

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 483 728**

51 Int. Cl.:

**C07D 471/14** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **06.06.2008 E 08770412 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.05.2014 EP 2166853**

54 Título: **Derivados terapéuticos de pirazonafatiridina**

30 Prioridad:

**08.06.2007 US 943000 P**

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

**07.08.2014**

73 Titular/es:

**DART NEUROSCIENCE (CAYMAN) LTD (100.0%)  
10 Market Street, No.771, Camana Bay  
Grand Cayman KY1-9006 , KY**

72 Inventor/es:

**KAPLAN, ALAN, P. ;  
GUPTA, VARSHA y  
WASLEY, JAN, W., F.**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

**ES 2 483 728 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

Derivados terapéuticos de pirazonafatiridina

### Antecedentes de la invención

#### Campo de la invención

- 5 La presente invención se refiere al uso de nuevos derivados de pirazonafatiridinas como moduladores de GABA<sub>A</sub>  $\alpha$ 5 para el uso previsto de terapia para potenciar la cognición.

#### Descripción de la técnica relacionada

10 El neurotransmisor inhibidor ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA) sirve como ligando para dos clases distintas de receptores, GABA<sub>A</sub> y GABA<sub>B</sub>. La clase GABA<sub>A</sub> es un canal iónico dependiente de ligando, mientras que GABA<sub>B</sub> es un receptor canónico acoplado a proteína G con siete dominios transmembrana. El receptor GABA<sub>A</sub> está comprendido por un número de subunidades, incluyendo  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y  $\delta$ . La clonación de las subunidades individuales del receptor GABA<sub>A</sub> ha confirmado la existencia, hasta ahora, de seis subunidades  $\alpha$ , tres subunidades  $\beta$ , tres subunidades  $\gamma$  y una subunidad  $\delta$ . La estructura global del receptor es un pentámero con un requisito mínimo de subunidades de al menos una subunidad  $\alpha$ , una subunidad  $\beta$  y una subunidad  $\gamma$ .

15 Debido a la diversidad de subunidades mencionada anteriormente, existen más de 10.000 combinaciones posibles de las subunidades que comprenden el receptor GABA<sub>A</sub>, aunque no todas aparecen en la naturaleza. Combinaciones específicas que se ha identificado que tienen importancia biológica (y su abundancia relativa en cerebros de rata) incluyen  $\alpha$ 1 $\beta$ 2 $\gamma$ 2 (43 %),  $\alpha$ 2 $\beta$ 2/3 $\gamma$ 2 (18 %),  $\alpha$ 3 $\beta$  $\gamma$ 2/3 (17 %),  $\alpha$ 2 $\beta$  $\gamma$ 1 (8 %),  $\alpha$ 5 $\beta$ 3 $\gamma$ 2/3 (4 %),  $\alpha$ 6 $\beta$  $\gamma$ 2 (2 %),  $\alpha$ 6 $\beta$  $\delta$  (2 %) y  $\alpha$ 4 $\beta$  $\delta$  (3 %) (Barnard, E. A., y col., (1998) Pharmacol. Rev. 50: 291 - 313).

20 Existe una serie de distintos sitios de unión a moléculas pequeñas en el receptor GABA<sub>A</sub> que modulan la actividad del receptor, incluyendo los sitios para benzodiazepinas, esteroides, barbitúricos, etanol y convulsivos (p. ej., picrotoxina). El sitio de unión a GABA se localiza en la interfaz  $\alpha$ / $\beta$ . Se ha invertido una enorme cantidad de investigación farmacéutica en la identificación de compuestos que se unen al sitio de unión a benzodiazepinas (sitio BZ) que se localiza en la interfaz  $\alpha$ / $\gamma$ . La unión del GABA está modulada considerablemente mediante la unión de fármacos al sitio BZ, que puede producir una serie de respuestas farmacológicas diferentes. Los fármacos como diazepam y zolpidem, agonistas de la función del GABA<sub>A</sub>, han demostrado un histórico éxito como agentes ansiolíticos (Muller, W.E. (1988) Drugs of Today 24: 649 - 663). Trabajos más recientes han sugerido que los efectos sedantes e hipnóticos de estos fármacos se deben principalmente a la interacción con los receptores que contienen  $\alpha$ 1, por tanto, se ha enfocado mucho esfuerzo sobre la búsqueda de fármacos que posean una actividad preferencial por  $\alpha$ 2 $\beta$ 2 $\gamma$ 2 y  $\alpha$ 3 $\beta$  $\gamma$ 2 sobre  $\alpha$ 1 $\beta$  $\gamma$ 2, con el fin de mantener la actividad ansiolítica reduciendo los efectos secundarios sedantes (Rudolph, U.F., y col., (1999) Nature 401: 796 - 800 ; Löw, K.F., y col., (2000) Science 290: 131 - 134 ; McKernan, R.M., y col., (2000) Nat. Neurosci. 3: 587 - 592 ).

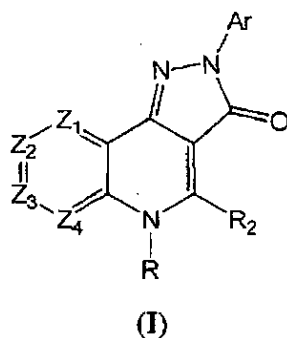
35 La subunidad  $\alpha$ 5 se encuentra principalmente en el hipocampo, una parte del cerebro que desempeña una función en la memoria y la navegación espacial. Como resultado, mucha investigación se ha centrado en identificar vínculos entre la función del receptor de GABA que contiene  $\alpha$ 5 y la cognición. Los resultados de una serie de laboratorios han indicado que el agonismo inverso selectivo del receptor GABA<sub>A</sub>  $\alpha$ 5 $\beta$  $\gamma$ 2/3 pueden mostrar una marcada mejora de la función de la memoria en una serie de modelos animales. Se ha producido un número creciente de ejemplos de agonistas inversos en la bibliografía de patentes y en la científica (Yokoyama, N., y col., (1982) J. Med. Chem. 25: 337 - 339; Takada, S., y col., (1988) J. Med. Chem. 31: 1738 - 1745 ; Atack, J.R., y col., (2006) European Journal of Pharmacology 548: 77 - 82). Un perfil preferible para un potenciador de la cognición es uno que muestra modulación negativa en  $\alpha$ 5, pero con menos modulación de  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2 o  $\alpha$ 3 para minimizar los efectos secundarios, tales como convulsión o sedación. Hasta ahora no se ha comercializado ningún modulador negativo de GABA<sub>A</sub> selectivo de  $\alpha$ 5 y se ha investigado únicamente un número limitado en ensayos clínicos con seres humanos.

45 Los moduladores de  $\alpha$ 5 GABA<sub>A</sub> que están relacionados estructuralmente con los compuestos de la presente invención se divulgan en el documento WO 99/06401.

### Sumario de la invención

En el presente documento se describe la composición y uso de una nueva serie química que se ha demostrado que se une al sitio de benzodiazepinas en el receptor GABA<sub>A</sub> y modula de forma negativa el subtipo  $\alpha$ 5 de GABA<sub>A</sub>. La estructura general de fórmula I se muestra a continuación:

50



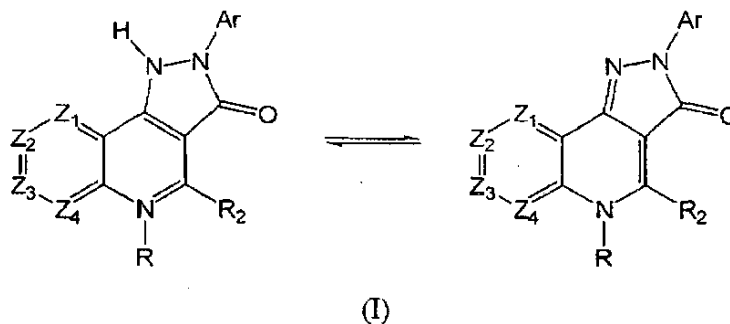
Los compuestos de la Fórmula I abarcan todos los posibles tautómeros de las estructuras químicas y mezclas de los mismos.

5 **Realizaciones, aspectos y variaciones de la invención**

En las estructuras siguientes se reconoce, cuando una fórmula está representada como una mezcla de dos estructuras tautoméricas, que las definiciones de "R" pueden ser diferentes en la estructura de la izquierda que en la estructura de la derecha. Por ejemplo, en un compuesto de fórmula I), en la estructura de la izquierda, la definición de "R" puede estar ausente y en la estructura de la derecha la definición de "R" puede ser hidrógeno. Los compuestos representados por las estructuras tautoméricas pueden existir en todas las posibles formas tautoméricas y mezclas de las mismas. Adicionalmente, los compuestos no necesitan existir en ambas formas tautoméricas. Un compuesto que puede estar representado por la estructura trazada, en equilibrio o no, entra dentro de la presente divulgación.

15 Se reconoce que para algunas fórmulas se trazan dos formas tautoméricas. Por simplicidad, en algunos lugares (incluidas las reivindicaciones), solo la forma tautomérica a la derecha se traza para una fórmula indicada, con esto no se excluye la otra forma tautomérica. En los lugares en los que solo se traza una forma tautomérica para una fórmula, también se contempla la otra forma tautomérica.

