-4-carbonil)-3-(3-fluoro-5-metoxi-fenil)-2-metil-isotiurea (D14)



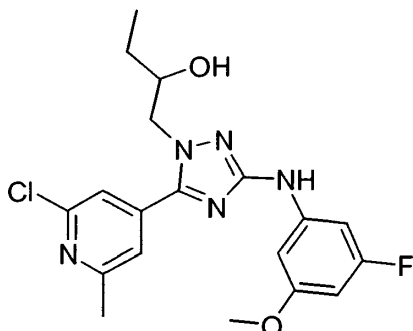
30

Se añadió en porciones NaH al 60% en parafina (10,123 g, 0,253 mol) a una disolución enfriada con hielo del producto intermedio D13 (59,69 g, 0,169 mol) en THF (1000 ml). Tras 15 minutos, se añadió gota a gota CH₃I (15,651 ml) disuelto en THF (200 ml). Se agitó la mezcla de reacción durante la noche a temperatura ambiente y luego se extinguió con H₂O (25 ml). Tras el tratamiento final y la evaporación del disolvente, se trituró el sólido con DIPE (0,5 l) y CH₃CN (50 ml). Se agitó la mezcla durante 3 horas y luego se separó el producto mediante filtración y se disolvió en CH₂Cl₂ (1,5 l). Se lavó la disolución orgánica con H₂O (0,8 l), se secó (MgSO₄), se filtró y se evaporó el disolvente a vacío. Rendimiento: 52,3 g de producto intermedio D14 (84,3%).

35

Descripción 15

(S)-1-[5-(2-Cloro-6-metil-piridin-4-il)-3-(3-fluoro-5-metoxi-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (D15)



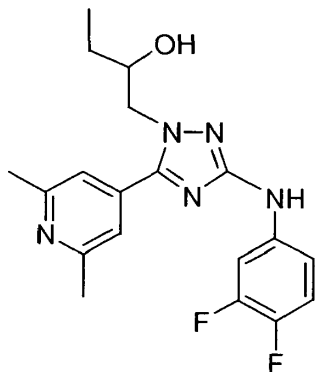
5

Se sometió a reflujo una mezcla del producto intermedio D3 (22,213 g, 0,213 mol), producto intermedio D14 (52,3 g, 0,142 mol) y etanol (500 ml) durante 16 horas mientras se purgó la mezcla con N₂. Se extinguió la mezcla con una disolución de NaOCl. Posteriormente, se evaporó el disolvente a vacío y se cristalizó el residuo en DIPE (400 ml). Se separó un sólido de color amarillo claro mediante filtración y se usó como tal en la siguiente etapa de reacción. Rendimiento: 33,124 g de producto intermedio D15 (57,4%; enantiómero S).

10

B. PREPARACIÓN DE LOS COMPUESTOS15 *Ejemplo B1*

(S)-1-[3-(3,4-Difluoro-fenilamino)-5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (E1)



20

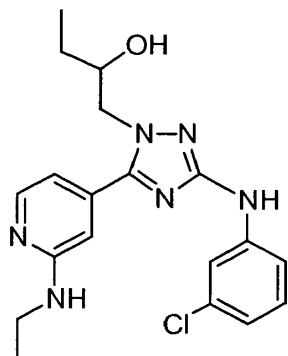
Se disolvió el producto intermedio D4 (1,1 g, 2,80 mmol) en THF (15 ml) y se añadieron acetilacetonato de hierro (III) (0,099 g, 0,28 mmol) y NMP (1 ml). Entonces se enfrió la mezcla de reacción hasta 0°C. Bajo protección de N₂ (gas), se añadió lentamente CH₃MgBr 3 M en Et₂O (4 ml, 12 mmol). Se calentó la mezcla de reacción hasta temperatura ambiente y se agitó durante una hora hasta que se terminó la reacción. Entonces se extinguió la mezcla de reacción con disolución saturada de NH₄Cl y luego se extrajo con CH₂Cl₂ (3x30 ml). Se lavó la fase orgánica combinada con salmuera, se secó sobre MgSO₄, se filtró y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución de fase inversa (Shandon Hyperprep® C18 BDS (sílice desactivada con base) 8 μm, 250 g, D.I. 5 cm). Se aplicó un gradiente con 2 ó 3 fases móviles (fase A: una disolución de NH₄HCO₃ al 0,25% en agua; fase B: CH₃OH (opcional); fase C: CH₃CN).

25

30 Rendimiento: 0,152 g de compuesto E1 (enantiómero S).

Ejemplo B2

(S)-1-[3-(3-Cloro-fenilamino)-5-(2-etilamino-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (E2)



5

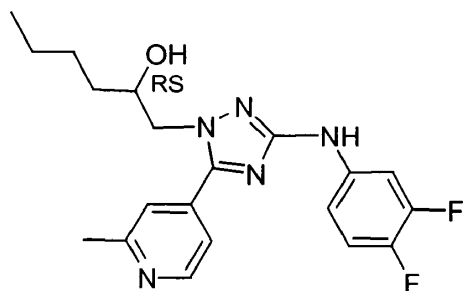
Se disolvió el producto intermedio 1-[3-(3-cloro-fenilamino)-5-(2-cloro-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (preparado según la descripción 4) (1,15 g; 3,04 mmol) en CH₃OH (20 ml) y luego se añadió etilamina (3 g). Se agitó la mezcla de reacción durante 16 horas a 160°C a presión (hasta que la reacción había avanzado hasta completarse). Entonces se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución de fase inversa (Shandon Hyperprep® C18 BDS (sílice desactivada con base) 8 μm, 250 g, D.I. 5 cm). Se aplicó un gradiente con 2 fases móviles (fase A: una disolución de NH₄HCO₃ al 0,25% en agua; fase B: CH₃CN). Se recogieron las fracciones deseadas, se sometieron a tratamiento final y finalmente se cristalizó el residuo en diisopropil éter. Rendimiento: 0,1595 g de compuesto E2 (enantiómero S).

10

15

Ejemplo B3

1-[3-(3,4-Difluoro-fenilamino)-5-(2-metil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-hexan-2-ol (E3)



20

Se hidrogenó una mezcla del producto intermedio, 1-[5-(2-cloro-6-metil-piridin-4-il)-3-(3,4-difluoro-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-hexan-2-ol (preparado según D4) (1,5 g; 3,5 mmol) y Et₃N (2 ml) en THF (40 ml) con Pd/C al 10% (0,020 g) como catalizador en presencia de disolución de tiofeno (0,1 ml; al 4% en DIPE). Tras haber cesado la captación de H₂ (1 equiv.), se separó el catalizador mediante filtración y se evaporó el filtrado a vacío. Se suspendió el residuo en DIPE y se filtró. Se secaron los cristales en a horno de vacío a 70°C durante la noche.