Una realización de la invención proporciona un compuesto de fórmula (I):



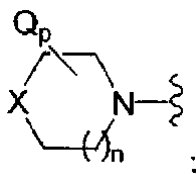
20 en la que:

R está ausente, hidrógeno u óxido;

Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>, Z<sub>3</sub> y Z<sub>4</sub> son cada uno de forma independiente N, o C(R<sub>1</sub>), en las que al menos uno de Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>, Z<sub>3</sub> o Z<sub>4</sub> son N y al menos dos de Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>, Z<sub>3</sub>, o Z<sub>4</sub> son C(R<sub>1</sub>);

25 cada R<sub>1</sub> se selecciona de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, ciano, B<sup>1</sup>, -CONR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, -NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo, heteroarilo, heterociclo, aminoalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor y alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor, en la que al menos un R<sub>1</sub> es B<sup>1</sup>;

B<sup>1</sup> es



30

$R_2$  se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, hidroxialquilo ( $C_1-C_6$ ), alquilo ( $C_1-C_6$ ) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor y alcoxi ( $C_1-C_6$ ) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor;

cada  $R_a$  y  $R_b$  es, de forma independiente, hidrógeno, alquilo ( $C_1-C_6$ ), arilo, heteroarilo, heterociclo, alquilarilo ( $C_1-C_6$ ),  $-S(O)_z$ alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-S(O)_z$ arilo,  $-C(O)$ alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-C(O)NR_g$ alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-C(O)NR_g$ arilo,  $-C(O)O$ alquilo ( $C_1-C_6$ ), ariloOC(O)- o ariloC(O)-, o  $R_a$  y  $R_b$  se toman junto con el nitrógeno al que están unidos para formar un grupo heterociclo sustituido opcionalmente con uno o más  $R_d$ ; en el que el grupo heterociclo incluye opcionalmente uno o más grupos seleccionados de O (oxígeno), S (azufre) y  $NR_c$ ;

cada  $R_c$  es, de forma independiente, hidrógeno, alqueno ( $C_2-C_6$ ), alquino ( $C_2-C_6$ ),  $-C(O)O$ alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-C(O)O$ arilo, ( $C_1-C_6$ )alcoxi alquilo ( $C_1-C_6$ ), hidroxialquilo ( $C_1-C_6$ ), arilo, heteroarilo, heterociclo, ariloOalquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-C(O)NR_g$ alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-C(O)NR_g$ arilo,  $-S(O)_z$ alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-S(O)_z$ arilo,  $-C(O)$ alquilo ( $C_1-C_6$ ), ariloC(O)-, alquilo ( $C_1-C_6$ ) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor o alcoxi ( $C_1-C_6$ ) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor;

cada  $R_d$  se selecciona de forma independiente de halo, oxo, hidroxilo,  $-C(O)NR_eR_f$ ,  $-NR_eR_f$ , hidroxialquilo ( $C_1-C_6$ ), arilo, arilalquilo ( $C_1-C_6$ ), alquilo ( $C_1-C_6$ ) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor, o alcoxi ( $C_1-C_6$ ) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor;

cada  $R_e$  y  $R_f$  se selecciona de forma independiente de hidrógeno, alquilo ( $C_1-C_6$ ), arilo, heteroarilo, heterociclo, alquilarilo ( $C_1-C_6$ ), arilalquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-C(O)$ alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-S(O)_z$ alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-S(O)_zNR_g$ alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-S(O)_z$ arilo,  $-C(O)NR_g$ alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-C(O)$ alquilo ( $C_1-C_6$ ), arilo C(O)-, arilo OC(O)-, o  $-C(O)O$ alquilo ( $C_1-C_6$ );

$R_g$  es hidrógeno, arilo, heteroarilo, heterociclo o alquilo ( $C_1-C_6$ ) opcionalmente sustituido con hasta 5 átomos de flúor;

$Ar$  es arilo opcionalmente sustituido con uno o más  $M$  o heteroarilo sustituido con uno o más  $M$ ;

cada  $Q$  se selecciona de forma independiente de hidrógeno, halo, oxo, hidroxilo,  $-C(O)NR_aR_b$ ,  $-NR_aR_b$ , alquilo ( $C_1-C_6$ ) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor, alcoxi ( $C_1-C_6$ ) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor, alquilo ( $C_1-C_6$ ) sustituido opcionalmente con uno o más  $R_d$ , hidroxialquilo ( $C_1-C_6$ ) sustituido opcionalmente con uno o más  $R_d$ , arilo sustituido opcionalmente con uno o más  $R_d$ , o arilalquilo ( $C_1-C_6$ ) sustituido opcionalmente con uno o más  $R_d$ ;

cada  $M$  es, de forma independiente, hidrógeno, halo,  $CF_3$ ,  $CF_2H$ , hidroxilo, ciano, nitro, alquilo ( $C_1-C_6$ ), hidroxialquilo ( $C_1-C_6$ ), alcoxi ( $C_1-C_6$ ),  $-NR_aR_b$ , arilo, heteroarilo o heterociclo;

cada  $X$  es independientemente  $NL$ , oxígeno,  $C(Q)_2$ , o  $S(O)_z$ ;

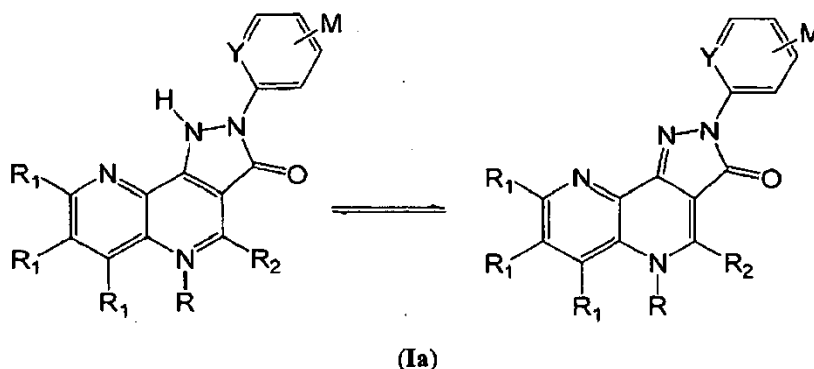
cada  $L$  es, de forma independiente, hidrógeno, alqueno ( $C_2-C_6$ ), alquino ( $C_2-C_6$ ),  $-C(O)O$ alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-C(O)O$ arilo, alcoxi ( $C_1-C_6$ ) alquilo ( $C_1-C_6$ ), hidroxialquilo ( $C_1-C_6$ ), arilo, heteroarilo, heterociclo, arilo-O-alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-CONR_eR_f$ ,  $-S(O)_z$ alquilo ( $C_1-C_6$ ),  $-S(O)_z$ arilo,

$p$  es un número entero seleccionado de 0, 1, 2 y 3;

$y$  es un número entero seleccionado de 0, 1 y 2; y

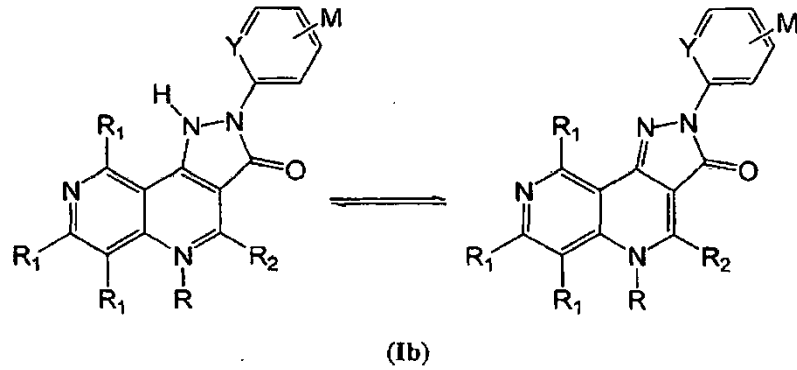
$n$  es un número entero seleccionado de 0, 1 y 2.

En una realización, el compuesto tiene la fórmula Ia:



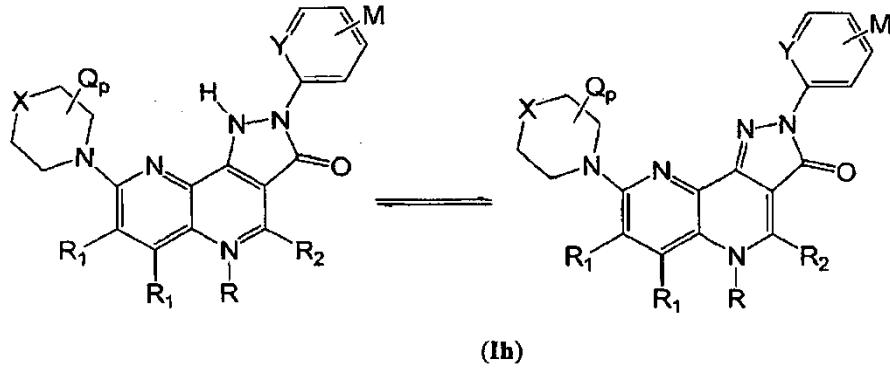
o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que Y es CM o N. En una realización, X puede ser NL.

En otra realización, el compuesto tiene la fórmula **Ib**:



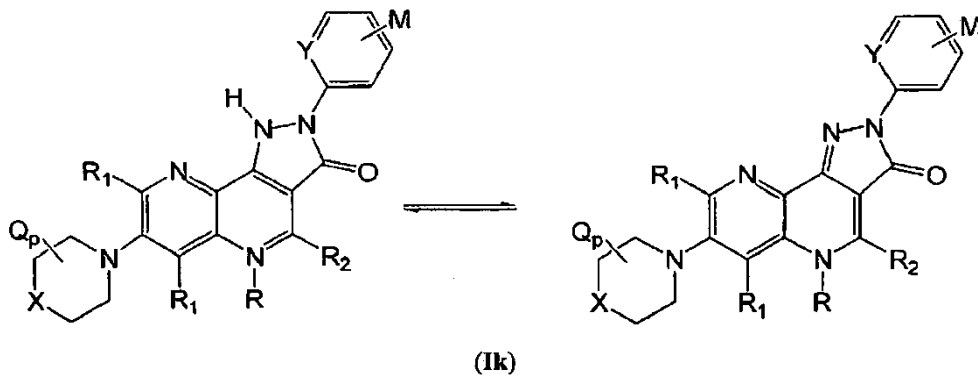
5 y tautómeros del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que Y es CM o N. En una realización, X puede ser NL.

En otra realización, el compuesto tiene la fórmula **(Ih)**



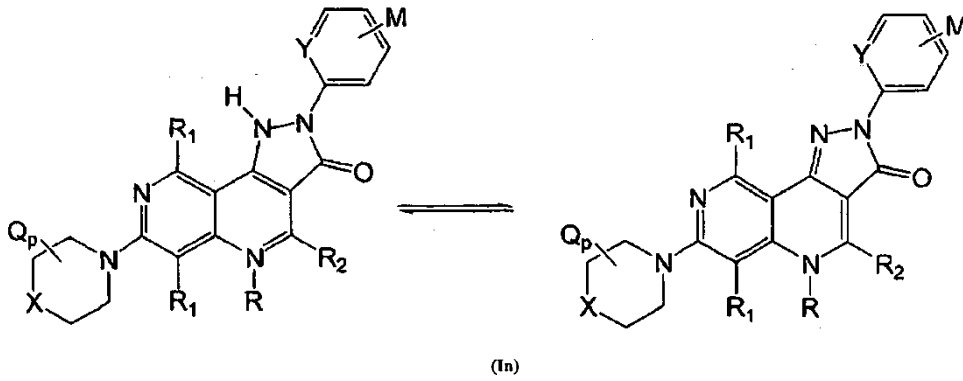
o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que Y es CM o N.

10 En otra realización, el compuesto tiene la fórmula **(Ik)**



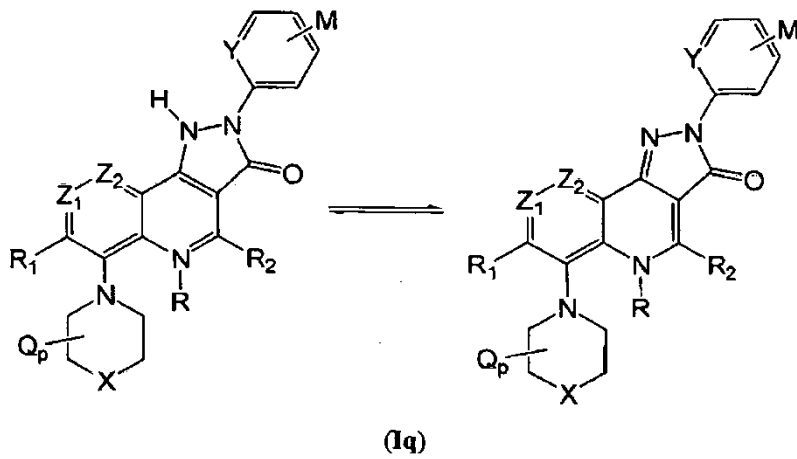
o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que Y es CM o N.

En otra realización, el compuesto tiene la fórmula (In)



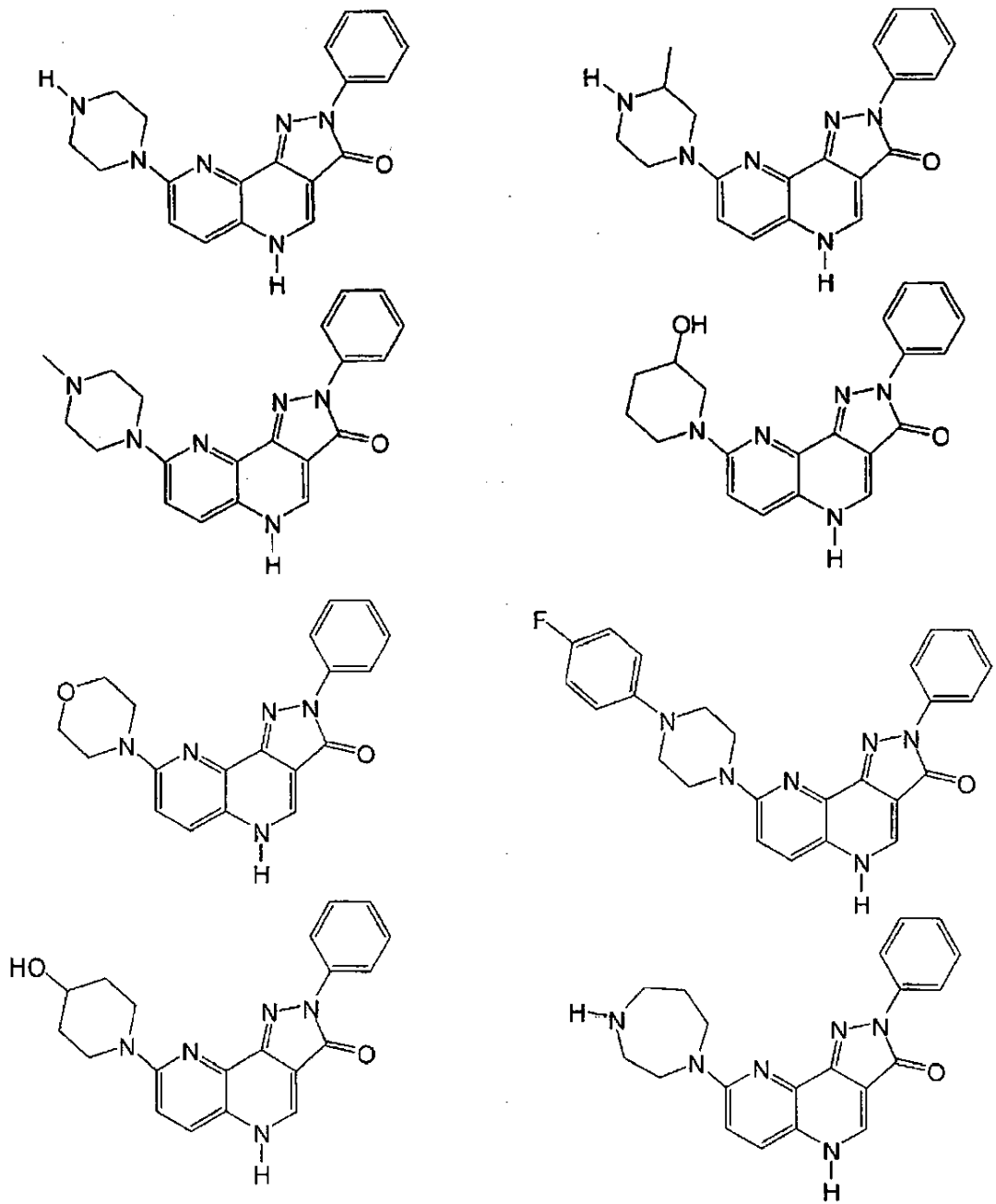
5 **(In)** o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que Y es CM o N.

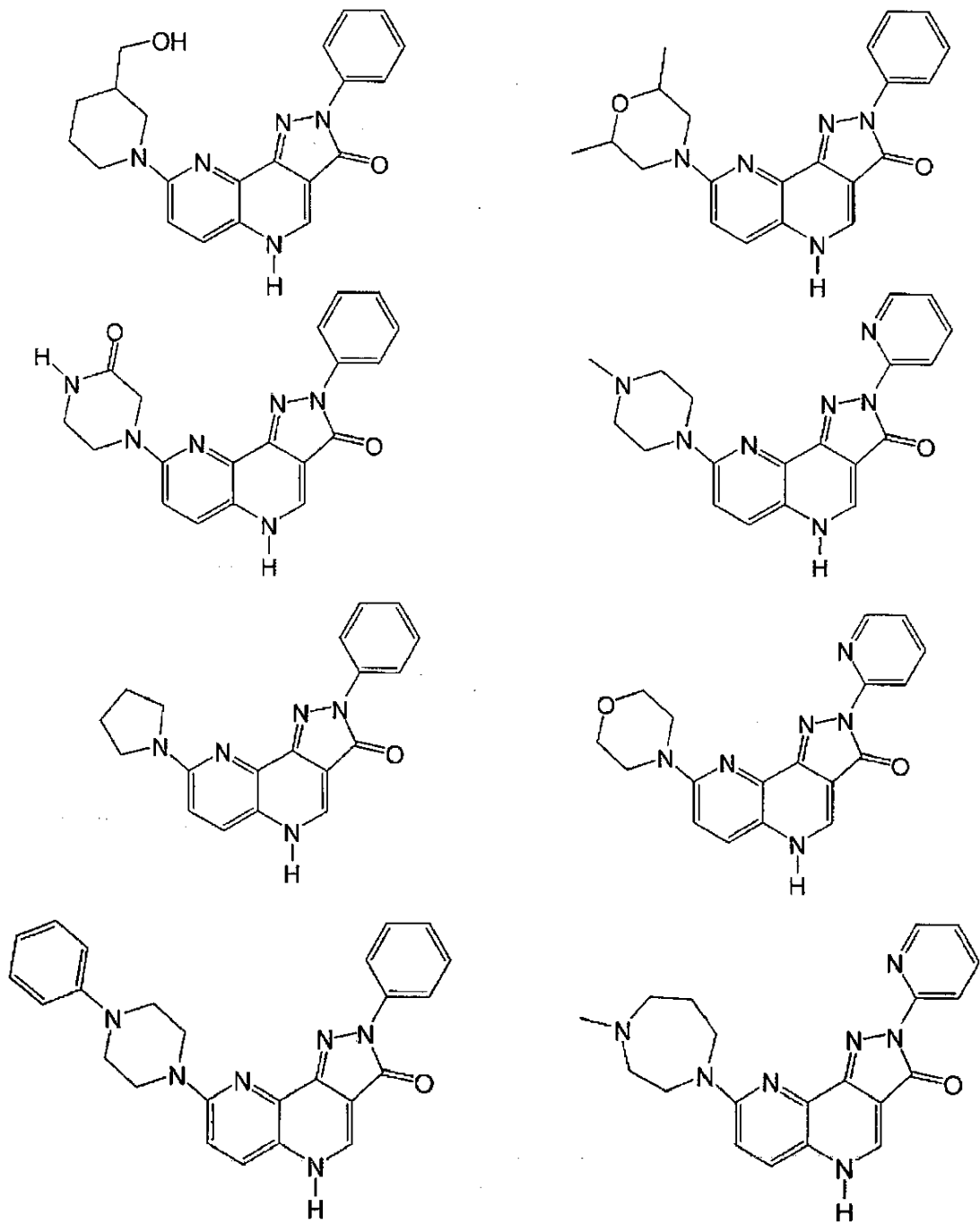
En otra realización, el compuesto tiene la fórmula (Iq)



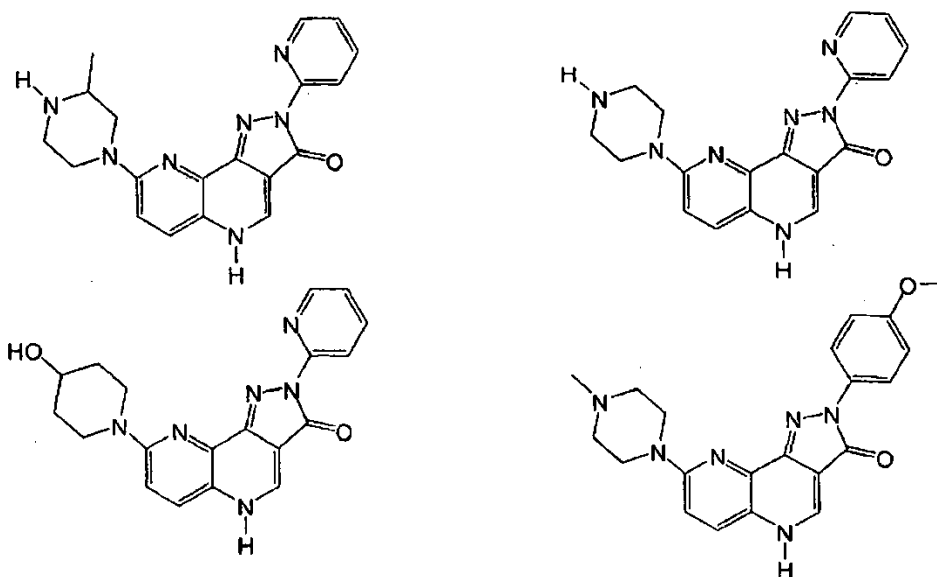
10 o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que Y es CM o N.