25

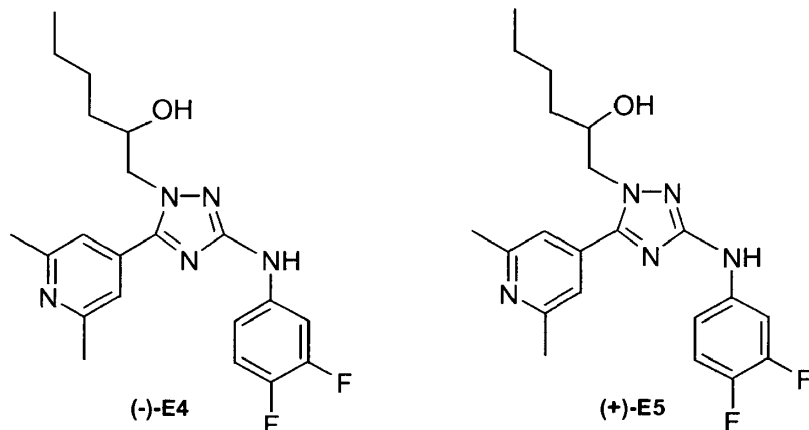
Rendimiento: 876 mg de compuesto E3 (65%).

30

Ejemplo B4

(-)-1-[3-(3,4-Difluoro-fenilamino)-5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-hexan-2-ol (E4) y (+)-1-[3-(3,4-difluoro-fenilamino)-5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-hexan-2-ol (E5)

5



Se separó el compuesto E7 (564 mg; 1,4 mmol) en enantiómeros mediante cromatografía de fluido supercrítico (SFC) en una columna Chiralpak AD-H (30x250 mm) con una velocidad de flujo de 50 ml/min. Se usó como eluyente una mezcla del 30% de CH₃OH (+ 2-propilamina al 0,2%)/el 70% de CO₂. Se fijó el calentador de columna a 40°C y se fijó la presión de la boquilla a 100 bares.

10

Se recogió el primer isómero que eluyó, pico "A", y se concentró, se trituró el residuo oleoso en una mezcla de DIPE y heptano. Se recogió un sólido de color blanco mediante filtración, se lavó con heptano y se secó en un horno de vacío. Rendimiento: 200 mg de compuesto E4 como polvo de color blanco (cristalino).

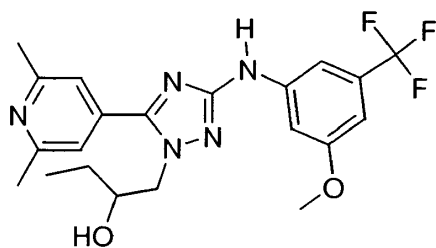
15

Se recogió el segundo isómero que eluyó, pico "B", y se concentró, se trituró el residuo oleoso en una mezcla de DIPE y heptano. Se recogió un sólido de color blanco mediante filtración, se lavó con heptano y se secó en un horno de vacío. Rendimiento: 212 mg de compuesto E5 como polvo de color blanco (cristalino).

20

Ejemplo B5

(S)-1-[5-(2,6-Dimetil-piridin-4-il)-3-(3-metoxi-5-trifluorometil-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (E30)



25

Se añadieron NMP (1 ml; extra seco) y acetilacetato de hierro (III) (35,33 g, 0,0001 mol) a una disolución del producto intermedio D8 (498,08 g, 0,001 mol) en THF (10 ml; extra seco) y se enfrió la mezcla hasta 0°C. Se añadió lentamente bromuro de metilmagnesio (1,67 ml, 0,005 mol) y se agitó la mezcla de reacción durante 5 minutos a 0°C. Posteriormente, se extinguió la mezcla con una disolución saturada de NH₄Cl y se extrajo con CH₂Cl₂ (3 x 50 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas con salmuera, se secaron (MgSO₄), se filtraron y se evaporó el disolvente. Se volvió a disolver el residuo en metanol y se añadió NaOH (800 mg, 0,020 mol). Se agitó la mezcla resultante durante 1 hora a temperatura ambiente. Se añadió disolución saturada de NH₄Cl y se extrajo la mezcla con CH₂Cl₂ (3 x 50 ml). Se lavaron las fases orgánicas combinadas (salmuera), se secaron (MgSO₄), se filtraron y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyente: gradiente de (NH₃ 7 N/MeOH)/CH₂Cl₂ desde 0/100 hasta 10/90). Se recogieron las fracciones de producto y se evaporó el disolvente a vacío. Se trató el residuo con heptano, proporcionando cristales de color blanco. Se separaron estos cristales de color blanco mediante filtración y se secaron a vacío. Rendimiento: 0,632 g de compuesto E30 (83%; enantiómero S).

30

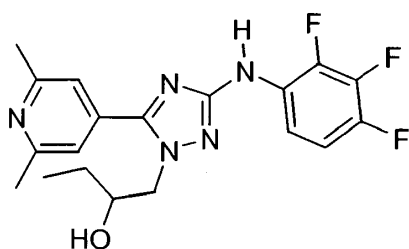
35

40

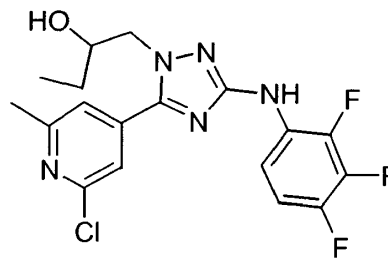
Ejemplo B6

(S)-1-[5-(2,6-Dimetil-piridin-4-il)-3-(2,3,4-trifluoro-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (E32) y

5 (S)-1-[5-(2-cloro-6-metil-piridin-4-il)-3-(2,3,4-trifluoro-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (D16)



E32 (enantiómero S)



D16 (enantiómero S)

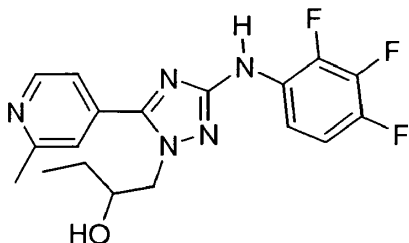
Se agitó una mezcla del producto intermedio D11 (0,47 g, 0,0011 mol), acetilacetato de hierro (III) (0,0383 g, 0,00011 mol), NMP (1 ml) y THF (25 ml) a 0°C. Se añadió CH_3MgBr 3 M en Et_2O (2,9 ml, 0,0087 mol). Se agitó la mezcla de reacción durante 2 horas a temperatura ambiente. Se extinguió la mezcla con una disolución saturada de NH_4Cl y se extrajo con CH_2Cl_2 (3 x 30 ml). Se lavó la fase orgánica (salmuera), se secó (MgSO_4), se filtró y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución de fase inversa (Shandon Hyperprep® C 18 BDS (sílice desactivada con base) 8 μm , 250 g, D.I. 5 cm). Se aplicó un gradiente con 3 fases móviles. Fase A: una disolución de NH_4HCO_3 al 0,25% en agua; fase B: metanol; fase C: CH_3CN . Se recogieron dos fracciones de producto diferentes y se sometieron a tratamiento final. Rendimiento: 0,077 g de producto intermedio D16 (17%). Rendimiento: 0,183 g de compuesto E32 (43%; enantiómero S).