En otra realización, el compuesto se selecciona del grupo que consiste en:

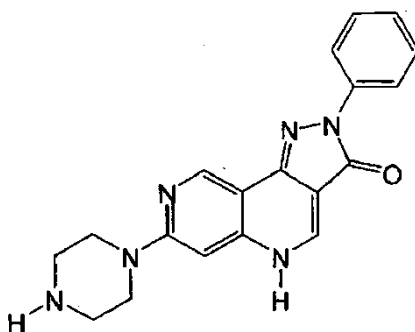








y



5

o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables.

Algunas realizaciones divulgadas en el presente documento se refieren al uso de los compuestos de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos para la fabricación de un medicamento útil para la modulación de uno o más subtipos de GABA<sub>A</sub> en un animal. En una forma de realización, la modulación puede ser negativa. En otra forma de realización, la modulación puede ser positiva. En una forma de realización del método, los subtipos de GABA<sub>A</sub> es GABA<sub>A</sub> α5.

Algunas realizaciones divulgadas en el presente documento se refieren al uso de los compuestos de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos para la fabricación de un medicamento útil para el tratamiento de una disfunción cognitiva en un animal.

Algunas realizaciones divulgadas en el presente documento se refieren al uso de los compuestos de la presente invención o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos para la fabricación de un medicamento útil para el tratamiento de trastornos psiquiátricos en un animal. En una forma de realización, el trastorno psiquiátrico es un trastorno de ansiedad, un trastorno del sueño, depresión o esquizofrenia.

Algunas realizaciones divulgadas en el presente documento se refieren al uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para la fabricación de un medicamento útil para el tratamiento de trastornos mejorados mediante la modulación de las subunidades α de GABA<sub>A</sub> distintas a α5 en un animal. En una forma de realización, la modulación puede ser positiva. En otra forma de realización, la modulación puede ser negativa.

Algunas realizaciones divulgadas en el presente documento se refieren al uso de un compuesto de fórmula (I) o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para la fabricación de un medicamento para aumentar la función cognitiva en un animal en el que el subtipo α5 de GABA<sub>A</sub> en el animal está modulado de forma negativa. En una forma de realización, el animal está sano. En una forma de realización, la memoria es memoria a largo plazo. En una

forma de realización, la memoria es memoria a corto plazo.

### **Descripción detallada de la invención**

#### **Definiciones**

Como se usan en el presente documento, las abreviaturas orgánicas comunes se definen del siguiente modo:

5	Ac	Acetilo
	Ac.	acuoso
	Bu	n-butilo
	cat.	catalítico
	CDI	1,1'-carbonildiimidazol
10	°C	Temperatura en grados centígrados
	Dowtherm®	Mezcla eutéctica de éter de difenilo y bifenilo
	DBN	1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno
	DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec-7-eno
	DIEA	Diisopropiletilamina
15	DMA	Dimetilacetamida
	DMF	N,N'-dimetilformamida
	DMSO	Dimetilsulfóxido
	Et	Etilo
	g	Gramo(s)
20	h	Hora (horas)
	HPLC	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento
	iPr o isopr	isopropilo
	CLEM	cromatografía de líquidos con espectrometría de masas
	Me	Metilo
25	MeOH	Metanol
	ml	Mililitro(s)
	Pd/C	paladio sobre carbono activado
	ppt	precipitado
	TA	Temperatura ambiente
30	TEA	Trietilamina
	Terc, t	terciario
	μl	Microlitro(s)

Como se usa en el presente documento, el término "alquilo" se refiere a un grupo de hidrocarburo alifático. El resto alquilo puede ser un grupo "alquilo saturado", que significa que no contiene ningún resto alqueno o alquino. Un resto "alqueno" hace referencia a un grupo que consiste en al menos dos átomos de carbono y al menos un doble enlace carbono-carbono y un resto "alquino" hace referencia a un grupo que consiste en al menos dos átomos de carbono y al menos un triple enlace carbono-carbono. El resto alquilo puede ser de cadena ramificada, lineal o cíclico. Ejemplos de grupos alquilo ramificados incluyen, entre otros, isopropilo, sec-butilo, t-butilo y similares. Ejemplos de grupos alquilo de cadena lineal incluyen, entre otros, metilo, etilo, propilo, butilo, ventilo, hexilo, heptilo y similares. Ejemplos de grupos alquilo cíclico incluyen, entre otros, ciclopropilo, ciclopentilo, ciclohexilo, cicloheptilo y similares.

El término "alcoxi" usado en el presente documento hace referencia a un radical alquilo de cadena lineal o ramificada unido covalentemente a la molécula parental a través de un enlace --O--. Ejemplos de grupos alcoxi incluyen, entre otros, metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, butoxi, n-butoxi, sec-butoxi, t-butoxi y similares.

El término "alqueno" usado en el presente documento se refiere a un radical monovalente de cadena lineal o ramificada de dos a veinte átomos de carbono, que contiene un doble enlace de carbono, incluyendo, entre otros, 1-propenilo, 2-propenilo, 2-metil-2-propenilo, 1-butenilo, 2-butenilo y similares.

El término "alquino" usado en el presente documento se refiere a un radical monovalente de cadena lineal o ramificada de dos a veinte átomos de carbono, que contiene un triple enlace de carbono, incluyendo, entre otros, 1-propinilo, 1-butinilo, 2-butinilo y similares.

El término "arilo" usado en el presente documento hace referencia a un radical aromático homocíclico de un anillo o de múltiples anillos condensados. Además, el término "arilo" incluye sistemas de anillo condensados en los que al menos dos anillos arilo o al menos un radical arilo y un radical carbocíclico bicíclico orto-condensado que tiene de nueve a diez átomos de anillo en los que al menos un anillo es aromático al menos un enlace químico. Ejemplos de anillos "arilo" incluyen, entre otros, fenilo opcionalmente sustituido, bifenilo, naftalenilo, fenantrenilo, antraceno, tetralinilo, fluorenilo, indenilo e indanilo.

El término "heterociclo" o "grupo heterociclo" usado en el presente documento se refiere a un sistema de anillo monocíclico, bicíclico o tricíclico opcionalmente sustituido que comprende al menos un heteroátomo en la estructura del sistema anular. Los heteroátomos se seleccionan de forma independiente de oxígeno, azufre y nitrógeno. El

término "heterociclo" incluye sistemas de múltiples anillos condensados. Adicionalmente, el término "heterociclo" incluye sistemas de anillos condensados que pueden tener cualquier grado de saturación siempre que al menos un anillo en el sistema anular es no aromático. El sistema de anillo monocíclico, bicíclico o tricíclico puede estar sustituido o no sustituido y puede estar unido a otros grupos a través de cualquier valencia disponible, preferentemente cualquier carbono o nitrógeno disponible. Los sistemas de anillo monocíclicos preferidos son de 4, 5, 6, 7 u 8 miembros. Los anillos monocíclicos de seis miembros contienen de hasta tres heteroátomos, en los que cada heteroátomo se selecciona de forma individual de oxígeno, azufre y nitrógeno, y en los que cuando el anillo tiene cinco miembros, preferentemente tiene uno o dos heteroátomos en los que cada heteroátomo se selecciona de forma individual de oxígeno, azufre y nitrógeno. Sistemas de anillos cíclicos bicíclicos preferidos son de 8 a 12 miembros e incluyen espirociclos. Un ejemplo de un sustituyente opcional incluye, entre otros, oxo (=O).

El término "heteroarilo" usado en el presente documento hace referencia a un grupo heterocíclico aromático, de un anillo o de múltiples anillos condensados. En los sistemas de anillos condensados, el uno o más heteroátomos pueden estar presentes en solo uno de los anillos. Ejemplos de grupos heteroarilo incluyen, entre otros, benzotiazolo, benzoxazilo, quinacolinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinoxalinilo, piridilo, pirrolilo, oxazolilo, indolilo, tienilo y similares. El término "heterociclo" abarca heteroarilo condensado con un sistema de anillo no aromático.

El término "heteroátomo" usado en el presente documento hace referencia a, por ejemplo, oxígeno, azufre y nitrógeno.

El término "amino" usado en el presente documento se refiere a un radical nitrógeno sustituido con hidrógeno, alquilo, arilo o combinaciones de los mismos. Ejemplos de grupos amino incluyen, entre otros, -NH-metilo, -NH<sub>2</sub>, -NMetilo<sub>2</sub>, -NFenilmetilo, -NHFenilo, -NEtilmetilo y similares.

El término "arilalquilo" usado en el presente documento se refiere a uno o más grupos arilos pendientes de un radical alquilo. Ejemplos de grupos arilalquilo incluyen, entre otros, bencilo, fenetilo, fenpropilo, fenbutilo y similares.

El término "heteroarilalquilo" usado en el presente documento se refiere a uno o más grupos heteroarilo pendientes de un radical alquilo. Ejemplos de heteroarilalquilo incluyen, entre otros, piridilmetilo, furanilmetilo, tiofeniletilo y similares.

El término "ariloxi" usado en el presente documento hace referencia a un radical arilo unido covalentemente a la molécula parental a través de un enlace --O--.

El término "alquilio" usado en el presente documento hace referencia a un radical alquilo de cadena lineal o ramificada unido covalentemente a la molécula parental a través de un enlace --S--.

El término "carbonilo", usado en el presente documento, se refiere a C=O (es decir, un carbono unido mediante doble enlace a oxígeno).

Como se usa en el presente documento, un radical indica especies con un único electrón no apareado de forma que la especie que contiene el radical puede estar unida covalentemente a otra especie. Por tanto, en este contexto, un radical no es necesariamente un radical libre. En su lugar, un radical indica una porción específica de una molécula más grande. El término "radical" se puede usar de forma intercambiable con el término "grupo".