Se convirtió una parte del compuesto E32 en la sal de HCl mediante métodos convencionales obvios para los expertos en la técnica proporcionando el compuesto E33 (sal de HCl; enantiómero S).

20

Ejemplo B7

(S)-1-[5-(2-Metil-piridin-4-il)-3-(2,3,4-trifluoro-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (E31)



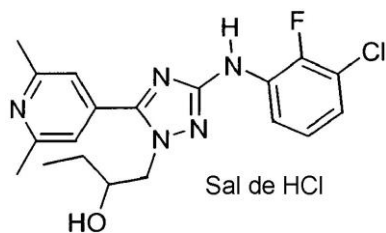
25

Se agitó una mezcla del producto intermedio D16 (0,13 g, 0,000316 mol), [1,3-bis[2,6-bis(1-metiletil)fenil]-2-imidazolidinilideno]cloro(η^3 -2-propenil)paladio (CAS [478980-01-7]; catalizador) (0,01814 g, 0,0000316 mol) y NaOCH_3 (0,5 M en metanol) (1 ml) en 2-propanol (4 ml) con radiación con microondas durante 10 minutos a 120°C. Se evaporó el disolvente y se lavó el concentrado con H_2O y se extrajo con CH_2Cl_2 . Se secó (MgSO_4) la fase orgánica, se filtró y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía de líquidos de alta resolución de fase inversa (Shandon Hyperprep® C 18 BDS (sílice desactivada con base) 8 μm , 250 g, D.I. 5 cm). Se aplicó un gradiente con 3 fases móviles. Fase A: una disolución de NH_4HCO_3 al 0,25% en agua; fase B: metanol; fase C: CH_3CN . Se recogieron las fracciones deseadas y se sometieron a tratamiento final. Rendimiento: 0,0519 g de compuesto E31 (43,5%; enantiómero S).

35

Ejemplo B8

(S)-1-[3-(3-Cloro-2-fluoro-fenilamino)-5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol HCl sal (E35)



5

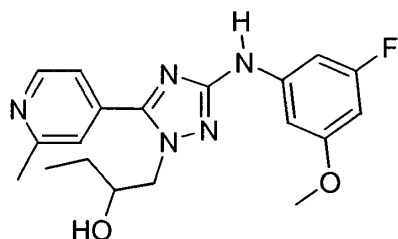
Se agitó una mezcla del producto intermedio D12 (2,6 g, 0,00604 mol), acetilacetato de hierro (III) (0,427 g, 0,00121 mol), THF (150 ml) y NMP (35 ml) a 0°C. Se añadió CH₃MgBr 3 M en Et₂O (10 ml) y se agitó la mezcla durante 1 hora a temperatura ambiente. Se añadieron más de CH₃MgBr 3 M en Et₂O (10 ml) y metanol. Se evaporó el disolvente y se añadieron CH₂Cl₂ y H₂O (pocos ml) al residuo. Se filtró la mezcla sobre tierra de diatomeas. Se evaporó el filtrado y se disolvió el residuo en DIPE. Se lavó esta disolución (H₂O) y se secó (MgSO₄) la fase orgánica, se filtró y se evaporó el disolvente a vacío. Se disolvió el residuo en 2-propanol y se añadió HCl/2-propanol a la disolución mientras se enfriaba en un baño de hielo. Posteriormente, se evaporó el disolvente y se agitó el residuo en acetona. Se separaron los cristales mediante filtración y se secaron. Rendimiento: 0,96 g de compuesto E35 (37%; enantiómero S; sal de HCl). Pudo obtenerse una cantidad adicional del compuesto E35 a partir del filtrado, para dar como resultado un rendimiento total del 63%.

10

15

Ejemplo B9

20 Sal de HCl de (S)-1-[3-(3-fluoro-5-metoxifenilamino)-5-(2-metilpiridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol (E36) y (E38) (base libre de E36)



25 E38: base libre
E36: sal de HCl

Se calentó una mezcla del producto intermedio D15 (0,406 g, 0,001 mol), [1,3-bis[2,6-bis(1-metiletil)fenil]-2-imidazolidinilidencloro(η³-2-propenil)paladio (CAS [478980-01-7]; catalizador) (0,055 g, 0,0000957 mol) y NaOMe (0,2 ml de una disolución 5,33 M en MeOH, 0,001066 mol) en 2-propanol (10 ml) en un horno de microondas durante 10 minutos a 120°C. Posteriormente se concentró la mezcla de reacción a vacío, se diluyó con CH₂Cl₂ y se lavó con H₂O. Se secó (MgSO₄) la fase orgánica, se filtró y se evaporó el disolvente a vacío. Se purificó el residuo mediante cromatografía en columna (eluyente: CH₂Cl₂/MeOH 100/0-95/5). Se recogieron las fracciones deseadas y se evaporó el disolvente proporcionando 0,300 g de un aceite incoloro (compuesto E38, que es la base libre de compuesto E36). Se convirtió el compuesto E38 (enantiómero S) en su sal de HCl: Se disolvió el aceite en DIPE y se trató con HCl 6 N en 2-propanol y se agitó esta mezcla durante 5 horas. Se separó un precipitado de color amarillo mediante filtración y se secó (horno de vacío, 65°C, 3 días). Rendimiento: 0,237 g de compuesto E36 (58%; enantiómero S; sal de HCl).

30

35

40 Las tablas 1 y 2 indican compuestos de fórmula (I) que se prepararon en analogía a uno de los ejemplos anteriores (n.º de ej.).

Tabla 1:

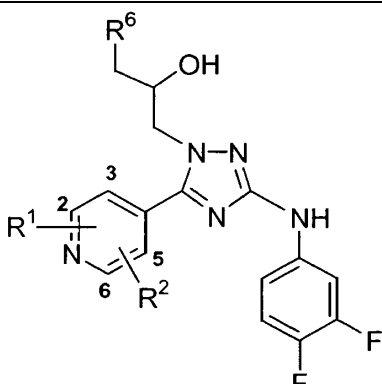
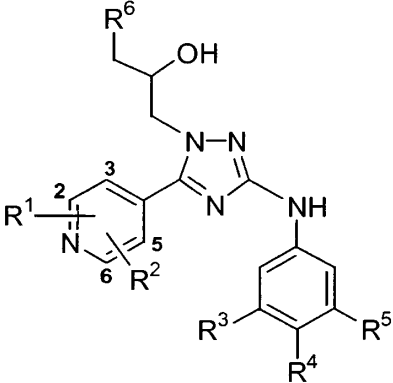
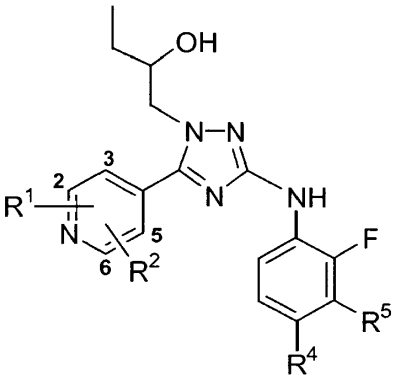
					