Como se usa en el presente documento, un grupo sustituido deriva de la estructura parental no sustituida en la que se ha producido un intercambio de uno o más átomos de hidrógeno por otro átomo o grupo.

Los átomos de carbono asimétricos pueden estar presentes en los compuestos descritos. Todos estos isómeros, incluyendo los diaestereómeros y enantiómeros, así como las mezclas de los mismos, se pretende que estén incluidos en el alcance del compuesto citado. En determinados casos, los compuestos pueden existir en formas tautoméricas. Se pretende incluir en el alcance todas las formas tautoméricas. Asimismo, cuando los compuestos contienen un grupo alqueno o alquenoileno, existe la posibilidad de formas cis y trans-isoméricas de los compuestos. Se contemplan los isómeros tanto cis como trans, así como las mezclas de los isómeros cis y trans. Por tanto, en el presente documento la referencia a un compuesto incluye todas las formas isoméricas mencionadas anteriormente a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

En las realizaciones se incluyen varias formas, incluidos polimorfos, solvatos, hidratos, confórmeros y sales. Un polimorfo es una composición que tiene la misma fórmula química, pero una estructura diferente. Un solvato es una composición formada mediante solvatación (la combinación de moléculas de disolvente con moléculas o iones del soluto). Un hidrato es un compuesto formado por una incorporación de agua. Un confórmero es una estructura que es un isómero conformacional. El isomerismo conformacional es el fenómeno de moléculas con la misma fórmula estructural pero diferentes conformaciones (confórmeros) de átomos alrededor de un enlace en rotación. Las sales de compuestos se pueden preparar mediante procedimientos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, las sales de los compuestos se pueden preparar haciendo reaccionar la base o ácido adecuado con un equivalente estequiométrico del compuesto.

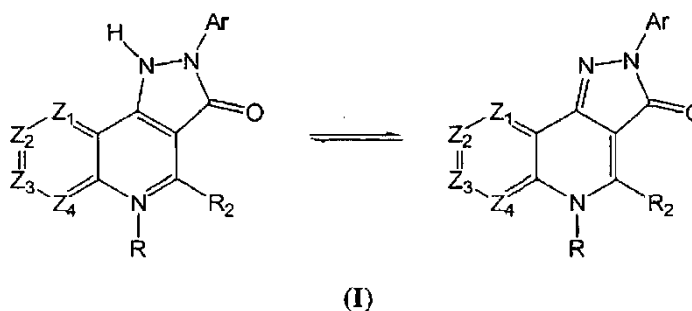
55

El término "animal", como se usa en el presente documento, incluye aves, reptiles y mamíferos (p. ej., mamíferos domesticados y seres humanos).

El término "individuo", "huésped", "sujeto" y "paciente" se usan de forma intercambiable en el presente documento y hacen referencia a un mamífero, incluidos, entre otros, murinos, simios, seres humanos, animales de granja mamíferos, animales para deportes mamíferos y mascotas mamíferos.

Realizaciones específicas

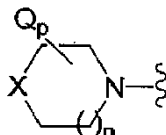
En una realización específica de la invención, el compuesto de fórmula (I) es un compuesto de cualquiera de las fórmulas **1a-1w**



Los valores específicos indicados más adelante para radicales, sustituyentes e intervalos son únicamente para fines ilustrativos; no excluyen otros valores definidos u otros valores dentro de intervalos definidos para los radicales y sustituyentes.

Un valor específico para Ar puede ser fenilo, 4-metoxifenilo o 2-piridilo.

Con la designación **B<sup>1</sup>** se pretende indicar el grupo:



en el que el grupo **B<sup>1</sup>** está unido a un átomo de carbono del anillo (es decir, C) en una posición en el anillo al que está unido el enlace. El átomo de carbono puede estar en la posición **Z<sub>1</sub>**, **Z<sub>2</sub>**, **Z<sub>3</sub>** o **Z<sub>4</sub>** de la estructura del anillo.

Un valor específico para **B<sup>1</sup>** puede ser piperazina, pirrolidina, morfolina, piperidina y perhidro-1,4-diazepina.

Un valor específico para **X** puede ser carbono, oxígeno o nitrógeno.

Un valor específico para **n** puede ser 0, 1 o 2.

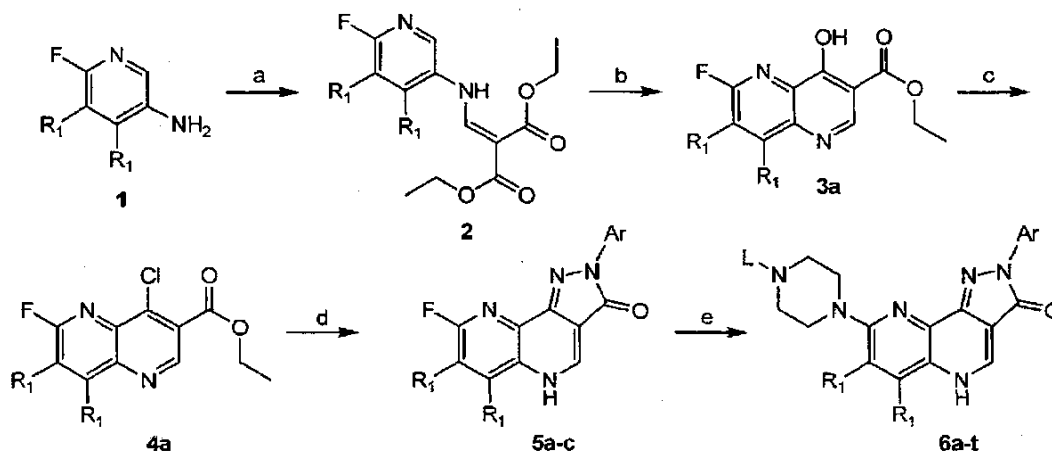
Un valor específico para Q puede ser hidrógeno, alquilo(C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) e hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>).

Los procedimientos generales para sintetizar estos compuestos se detallan más adelante.

Procedimiento de preparación

Los procedimientos para la preparación de compuestos de fórmula (I), específicamente **6** y **14** se proporcionan como realizaciones adicionales de la invención y se ilustran mediante los procedimientos siguientes en los que los significados de los radicales genéricos son como se ha proporcionado anteriormente a menos que se indique lo contrario.

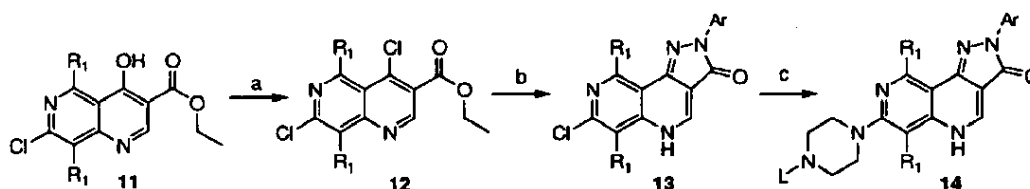
Los compuestos de la fórmula general (I) se pueden preparar usando el abordaje sintético general ilustrado a continuación en el Esquema 1, para acceder a compuestos de tipo 6 y en el Esquema 2 para acceder a compuestos de tipo 14.

**Esquema 1: Esquema de reacción general a aril-2,5-dihidropirazolo[4,3-c][1,5]pirazonaftiridina**

a) 1 equiv. de 2-(etoximetil)malonato de dietilo, 125 °C, 3 h, b) Ph<sub>2</sub>O, reflujo, 30 min - 3 h, c) 2 equiv. de cloruro de oxalilo, DMF cat., ClICl<sub>3</sub>, reflujo, 3 h, d) 2 equiv. aril o heteroarilhidrazina, 2 equiv. de trietilamina, o-xileno, reflujo, 12 h. e) L-N-piperazina, 175 °C, 24-72 h.

El esquema de reacción general 1 muestra un procedimiento sintético representativo para la síntesis de aril-2,5-dihidropirazolo[4,3-c][1,5]Pirazonaftiridinas. El 3-amino-heteroarilhidrazina, 2 equivalentes de trietilamina, o-xileno, reflujo, 12 horas e) L-N-piperazina, 175 °C, 24-72 h.

El esquema de reacción general 1 muestra un procedimiento sintético representativo para la síntesis de aril-2,5-dihidropirazolo[4,3-c][1,5]Pirazonaftiridinas. La 3-amino-piridina de fórmula 1 se puede hacer reaccionar con 2-(etoximetil)malonato de dietilo con calor, dando, en una reacción de tipo adición-eliminación, la enamina de fórmula 2. La ciclación térmica del compuesto de fórmula 2 proporciona la hidroxil-azaquinolina de fórmula 3a. Los disolventes que se pueden usar en la etapa (b) incluyen, entre otros, éter difenílico, Dowtherm® y disolventes estables de punto de ebullición alto. La conversión de la hidroxil-azaquinolina de fórmula 3a en la cloro-azaquinolina de fórmula 4a se puede conseguir usando un agente de cloración en un disolvente halogenado y opcionalmente DMF catalítico. Los agentes de cloración que se pueden usar en la etapa (c) incluyen, entre otros, cloruro de oxalilo, P(O)Cl<sub>3</sub>, PCl<sub>5</sub>, cloruro de tionilo, fosgeno, trifosgeno y agentes de cloración similares. Los disolventes que se pueden usar en la etapa (c) incluyen, entre otros, clorobenceno, cloruro de metileno, 1,2-dicloroetano, cloroformo y disolventes similares. La cloro-azaquinolina de fórmula 4a se puede hacer reaccionar con aril o heteroarilhidrazina para formar el oxo-pirazol tricíclico de fórmula 5a-c. Las bases orgánicas que se pueden usar en la etapa (d) incluyen, entre otras, trietilamina (TEA), diisopropiletamina (DIEA), 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4,3,0]non-5-eno (DBN), N-metilpiperidina y similares. Los disolventes que se pueden usar en la etapa (d) incluyen, entre otros, o-xileno, xilenos, clorobenceno, tolueno y similares. El desplazamiento del flúor del compuesto de fórmula 5a-c con una amina cíclica con calor proporciona el compuesto de fórmula 6a-t. La etapa (e) se puede realizar con disolvente o neto.