N.º de comp.	N.º de ej.	R ¹	R ²	R ⁶	Información estereoquímica
E6	B1	2-CH ₃	H	-CH ₃	enantiómero S(+)
E26	B1	2-CH ₃	H	-CH ₃	enantiómero R(-)
E10	B3	2-CH ₃	H	-CH ₂ CH ₃	mezcla racémica
E15	B4	2-CH ₃	H	-CH ₂ CH ₃	enantiómero (-)
E16	B4	2-CH ₃	H	-CH ₂ CH ₃	enantiómero (+)
E3	B3	2-CH ₃	H	-CH ₂ CH ₂ CH ₃	mezcla racémica
E11	B4	2-CH ₃	H	-CH ₂ CH ₂ CH ₃	enantiómero (-)
E12	B4	2-CH ₃	H	-CH ₂ CH ₂ CH ₃	enantiómero (+)
E1	B1	2-CH ₃	6-CH ₃	-CH ₃	enantiómero S(+)
E27	B1	2-CH ₃	6-CH ₃	-CH ₃	enantiómero R(-)
E8	B1	2-CH ₃	6-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	mezcla racémica
E13	B4	2-CH ₃	6-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	enantiómero (-)
E14	B4	2-CH ₃	6-CH ₃	-CH ₂ CH ₃	enantiómero (+)
E7	B1	2-CH ₃	6-CH ₃	-CH ₂ CH ₂ CH ₃	mezcla racémica
E4	B4	2-CH ₃	6-CH ₃	-CH ₂ CH ₂ CH ₃	enantiómero (-)
E5	B4	2-CH ₃	6-CH ₃	-CH ₂ CH ₂ CH ₃	enantiómero (+)
E9	B2	2-NHCH ₂ CH ₂ OCH ₃	H	-CH ₃	enantiómero S(+)
E25	B2	2-NHCH ₂ CH ₃	H	-CH ₃	enantiómero R(-)

Tabla 2:



N.º de comp.	N.º de ej.	R ¹	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	R ⁶	Información estereoquímica y forma de sal
E17	B1	2-CH ₃	H	Cl	H	H	-CH ₃	enantiómero S(+)
E19	B1	2-CH ₃	H	-CH ₃	F	H	-CH ₃	enantiómero S(+)
E38	B9	2-CH ₃	H	F	H	-OCH ₃	-CH ₃	enantiómero S
E36	B9	2-CH ₃	H	F	H	-OCH ₃	-CH ₃	enantiómero S, sal de HCl
E20	B1	2-CH ₃	H	-CF ₃	H	-OCH ₃	-CH ₃	enantiómero S(+)
E28	B1	2-CH ₃	H	-CF ₃	H	-OCH ₃	-CH ₃	enantiómero R(-)
E18	B1	2-CH ₃	6-CH ₃	Cl	H	H	-CH ₃	enantiómero R(-)
E21	B1	2-CH ₃	6-CH ₃	Cl	H	H	-CH ₃	enantiómero S(+)
E22	B3	2-CH ₃	6-CH ₃	Cl	H	H	-CH ₂ CH ₃	mezcla racémica
E23	B4	2-CH ₃	6-CH ₃	Cl	H	H	-CH ₂ CH ₃	enantiómero (-)
E24	B4	2-CH ₃	6-CH ₃	Cl	H	H	-CH ₂ CH ₃	enantiómero (+)
E39	B5	2-CH ₃	6-CH ₃	F	H	-OCH ₃	-CH ₃	enantiómero S(+)
E37	B5	2-CH ₃	6-CH ₃	F	H	-OCH ₃	-CH ₃	enantiómero S(+), sal de HCl
E30	B5	2-CH ₃	6-CH ₃	-CF ₃	H	-OCH ₃	-CH ₃	enantiómero S(+)
E29	B2	2-NHCH ₂ CH ₃	H	Cl	H	H	-CH ₃	enantiómero R(-)
E2	B2	2-NHCH ₂ CH ₃	H	Cl	H	H	-CH ₃	enantiómero S(+)

Tabla 3:



N.º de comp.	N.º de ej.	R ¹	R ²	R ⁴	R ⁵	información estereoquímica y forma de sal
E31	B7	2-CH ₃	H	F	F	enantiómero S
E34	B6	2-CH ₃	6-CH ₃	H	Cl	enantiómero S
E35	B8	2-CH ₃	6-CH ₃	H	Cl	enantiómero S, sal de HCl
E32	B6	2-CH ₃	6-CH ₃	F	F	enantiómero S
E33	B6	2-CH ₃	6-CH ₃	F	F	enantiómero S, sal de HCl

C. PARTE ANALÍTICA

5 CL-EM

Procedimiento general A

Se llevó a cabo la medición de HPLC usando un sistema Alliance HT 2790 (Waters) que comprendía una bomba cuaternaria con desgasificador, un inyector automático, un horno de columna (fijado a 40°C, a menos que se indique lo contrario), un detector por red de diodos (DAD) y una columna tal como se especifica en los métodos respectivos a continuación. Se dividió el flujo de la columna a un espectrómetro de EM. Se configuró el detector de EM con una fuente de ionización por electrospray. Se adquirieron espectros de masa barriendo desde 100 hasta 1000 en 1 segundo usando un tiempo de permanencia de 0,1 segundos. El voltaje de aguja capilar fue de 3 kV y se mantuvo la temperatura de la fuente a 140°C. Se usó nitrógeno como gas nebulizador. Se llevó a cabo la adquisición de datos con un sistema de datos Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

Procedimiento general B

Se llevó a cabo la medición de CL usando un sistema Acquity UPLC (Waters) que comprendía una bomba binaria, un organizador de muestras, un calentador de columna (fijado a 55°C), un detector por red de diodos (DAD) y una columna tal como se especifica en los métodos respectivos a continuación. Se dividió el flujo de la columna a un espectrómetro de EM. Se configuró el detector de EM con una fuente de ionización por electrospray. Se adquirieron espectros de masa barriendo desde 100 hasta 1000 en 0,18 segundos usando un tiempo de permanencia de 0,02 segundos. El voltaje de aguja capilar fue de 3,5 kV y se mantuvo la temperatura de la fuente a 140°C. Se usó nitrógeno como gas nebulizador. Se llevó a cabo la adquisición de datos con un sistema de datos Waters-Micromass MassLynx-Openlynx.

CL-EM - Procedimiento 1

Además del procedimiento general A: se llevó a cabo HPLC de fase inversa en una columna Xterra MS C18 (3,5 µm, 4,6 x 100 mm) con una velocidad de flujo de 1,6 ml/min. Se emplearon tres fases móviles (fase móvil A: el 95% de acetato de amonio 25 mM + el 5% de acetonitrilo; fase móvil B: acetonitrilo; fase móvil C: metanol) para realizar una condición de gradiente de desde el 100% de A hasta el 1% de A, el 49% de B y el 50% de C en 6,5 minutos, hasta el 1% de A y el 99% de B en 1 minuto y se mantener esas condiciones durante 1 minuto y volver a equilibrar con el 100% de A durante 1,5 minutos. Se usó un volumen de inyección de 10 µl. El voltaje de cono fue de 10 V para un modo de ionización positiva y de 20 V para un modo de ionización negativa.

CL-EM - Procedimiento 2

Además del procedimiento general A: se fijó el calentador de columna a 60°C. Se llevó a cabo HPLC de fase inversa

5 en una columna Xterra MS C18 (3,5 μm , 4,6 x 100 mm) con una velocidad de flujo de 1,6 ml/min. Se emplearon tres fases móviles (fase móvil A: el 95% de acetato de amonio 25 mM + el 5% de acetonitrilo; fase móvil B: acetonitrilo; fase móvil C: metanol) para realizar una condición de gradiente de desde el 100% de A hasta el 50% de B y el 50% de C en 6,5 minutos, hasta el 100% de B en 0,5 minutos y mantener esas condiciones durante 1 minuto y volver a equilibrar con el 100% de A durante 1,5 minutos. Se usó un volumen de inyección de 10 μl . El voltaje de cono fue de 10 V para un modo de ionización positiva y de 20 V para un modo de ionización negativa.

CL-EM - Procedimiento 3

10 Además del procedimiento general A: se llevó a cabo HPLC de fase inversa en una columna Atlantis C18 (3,5 μm , 4,6 x 100 mm) (3,5 μm , 4,6 x 100 mm) con una velocidad de flujo de 1,6 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: el 70% de metanol + el 30% de H₂O; fase móvil B: ácido fórmico al 0,1% en H₂O/metanol 95/5) para realizar una condición de gradiente de desde el 100% de B hasta el 5% de B + el 95% de A en 12 minutos. Se usó un volumen de inyección de 10 μl . El voltaje de cono fue de 10 V para un modo de ionización positiva y de 20 V para un modo de ionización negativa.

CL-EM - Procedimiento 4 (sólo usado para los productos intermedios: D1, D2 y D4)

20 Además del procedimiento general A: se llevó a cabo HPLC de fase inversa en una columna Chromolith (4,6 x 25 mm) con una velocidad de flujo de 3 ml/min. Se emplearon tres fases móviles (fase móvil A: el 95% de acetato de amonio 25 mM + el 5% de acetonitrilo; fase móvil B: acetonitrilo; fase móvil C: metanol) para realizar una condición de gradiente de desde el 96% de A, el 2% de B y el 2% de C, hasta el 49% de B y el 49% de C en 0,9 minutos, hasta el 100% de B en 0,3 minutos y mantener durante 0,2 minutos. Se usó un volumen de inyección de 2 μl . El voltaje de cono fue de 10 V para un modo de ionización positiva y de 20 V para un modo de ionización negativa.

CL-EM - Procedimiento 5

30 Además del procedimiento general A: se fijó el calentador de columna a 45°C. Se llevó a cabo HPLC de fase inversa en una columna Atlantis C18 (3,5 μm , 4,6 x 100 mm) con una velocidad de flujo de 1,6 ml/min. Se emplearon dos fases móviles (fase móvil A: el 70% de metanol + el 30% de H₂O; fase móvil B: ácido fórmico al 0,1% en H₂O/metanol 95/5) para realizar una condición de gradiente de desde el 100% de B hasta el 5% de B + el 95% de A en 9 minutos y mantener estas condiciones durante 3 minutos. Se usó un volumen de inyección de 10 μl . El voltaje de cono fue de 10 V para un modo de ionización positiva y de 20 V para un modo de ionización negativa.

CL-EM - Procedimiento 6

40 Además del procedimiento general B: se llevó a cabo UPLC (cromatografía de líquidos de ultra resolución) de fase inversa en una columna con puente híbrido de etilsiloxano/sílice (BEH) C18 (1,7 μm , 2,1 x 50 mm; Waters Acquity) con una velocidad de flujo de 0,8 ml/min. Se usaron dos fases móviles (fase móvil A: ácido fórmico al 0,1% en H₂O/metanol 95/5; fase móvil B: metanol) para realizar una condición de gradiente de desde el 95% de A y el 5% de B hasta el 5% de A y el 95% de B en 1,3 minutos y mantener durante 0,2 minutos. Se usó un volumen de inyección de 0,5 μl . El voltaje de cono fue de 10 V para un modo de ionización positiva y de 20 V para un modo de ionización negativa.

Puntos de fusión

50 Se determinaron los puntos de fusión (p.f.) para varios compuestos con un aparato DSC823e (Mettler-Toledo). Se midieron los puntos de fusión con un gradiente de temperatura de 30°C/minuto. La temperatura máxima fue de 400°C.

Se obtuvieron valores con incertidumbres experimentales que están asociadas comúnmente con este método analítico.

55 Tabla 4: Datos analíticos - Tiempo de retención (R_t en minutos), pico $[\text{M-H}]^+$ y procedimiento de CL-EM. Cuando un compuesto es una mezcla de isómeros que dan diferentes picos en el método de CL-EM, sólo se da el tiempo de retención del componente principal en la tabla de CL-EM.

N.º de comp.	R_t	$[\text{M-H}]^+$	Procedimiento CL-EM
D1	1,07	340	4
D4	0,97	392	4

Tabla 5: Datos analíticos - Tiempo de retención (R_t en minutos), pico $[M+H]^+$, procedimiento de CL-EM y puntos de fusión (p.f. se define como punto de fusión). Cuando un compuesto es una mezcla de isómeros que dan diferentes picos en el método de CL-EM, sólo se da el tiempo de retención del componente principal en la tabla de CL-EM.