**Esquema 2: Esquema de reacción general a aril-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,6]pirazonaftiridina**

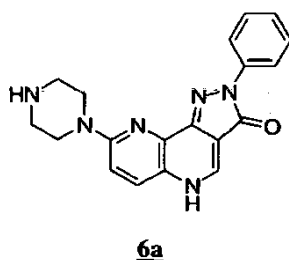
a) 4 equiv. de cloruro de oxalilo, DMF cat., CHCl<sub>3</sub>, reflujo, 3 h, b) 2 equiv. de aril o heteroarilhidrazina, 2 equiv. de trietilamina, o-xileno, reflujo, 12 h, c) L-N-piperazina, 175 °C, 24-72 h.

El esquema de reacción general 2 muestra un procedimiento sintético representativo para la síntesis de aril-2,5-dihidropirazolo[4,3-c][1,6]Pirazonaftiridina. La conversión de la hidroxil-azaquinolina de fórmula 11 en la cloro-azaquinolina de fórmula 12 se puede conseguir usando un agente de cloración en un disolvente halogenado y opcionalmente DMF catalítico. Los agentes de cloración que se pueden usar en la etapa (a) incluyen, entre otros, cloruro de oxalilo, P(O)Cl<sub>3</sub>, PCl<sub>5</sub>, cloruro de tionilo, fosgeno, trifosgeno y agentes de cloración similares. Los disolventes que se pueden usar en la etapa (a) incluyen, entre otros, clorobenceno, cloruro de metileno, 1,2-dicloroetano, cloroformo y disolventes similares. La cloro-azaquinolina de fórmula 12 se puede hacer reaccionar con aril o heteroarilhidrazina para formar el oxo-pirazol tricíclico de fórmula 13. Las bases orgánicas que se pueden usar en la etapa (b) incluyen, entre otras, trietilamina (TEA), diisopropiletamina (DIEA), 1,8-diazabicyclo[5,4,0]undec-7-

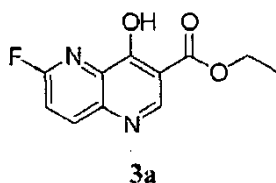
eno (DBU), 1,5-diazabicyclo[4,3.0]non-5-eno (DBN), N-metilpiperidina y similares. Los disolventes que se pueden usar en la etapa (b) incluyen, entre otros, o-xileno, xilenos, clorobenceno, tolueno y similares. El desplazamiento del flúor del compuesto de fórmula **13** con una amina cíclica con calor proporciona el compuesto de fórmula **14**. La etapa (c) se puede realizar con disolvente o neto.

5 Procedimiento de síntesis de pirazolonaftiridinas

**Ejemplo 1**

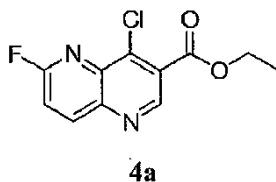


10 *2-Fenil-8-(piperazin-1-il)-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (6a)*



15 *6-fluoro-4-hidroxi-[1,5]naftiridin-3-carboxilato de etilo (3a)*. Cantidades equimolares de 5-amino-2-fluoropiridina y 2-(etoximetileno)malonato de dietilo se combinaron y se sometieron a reflujo durante 3 horas a 120 °C. Se retiró el etanol al vacío, dando el éster dietílico de ácido 2-(4-fluoro-3-piridil)-aminometileno-malónico con rendimiento cuantitativo. El sólido resultante se añadió a Dowtherm A® a reflujo y se mantuvo a dicha temperatura durante 1 hora. La mezcla se enfrió hasta 80 °C y se añadió a ligroína. El sólido formado se recogió mediante filtración y se lavó con hexano, dando el producto con un rendimiento del 30 - 80 %. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 1,26 (3H, t, J = 7,14 Hz), 4,17 (2H, c, J = 7,14 Hz), 7,54 (1H, dd, J = 9,07, 3,02 Hz), 8,24 (1H, dd, J = 8,79, 7,14 Hz), 8,58 (1H, s). m/z 237,3 (MH<sup>+</sup>).

Etapa 2

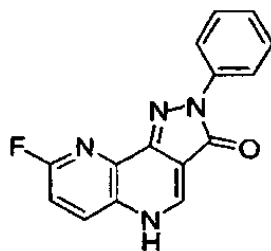


25 *4-cloro-6-fluoro-[1,5]naftiridin-3-carboxilato de etilo (4a)*. A una suspensión de **3a** en cloroformo se añadieron 4 equivalentes de cloruro de oxalilo, seguido de 0,1 equivalentes de dimetilformamida. La solución se sometió a reflujo durante 3 horas y se inactivó con una solución 5M de hidróxido sódico a 4 °C. La capa de cloroformo se recogió, se lavó con una solución de 100 ml de agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico anhidro, se filtró y se concentró al vacío. El producto se obtuvo mediante recristalización usando acetona. RMN de <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ (ppm): 1,47 (3H, t, J = 7,14 Hz), 4,53 (2H, q, J = 7,14 Hz), 7,45 (1H, dd, J = 8,79, 3,02 Hz), 8,54 (1H, dd, J = 9,06, 7,41), 9,21 (1H, s). m/z 255,7 (MH<sup>+</sup>).

30

Etapa 3

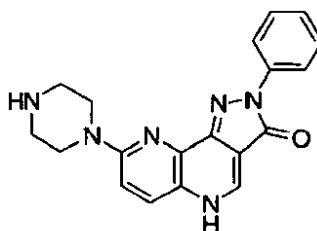
Etapa 3

**5a**

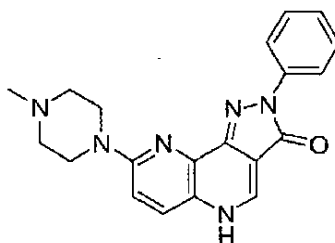
- 5 *8-fluoro-2-phenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona* (5a). En un vial se añadió 4<sup>a</sup>, fenilhidrazina y trietilamina. El vial se selló y se calentó hasta 135 °C durante 12 horas. El producto se recogió mediante filtración y se lavó con metanol con un rendimiento del 85%. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 7,18 (1H, dd, J = 7,41, 7,14 Hz), 7,50 (3H, m), 8,26 (3H, m), 8,81 (1H, s). m/z 281,3 (MH<sup>+</sup>).

Etapa 4

10

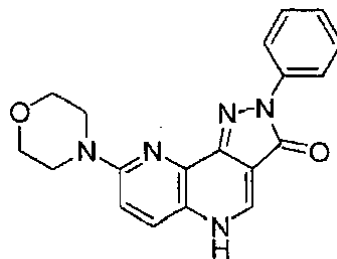
**6a**

- 15 *2-Fenil-8-(piperazin-1-il)-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona* (6a). El compuesto 5a se agitó con exceso de piperazina a 175 °C durante 24 horas. Los precipitados se recogieron mediante filtración y se lavaron con acetato de etilo y se purificaron usando cromatografía en columna, obteniéndose el compuesto del título con un rendimiento del 84%. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 2,88 (4H, ma), 3,64 (4H, ma), 7,11 (2H, tt, J = 7,42, 1,10 Hz), 7,23 (1H, d, J = 9,34 Hz), 7,41 (2H, m), 7,84 (1H, d, J = 9,06 Hz), 8,22, (2H, m), 8,51 (1H, s). m/z 347,4 (MH<sup>+</sup>).

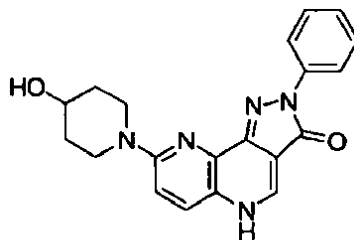
**Ejemplo 2****6b**

20

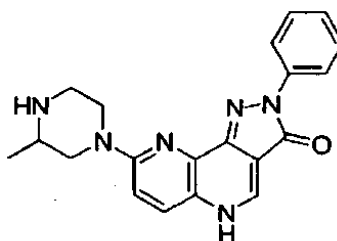
- 25 *8-(4-metil-piperazin-1-il)-2-phenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona* (6b). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 1-metilpiperazina en lugar de piperazina. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 2,52 (3H, s), 2,84 (4H, ma), 3,62 (4H, ma), 7,11 (1H, t, J = 7,22 Hz), 7,20 (1H, d, J = 9,28 Hz), 7,40 (2H, dd, J = 8,30, 7,57 Hz), 7,80 (1H, d, J = 9,28 Hz), 8,21 (2H, d, J = 7,57 Hz), 8,50 (1H, s). m/z 361,4 (MH<sup>+</sup>).

**Ejemplo 3****6c**

5 *8-morfolin-4-il-2-fenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (6c)*. El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando morfolina en lugar de piperazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 3,01 (4H, ma), 3,78 (4H, ma), 7,12 (1H, dt,  $J = 7,56, 7,33$  Hz), 7,23 (1H, d,  $J = 9,28$  Hz), 7,45 (2H, dd,  $J = 8,54, 7,32$  Hz), 7,88 (1H, d,  $J = 9,53$  Hz), 8,21 (2H, dd,  $J = 8,55, 1,22$  Hz), 8,57 (1H, s).  $m/z$  348,4 ( $\text{MH}^+$ ).

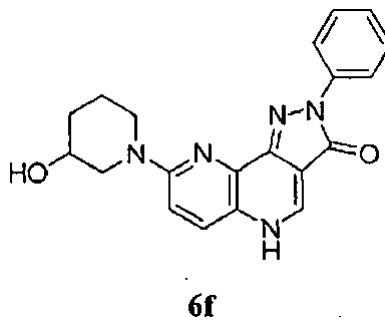
**Ejemplo 4****6d**

10 *8-(4-hidroxi-piperidin-1-il)-2-fenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (6d)*. El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 4-hidroxipiperidina en lugar de piperazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 1,39 (2H, ma), 1,83 (2H, ma), 3,15 (1H, d,  $J = 5,22$  Hz), 3,71 (1H, m), 4,19 (2H, m), 4,74 (1H, d,  $J = 4,40$  Hz), 7,16 (1H, tt,  $J = 7,40, 1,10$  Hz), 7,21 (1H, d,  $J = 9,34$  Hz), 7,42 (2H, m), 7,78 (1H, d,  $J = 9,34$  Hz), 8,21  
15 (2H, ddd,  $J = 7,69, 1,92, 1,10$  Hz), 8,52 (1H, s).  $m/z$  362,4 ( $\text{MH}^+$ ).