N.º de comp.	R_t	$[M+H]^+$	Procedimiento CL-EM	p.f. (°C)
D2	1,04	356	4	n.d.
E6	5,33	360	1	142,72
E1	5,51	374	1	166,04
E9	5,40	419	1	137,06
E15	5,64	374	1	133,10
E16	5,65	374	1	134,82
E5	7,66	402	3	135,00
E4	7,68	402	3	134,60
E12	8,04	388	3	120,50
E11	8,03	388	3	121,64
E2	5,67	387	1	161,99
E17	5,45	358	1	144,31
E13	5,80	388	1	141,14
E14	5,81	388	1	139,48
E18	7,26	372	3	no concluyente
E19	5,36	356	1	133,85
E20	5,76	422	1	120,54
E21	7,27	372	3	no concluyente
E3	5,95	388	1	137,96
E22	6,01	386	1	n.d.
E23	5,69	386	2	127,44
E24	5,70	386	2	no concluyente
E7	6,09	402	1	158,22
E8	5,80	388	1	152,48
E10	5,64	374	1	161,40
E26	5,34	360	1	145,29
E25	5,51	389	1	156,18
E27	5,47	374	1	no concluyente
E28	8,29	422	5	117,16
E29	6,83	387	5	158,66
E30	5,96	436	1	166,05
E31	5,46	378	1	no concluyente
E32	5,37	392	2	no concluyente
E33	5,38	392	2	237,44
E34	5,56	390	2	no concluyente
E35	6,03	390	1	no concluyente
E36	1,20	372	6	no concluyente
E37	6,68	386	5	no concluyente

E38	n.d.	n.d.	-	n.d.
E39	n.d.	n.d.	-	n.d.

n.d.: no determinado

Rotación óptica:

- 5 Se midió la rotación óptica usando un polarímetro Perkin Elmer 341. $[\alpha]_D^{20}$ indica la rotación óptica medida con luz a la longitud de onda de la línea D de sodio (589 nm) a una temperatura de 20°C. La longitud de trayectoria de célula es de 1 dm. Detrás del valor real se mencionan la concentración y el disolvente de la disolución que se usó para medir la rotación óptica.

- 10 Tabla 6: Datos analíticos - Rotación óptica

N.º de comp.	$[\alpha]_D^{20}$	concentración	disolvente
E6	+47,42°	0,4660% p/v	MeOH
E2	+51,10°	0,4286% p/v	MeOH
E1	+45,63°	0,4624% p/v	MeOH
E15	-41,99°	0,3882% p/v	MeOH
E16	+41,69°	0,5494% p/v	MeOH
E17	+49,47°	0,2850% p/v	MeOH
E18	-46,63°	0,4396% p/v	MeOH
E19	+44,52°	0,4358% p/v	MeOH
E5	+36,74°	0,3402% p/v	MeOH
E9	+41,82°	0,3826% p/v	MeOH
E4	-36,39°	0,3188% p/v	MeOH
E12	+37,42°	0,3474% p/v	MeOH
E11	-38,53°	0,3348% p/v	MeOH
E13	-40,97°	0,2880% p/v	MeOH
E26	-46,37°	0,3860% p/v	MeOH
E25	-42,42°	0,4856% p/v	MeOH
E14	+38,69°	0,3076% p/v	MeOH
E20	+42,58°	0,4674% p/v	MeOH
E21	+47,41°	0,4134% p/v	MeOH
E23	-44,30°	0,4740% p/v	MeOH
E24	+44,62°	0,4370% p/v	MeOH
E27	-46,37°	0,4982% p/v	MeOH
E28	-42,10°	0,4822% p/v	MeOH
E29	-50,75°	0,3448% p/v	MeOH
E30	+41,04°	0,2924% p/v	MeOH
E37	+24,34°	0,3944% p/v	MeOH

D. EJEMPLOS FARMACOLÓGICOSEjemplo D.1: obtención de imágenes con flujo de Ca^{2+} (FDSS)5 *Materiales*

a) Tampón de ensayo

10 Solución salina tamponada de Hanks (HBSS, Invitrogen, Bélgica), complementada con HEPES 10 mM (Invitrogen, Bélgica), CaCl_2 hasta una concentración final de 5 mM, albúmina de suero bovino al 0,1% (Sigma-Aldrich NV, Bélgica).

b) Colorante sensible a calcio - Fluo-4AM

15 Se disolvió Fluo-4AM (Molecular Probes, EE.UU.) en DMSO que contenía ácido plurónico al 10% (Molecular Probes, EE.UU.) dando una disolución madre que se diluyó en tampón de ensayo complementado con probenidol 5 mM (Sigma, Aldrich NV, Bélgica) para dar una concentración final de 2 μM .

c) Placas de 384 pocillos

20 Placas negras/transparentes de placa de 384 pocillos negra, precubiertas con PDL (Coming, Incorporated, EE.UU.).

d) Medición de flujo de calcio

25 Se usó un sistema de exploración de fármacos funcional (FDSS, Hamamatsu) para medir señales de flujo de calcio libre intracelulares.

Método

30 Se cultivaron monocapas de células GH4Cl que expresan nAChR $\alpha 7$ -wt en placas de múltiples pocillos, en particular placas de 384 pocillos de fondo transparente, con lado negro, recubiertas con poli-D-lisina durante 24 horas antes de la carga con un indicador de calcio fluorescente, en una realización particular cargando con fluo-4AM durante hasta 120 minutos.

35 Se detectó la actividad de PAM en tiempo real aplicando el compuesto que iba a someterse a prueba a las células cargadas junto con un agonista de receptor nicotínico $\alpha 7$ durante monitorización constante de la movilización de calcio celular mediante fluorescencia en un FDSS. Se consideró que compuestos que daban respuestas fluorescentes máximas mayores que la respuesta debida a agonista solo, eran PAM de nAChR $\alpha 7$. En una realización particular, el agonista de receptor nicotínico $\alpha 7$ fue colina, una realización más particular aplicaba colina a una concentración inferior a la máxima de 100 μM . En una configuración adicional de la presente invención se aplicaron los compuestos que iban a someterse a prueba antes que el agonista de receptor nicotínico $\alpha 7$, en una realización particular hasta 10 minutos antes que el agonista.

45 Se calculó una respuesta control a colina en cada placa a partir de la diferencia en pico en fluorescencia en pocillos que recibían o bien colina o bien tampón de ensayo solo. Se sometieron a prueba los compuestos de la presente invención a un intervalo de concentración de desde 0,01 μM hasta 30 μM . Se consideró que los compuestos tenían una actividad interesante cuando potenciaban la señal de colina al menos con un 200% cuando se sometían a prueba a una concentración de 30 μM (la eficacia de colina 100 μM se definió como el 100% en ausencia de un PAM).

50 Se estimaron los valores de CE_{50} (potencia), efecto máximo (% de eficacia) y pendientes de Hill ajustando la ecuación sigmoidea en relación con los datos usando GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Se determinó una CE_{50} (o pCE_{50}) como una concentración en relación con la mitad del efecto máximo, cuando se obtuvo una curva sigmoidea clara con meseta superior.

60 Los compuestos de la presente invención también tienen un efecto de potenciación sobre la respuesta a colina cuando se mide mediante electrofisiología de fijación de voltaje de célula completa en células GH4Cl que sobreexpresan de manera estable el receptor $\alpha 7$ de tipo natural humano, tal como se describe a continuación en el presente documento.

Ejemplo D.2: Registro de fijación de voltaje de célula completa

65 El registro de fijación de voltaje de célula completa de células de mamífero ha proporcionado un medio potente para evaluar la función de proteínas de membrana que se cree que son subunidades de canales iónicos regulados por

ligando. La activación de tales proteínas mediante ligandos endógenos o exógenos provoca la apertura de un poro asociado con el receptor a través del cual fluyen iones hacia abajo de su gradiente electroquímico. En el caso de la línea celular recombinante GH4C1 que expresa nAChR $\alpha 7$ -wt, la permeabilidad preferencial a calcio de este receptor significa que el calcio fluye al interior de la célula tras la activación mediante ACh, colina y otros ligandos nicóticos dando lugar a una corriente de calcio. Puesto que este receptor se desensibiliza rápidamente en presencia de un agonista, es importante que se use un sistema de aplicación que pueda cambiar muy rápidamente de disoluciones (< 100 ms) para impedir una desensibilización parcial o completa de respuestas de receptor coincidentes con el momento de aplicación del agonista. Por consiguiente, una segunda técnica conveniente para evaluar la potenciación de la eficacia nicotínica es el registro de fijación de voltaje de célula completa de células GH4C1 que expresan nAChR $\alpha 7$ -wt acoplado con un sistema de aplicación rápida.

Material

a) Tampones de ensayo

La disolución de registro externo consistía en NaCl 152 mM, KCl 5 mM, MgCl₂ 1 mM, calcio 1 mM, HEPES 10 mM; pH 7,3. La disolución de registro interno consistía en CsCl 140 mM, HEPES 10 mM, EGTA 10 mM, MgCl₂ 1 mM, pH 7,3.

b) Se llevaron a cabo registros electrofisiológicos de fijación de voltaje usando un amplificador de registro electrofisiológico de fijación de voltaje (Multiclamp 700A, Axon Instruments, CA, EE.UU.). Se fijó el voltaje del potencial de membrana de células GH4C1 que expresan nAChR $\alpha 7$ -wt en la configuración de célula completa (Hamill *et al*, 1981) con un electrodo de vidrio de borosilicato con una resistencia de punta de 1,5-3 M Ω cuando se llena con la disolución de registro interno. Se realizaron registros en células con resistencia de membrana >500 M Ω y más preferiblemente 1 G Ω y resistencia en serie <15 M Ω con al menos el 60% de compensación de resistencia en serie. Se fijó el potencial de membrana a -70 mV.

c) Agonistas

Se adquirieron ACh, colina de Sigma-Aldrich NV, Bélgica.

d) Aplicación de compuesto

Se usó un sistema de microfluidos Dynflow DF-16 de 16 canales (Celletricon, Suecia) para cambio rápido de disoluciones (tiempo de resolución de cambio <100 ms) para aplicar control, agonista y compuestos PAM a células GH4C1 que expresan nAChR $\alpha 7$ -wt.

Método

Se sembraron en placa células GH4C1 que expresan nAChR $\alpha 7$ -wt en disolución de registro externo en la cámara de perfusión Dynaflo y se dejaron reposar durante hasta 20 minutos. Se sometieron células individuales a registro electrofisiológico de fijación de voltaje como células completas y se desprendieron suavemente del fondo de la cámara con la pipeta de registro fisiológico de fijación de voltaje en una corriente de perfusión de flujo continuo (0,75 μ l/min.) de disolución de registro externo. Se detectó la actividad de PAM en tiempo real mediante la aplicación previa de los compuestos que iban a someterse a prueba a las células cargadas seguida por un agonista de receptor nicotínico $\alpha 7$ durante monitorización constante de corriente de membrana celular. Se consideró que compuestos que daban respuestas de corriente mayores que la respuesta debida a agonista solo eran PAM de nAChR $\alpha 7$. En una realización particular, se activó el agonista de receptor nicotínico $\alpha 7$ mediante un agonista nicotínico no selectivo, en una realización más particular el agonista era colina, y una realización incluso más particular aplicó colina a una concentración inferior a la máxima de 1 mM. En una configuración adicional de la presente invención se aplicaron los compuestos que iban a someterse a prueba antes que el agonista de receptor nicotínico $\alpha 7$, en una realización más particular hasta 30 segundos antes que el agonista. Se calculó una respuesta control a partir del área bajo la curva de la corriente provocada en cada célula para una aplicación de colina inferior a la máxima durante 250 ms. El área bajo la curva es la integración de la corriente neta a lo largo del tiempo y es una representación común del flujo de iones total a través del canal. Se calcularon aumentos en la eficacia de agonista provocados por un modulador alostérico positivo como porcentaje de potenciación del "área bajo la curva" (AUC) de la respuesta a agonista. Una potenciación mayor que el AUC de control provocada por los compuestos de la invención indica que se espera que tengan una actividad terapéutica útil.

Tabla 7: Potencia (pCE_{50}) y % de eficacia para varios compuestos.

N.º de compuesto	pCE_{50}	% de eficacia	Tipo de PAM
E15	6,17	1580	1
E17	5,92	4040	2
E2	6,45	1150	2
E6	6,02	2200	2
E1	6,23	1680	2
E9	6,03	1000	2
E14	6,50	1400	2
E16	6,38	4580	2
E11	6,45	1150	1
E12	6,58	2160	2
E4	6,68	1010	n.d.
E5	6,69	1920	2
E13	6,61	490	1
E18	5,89	1260	1
E19	5,71	2460	2
E20	6,67	4660	4
E21	6,08	3500	2
E25	6,16	1390	1
E26	6,11	580	1
E23	6,05	1640	1
E24	6,07	4570	2
E27	6,00	1270	2
E28	5,75	5210	2
E29	5,99	2010	1
E30	6,70	3940	2
E31	6,26	3050	2
E32	6,29	2600	2
E33	6,36	1560	n.d.
E34	6,50	2520	2
E35	6,33	1900	2
E36	5,68	4260	2
E37	5,80	1420	2
E38	n.d.	n.d.	n.d.
E39	n.d.	n.d.	n.d.

5 Los compuestos de tipo 1 potencian el tamaño del efecto de la corriente provocada por colina 1 mM pero alteran mínimamente la cinética del receptor. En particular, no se afecta la tasa ni el grado de desensibilización provocada por el agonista. Por tanto, la respuesta modulada por el compuesto a colina 1 mM es una escala próxima a la lineal de la respuesta a colina 1 mM en ausencia del compuesto PAM $\alpha 7$.

10 Los compuestos de tipo 2 potencian el tamaño del efecto de la corriente provocada por colina 1 mM mientras que reducen la tasa y/o el grado de desensibilización.

Los compuestos de tipo 3 potencian el tamaño del efecto de la corriente provocada por colina 1 mM. Cuando se someten a prueba a concentraciones superiores de hasta 10 μ M inhiben completamente la desensibilización, en particular una aplicación de colina 1 mM de 250 milisegundos.

- 5 Los compuestos de tipo 4 permiten una desensibilización inicial del receptor seguida por una reapertura del receptor durante la aplicación del agonista. A concentraciones de baja potencia del compuesto PAM α 7, la activación inducida por agonista, que va seguida por desensibilización, todavía puede separarse de la reapertura inducida por compuesto como un máximo de corriente de entrada inicial. A concentraciones de potencia superior del compuesto PAM α 7, la reapertura se produce más rápido que el cierre debido a desensibilización de modo que desaparece el
- 10 máximo de corriente inicial.