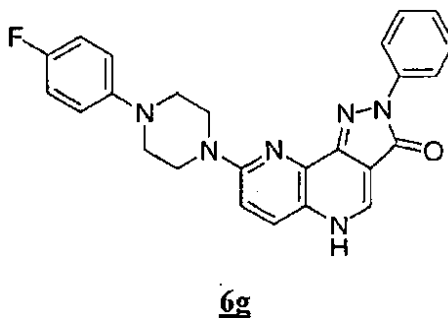
**Ejemplo 5****6e**

20 *8-(3-metil-piperazin-1-il)-2-fenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (6e)*. El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 2-metilpiperazina en lugar de piperazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 1,00 (3H, s), 2,78 (4H, ma), 3,05 (1H, m), 4,30 (2H, m), 7,07 (2H, m), 7,39 (2H, dd,  $J = 8,24, 7,97$  Hz), 7,75 (1H, d,  $J = 9,34$  Hz), 8,27 (2H, dd,  $J = 7,42, 1,10$  Hz), 8,37 (1H, s).  $m/z$  361,4 ( $\text{MH}^+$ ).

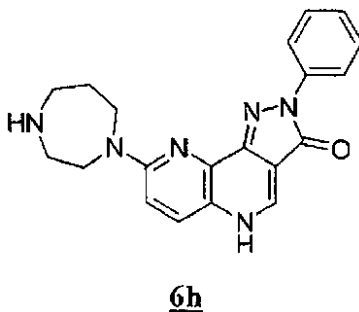


**Ejemplo 6**

- 5 *8-(3-hidroxi-piperidin-1-il)-2-fenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona* (6f). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 3-hidroxipiperidina en lugar de piperazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 1,40 (2H, m), 1,75 (1H, m), 1,80 (1H, m), 2,92 (1H, dd, J = 12,64, 8,79 Hz), 3,51 (1H, m), 4,10 (1H, m), 4,33 (1H, dd, J = 12,63, 3,84 Hz), 4,91 (1H, d, J = 4,40 Hz), 7,15 (1H, tt, J = 7,42, 1,09 Hz), 7,20 (1H, d, J = 9,34 Hz), 7,42 (2H, dd, J = 8,52, 7,42 Hz), 7,80 (1H, d, J = 9,34 Hz), 8,21 (2H, dd, J = 8,79, 1,38 Hz), 8,53 (1H, s). m/z 361,4 ( $\text{MH}^+$ ).

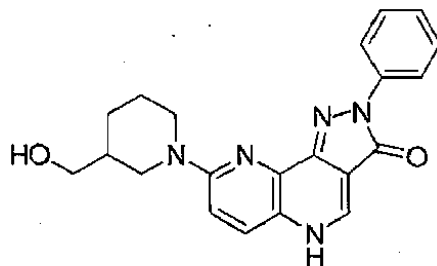
10 **Ejemplo 7**

- 15 *8-[4-(4-fluoro-fenil)-piperazin-1-il]-2-fenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona* (6g). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 1-(4-fluorofenil)-piperazina en lugar de piperazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 3,22 (4H, ma), 3,83 (4H, ma), 7,07 (5H, m), 7,32 (1H, d, J = 9,34 Hz), 7,43 (2H, dd, J = 8,24, 7,69 Hz), 7,85 (1H, d, J = 9,34 Hz), 8,19 (2H, dd, J = 8,24, 0,82 Hz), 8,57 (1H, s). m/z 441,5 ( $\text{MH}^+$ ).

**Ejemplo 8**

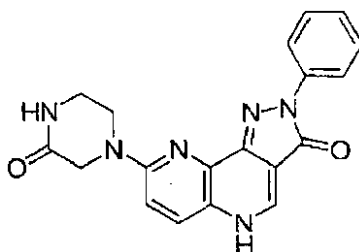
- 20 *8-[1,4]-diazepan-1-il-2-fenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona* (6h). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando perhidro-[1,4]-diazepina en lugar de piperazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 1,82 (2H, m), 2,65 (2H, m), 2,90 (2H, m), 3,88 (4H, m), 6,89 (1H, d, J = 9,07 Hz), 7,05 (1H, t, J = 7,41 Hz), 7,35 (2H, dd, J = 8,52, 7,41 Hz), 7,74 (1H, d, J = 9,07 Hz), 8,25 (2H, m), 8,29 (1H, s). m/z 361,4 ( $\text{MH}^+$ ).

## Ejemplo 9

**6i**

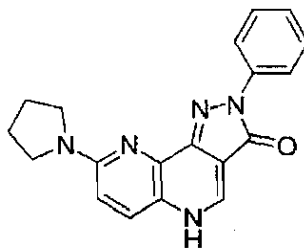
5 **8-(3-hidroximetil-piperidin-1-il)-2-fenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (6i).** El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 3-hidroximetilpiperidina en lugar de piperazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 1,75 (4H, ma), 2,87 (1H, dd, J = 12,91, 9,89 Hz), 3,05 (1H, m), 3,13 (1H, d, J = 5,22 Hz), 3,54 (2H, ma), 3,88 (2H, da, J = 2,91 Hz), 7,14 (1H, dt, J = 7,42, 1,10 Hz), 7,19 (1H, d, J = 9,34 Hz), 7,42 (2H, ddd, J = 7,41, 2,20, 1,92 Hz), 7,79 (1H, d, J = 9,34 Hz), 8,21 (2H, ddd, J = 7,69, 1,92, 1,10 Hz), 8,52 (1H, s). m/z 361,4 ( $\text{MH}^+$ ).

## 10 Ejemplo 10

**6j**

15 **8-(3-oxo-piperazin-1-il)-2-fenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (6j).** El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 2-oxopiperazina en lugar de piperazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 3,08 (2H, m), 3,90 (2H, dd, J = 5,67, 4,94), 4,19 (2H, s), 7,15 (1H, dd, J = 7,42, 1,09 Hz), 7,20 (1H, d, J = 9,34 Hz), 7,40 (2H, dd, J = 8,51, 7,42 Hz), 7,85 (1H, d, J = 9,06 Hz), 8,16 (1H, a), 8,22 (1H, dd, J = 7,70, 1,09 Hz), 8,57 (1H, s). m/z 361,4 ( $\text{MH}^+$ ).

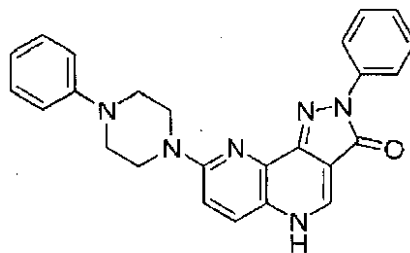
## Ejemplo 11

**6k**

20 **2-Fenil-8-pirrolidin-1-il-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (6k).** El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando pirrolidina en lugar de piperazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 1,99 (4H, a), 3,49 (4H, a), 6,77 (1H, d, J = 9,06 Hz), 7,05 (1H, tt, J = 7,41, 0,89 Hz), 7,37 (2H, m), 7,77 (1H, d, J = 9,07 Hz), 8,28 (2H, dd, J = 7,70, 1,09 Hz), 8,34 (1H, s). m/z 332,4 ( $\text{MH}^+$ ).

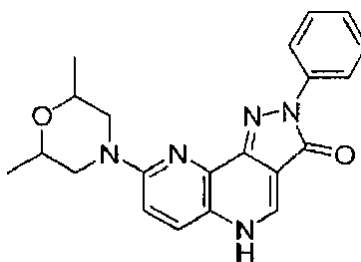
25

## Ejemplo 12

**6l**

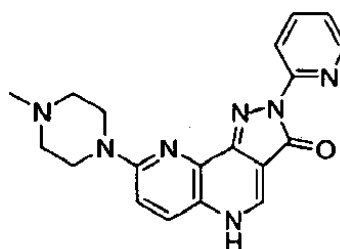
5 *2-Fenil-8-(4-fenil-piperazin-1-il)-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (6l)*. El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 1-fenilpiperazina en lugar de piperazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 2,80 (4H, a), 3,11 (1H, m), 3,80 (1H, dd,  $J = 11,44, 2,75$  Hz), 4,39 (1H,  $J = 11,53$  Hz), 4,41 (1H,  $J = 11,53$  Hz), 7,14 (1H, tt,  $J = 7,42, 1,09$  Hz), 7,36 (6H, m), 7,52 (2H, m), 7,83 (1H, d,  $J = 9,34$  Hz), 8,16 (2H, m), 8,54 (1H, s).  $m/z$  423,5 ( $\text{MH}^+$ ).

## Ejemplo 13

**6m**

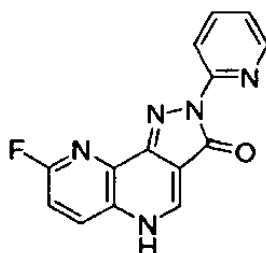
10  
15 *8-(2,6-dimetil-morfolin-4-il)-2-fenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (6m)*. El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 2,6-dimetilmorfolina en lugar de piperazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 1,19 (6H, d,  $J = 7,05$  Hz), 2,36 (2H, t,  $J = 12,09, 10,98$  Hz), 3,75 (4H, ma), 7,16 (1H, tt,  $J = 7,42, 1,09$  Hz), 7,43 (4H, m), 7,56 (2H, d,  $J = 9,06$  Hz), 8,23 (2H, dt,  $J = 8,79, 1,37$  Hz), 8,56 (1H, s).  $m/z$  376,5 ( $\text{MH}^+$ ).

## Ejemplo 14

**6n**

8-(4-metil-piperazin-1-il)-2-piridin-2-il-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (**6n**).

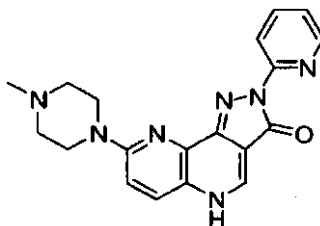
Etapla 1



**5b**

- 5 8-fluoro-2-piridin-2-il-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (**5b**). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito en la etapa 3 para la síntesis de **5a** usando piridil-2-hidrazina en lugar de fenilhidrazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,25 (1H, ddd,  $J = 7,14, 4,67, 1,10$  Hz), 7,50 (1H, dd,  $J = 8,79, 3,03$  Hz), 7,90 (1H, ddd,  $J = 9,34, 7,42, 1,93$  Hz), 8,14 (1H, da,  $J = 8,24$  Hz), 8,28 (1H, ddd,  $J = 9,06, 7,42, 7,14$  Hz), 8,50 (1H, m), 8,84 (1H, s).  $m/z$  282,3 ( $\text{MH}^+$ ).