Sorprendentemente, la estereoquímica absoluta tiene un impacto sobre el tipo de modulación: en casi todos los casos los compuestos levógiros, que supuestamente tienen todos una configuración R absoluta, son moduladores de tipo 1, mientras que los compuestos dextrógiros correspondientes, que supuestamente tienen todos una configuración S absoluta, son moduladores de tipo 2. Sin embargo, de manera inesperada, el compuesto levógiro E28 es un modulador de tipo 2, mientras que el compuesto dextrógiro correspondiente E20 es un modulador de tipo

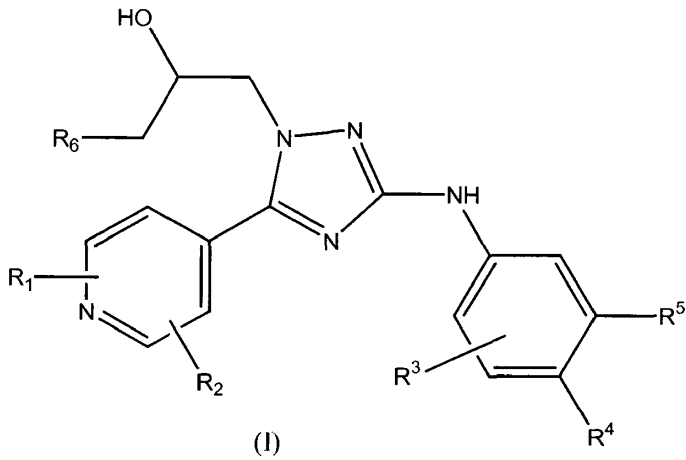
15 4.

Ejemplo D.3: hERG

- 20 La afinidad de unión de todos los compuestos sometidos a prueba de la presente invención en el canal de potasio hERG está por encima de 10 μ M ($pCl_{50} < 5$).

REIVINDICACIONES

1. Compuesto según la fórmula (I)



5

o una forma estereoisomérica del mismo, en la que:

R¹ es metilo, etilamino o metoxietilamino;

10

R² es hidrógeno o metilo;

R³ es fluoro, cloro, trifluorometilo o metilo;

15

R⁴ es hidrógeno o fluoro;

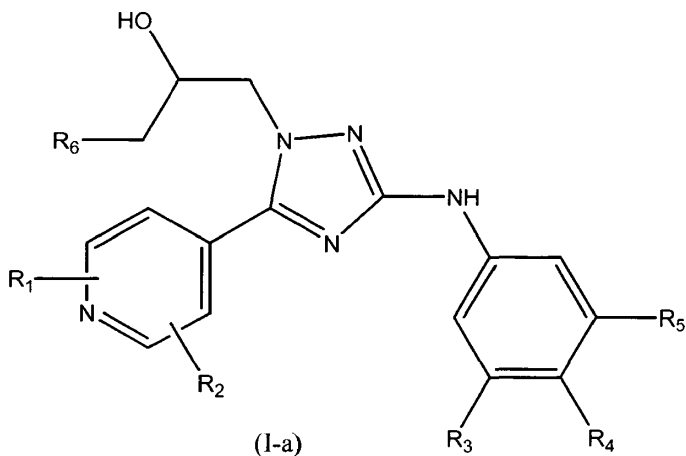
R⁵ es hidrógeno, fluoro, cloro o metoxilo;

20

R⁶ es alquilo C₁₋₃;

o una sal o un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Compuesto según la reivindicación 1 de fórmula (I-a)



25

o una forma estereoisomérica del mismo, en la que:

R¹ es metilo, etilamino o metoxietilamino;

30

R² es hidrógeno o metilo;

R³ es fluoro, cloro, trifluorometilo o metilo;

35

R⁴ es hidrógeno o fluoro;

R⁵ es hidrógeno, fluoro o metoxilo;

R⁶ es alquilo C₁₋₃;

5 o una sal o un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Compuesto según la reivindicación 1 o una forma estereoisomérica del mismo, en el que:

10 R¹ es 2-metilo, 2-etilamino o 2-metoxietilamino;

R² es hidrógeno o 6-metilo;

15 R³ es fluoro, cloro, trifluorometilo o metilo;

R⁴ es hidrógeno o fluoro;

R⁵ es hidrógeno, fluoro, cloro o metoxilo;

20 R⁶ es alquilo C₁₋₃;

o una sal o un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Compuesto según la reivindicación 1 o una forma estereoisomérica del mismo, en el que:

25 R¹ es 2-metilo, 2-etilamino o 2-metoxietilamino;

R² es hidrógeno o 6-metilo;

30 R³ es fluoro, cloro, trifluorometilo o metilo;

R⁴ es hidrógeno o fluoro;

R⁵ es hidrógeno, fluoro, cloro o metoxilo;

35 R⁶ es metilo;

o una sal o un hidrato o un solvato farmacéuticamente aceptable del mismo.

40 5. Compuesto según la reivindicación 1, siendo el compuesto:

(S)-1-[3-(3,4-difluoro-fenilamino)-5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

45 (R)-1-[3-(3-cloro-fenilamino)-5-(2-etilamino-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

(S)-1-[5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-3-(3-metoxi-5-trifluorometil-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

sal de HCl de (S)-1-[3-(3-fluoro-5-metoxi-fenilamino)-5-(2-metil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

50 (S)-1-[3-(3-fluoro-5-metoxi-fenilamino)-5-(2-metil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

sal de HCl de (S)-1-[5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-3-(3-fluoro-5-metoxi-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

55 (S)-1-[5-(2,6-dimetil-piridin-4-il)-3-(3-fluoro-5-metoxi-fenilamino)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

o (S)-1-[3-(4-fluoro-3-metil-fenilamino)-5-(2-metil-piridin-4-il)-[1,2,4]triazol-1-il]-butan-2-ol,

incluyendo cualquier forma estereoisomérica de los mismos o una sal de adición o un solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos.

60 6. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para su uso como medicamento.

7. Compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso en el tratamiento o la prevención de una enfermedad o estado seleccionado de trastornos psicóticos, enfermedades o trastornos de deficiencia intelectual, estados o enfermedades inflamatorias en las que la modulación del receptor nicotínico $\alpha 7$ es beneficiosa.

65

8. Composición farmacéutica que comprende un portador farmacéuticamente aceptable y como principio activo una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

5 9. Proceso de preparación de una composición según la reivindicación 8, caracterizado porque se mezcla íntimamente un portador farmacéuticamente aceptable con una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5.

10. Producto que comprende:

10 (a) un compuesto según la reivindicación 1, y

(b) un agonista de receptor nicotínico $\alpha 7$,

15 como una preparación combinada para su uso simultáneo, separado o secuencial en la prevención o el tratamiento de enfermedades en las que la modulación del receptor nicotínico $\alpha 7$ es beneficiosa.