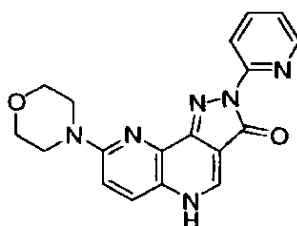
10 Etapla 2



**6n**

- 15 8-(4-metil-piperazin-1-il)-2-piridin-2-il-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (**6n**). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para **6a** usando **5b** y 1-metilpiperazina en lugar de **5a** y piperazina, respectivamente. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 2,55 (4H, a), 2,77 (3H, sa), 3,80 (4H, a), 7,20 (1H, m), 7,27 (6H, d,  $J = 9,24$  Hz), 7,87 (2H, m), 8,20 (1H, d,  $J = 8,24$  Hz), 8,48 (1H, m), 8,60 (1H, s).  $m/z$  362,4 ( $\text{MH}^+$ ).

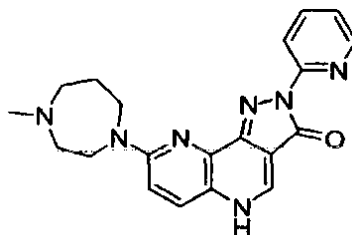
Ejemplo 15



**6o**

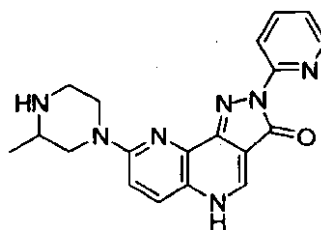
- 20 8-morfolin-4-il-2-piridin-2-il-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (**6o**). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para **6a** usando **5b** y morfolina en lugar de **5a** y piperazina, respectivamente. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 3,63 (4H, a), 3,72 (4H, a), 7,19 (2H, m), 7,82 (2H, m), 8,22 (1H, d,  $J = 8,24$  Hz), 8,48 (1H, dd,  $J = 2,20, 1,10$  Hz), 8,56 (1H, s).  $m/z$  349,4 ( $\text{MH}^+$ ).

## Ejemplo 16

**6p**

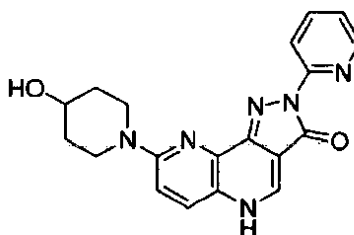
5 8-(4-metil-[1,4]diazepan-1-il)-2-piridin-2-il-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (6p). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 5b y 4-metil-[1,4]-diazepan en lugar de 5a y piperazina, respectivamente. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 2,04 (2H, m), 2,35 (3H, s), 2,60 (2H, m), 2,76 (2H, m), 3,76 (2H, d, J = 6,32 Hz), 3,98 (2H, t, J = 4,67 Hz), 6,96 (1H, d, J = 9,36 Hz), 7,25 (1H, ddd, J = 7,14, 4,55, 0,82 Hz), 7,82 (1H, d, J = 9,34 Hz), 7,92 (1H, m), 8,30 (1H, dt, J = 8,24, 0,82 Hz), 8,49 (1H, m), 8,52 (1H, s). m/z 376,4 (MH $^+$ ).

## Ejemplo 17

**6q**

10 8-(3-metil-piperazin-1-il)-2-piridin-2-il-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (6q). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 5b y 2-metilpiperazina en lugar de 5a y piperazina, respectivamente. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 1,07 (3H, d, J = 6,87 Hz), 2,78 (3H, m), 3,00 (2H, m), 4,31 (2H, m), 7,14 (2H, m), 7,83 (2H, m), 8,22 (1H, dt, J = 7,96, 7,64 Hz), 8,49 (2H, m). m/z 362,4 (MH $^+$ ).

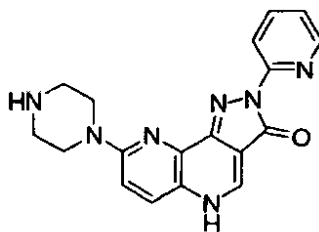
## Ejemplo 18

**6r**

15 El compuesto anterior se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 5b y 4-hidroxipiperidina en lugar de piperazina. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 2,25 (1H, m), 2,70 (1H, m), 2,89 (2H, m), 3,15 (2H, m), 3,75 (2H, m), 4,74 (1H, m), 7,24 (2H, m), 7,79 (1H, d, J = 9,24 Hz), 7,88 (1H, m), 8,23 (1H, d, J = 8,24 Hz), 8,49 (1H, dd, J = 4,67, 1,10 Hz), 8,53 (1H, s).

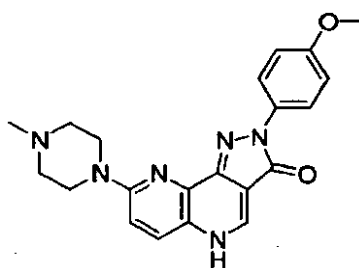
20

## Ejemplo 19

**6s**

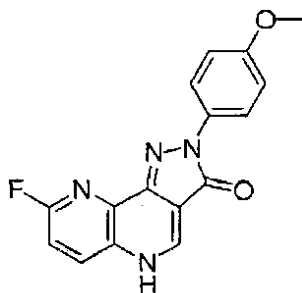
5 *8-piperazin-1-yl-2-(2-piridin-2-il)-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona* (6s). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando **5b** en lugar de 5a. RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 2,97 (4H, a), 3,72 (4H, a), 6,82 (1H, d,  $J = 9,34$  Hz), 7,42 (4H, m), 7,75 (1H, m), 8,17 (2H, d,  $J = 7,97$  Hz), 8,52 (1H, s).  $m/z$  348,4 ( $\text{MH}^+$ ).

## Ejemplo 20

**6t**

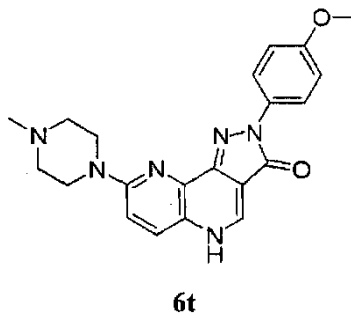
10 *2-(4-metoxi-fenil)-8-(4-metil-piperazin-1-il)-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona* (6t).

Etapa 1

**5c**

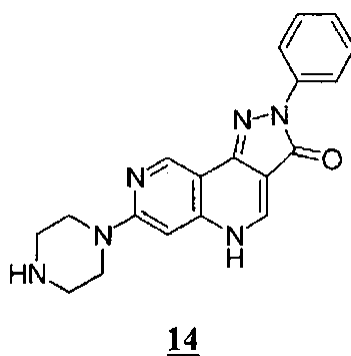
15 *8-fluoro-2-(4-metoxi-fenil)-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona* (5c). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito en la etapa 3 para la síntesis de 5a usando 4-metoxifenilhidrazina en lugar de fenilhidrazina. RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,25 (1H, ddd,  $J = 7,14, 4,67, 1,10$  Hz), 7,50 (1H, dd,  $J = 8,79, 3,03$  Hz), 7,90 (1H, ddd,  $J = 9,34, 7,42, 1,93$  Hz), 8,14 (1H, da,  $J = 8,24$  Hz), 8,28 (1H, ddd,  $J = 9,06, 7,42, 7,14$  Hz), 8,50 (1H, m), 8,84 (1H, s).  $m/z$  282,3 ( $\text{MH}^+$ ).

## Etapa 2



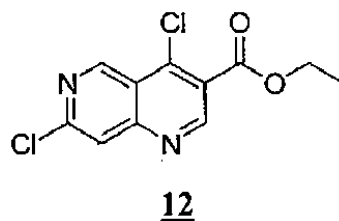
- 5 2-(4-metoxi-fenil)-8-(4-metil-piperazin-1-il)-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,5] naftiridin-3-ona (6t). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para 6a usando 5c y 1-metilpiperazina en lugar de 5a y piperazina, respectivamente. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 2,22 (3H, s), 2,56 (4H, m), 3,64 (4H, m), 6,98 (2H, d, J = 9,07 Hz), 7,15 (1H, d, J = 9,34 Hz), 7,78 (6H, d, J = 9,34 Hz), 8,10 (2H, d, J = 9,07 Hz), 8,45 (1H, s). m/z 391,4 ( $\text{MH}^+$ ).

## Ejemplo 21



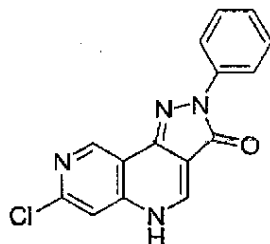
- 10 2-Fenil-7-(piperazin-1-il)-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,6] naftiridin-3-ona (**14**)

## Etapa 1



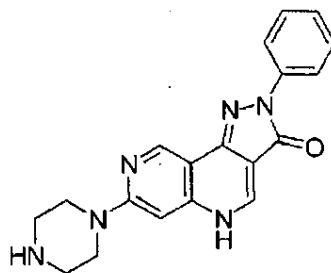
- 15 4,7-dicloro-[1,6]naftiridina-3-carboxilato de etilo (**12**). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para **4a** usando éster etílico de 7-cloro-4-hidroxil[1,6]naftiridina-3-carboxílico (**11**). RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1,47 (3H, t, J = 7,14 Hz), 4,53 (2H, c, J = 7,14 Hz), 8,02 (1H, s), 9,37 (1H, s), 9,62 (1H, s). m/z 272,2 ( $\text{MH}^+$ ).

## Etapa 2

**13**

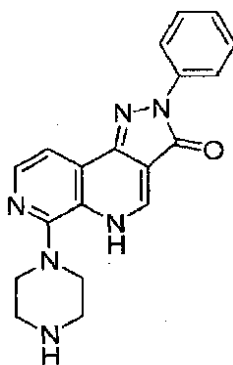
- 5 *7-cloro-2-fenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,6] naftiridin-3-ona* (**13**). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito en la etapa 3 para la síntesis de **5a** usando **12** en lugar de **4a**. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,18 (1H, dd,  $J = 7,14, 6,59$  Hz), 7,46 (2H, dd,  $J = 8,24, 7,70$  Hz), 7,60 (1H, s), 8,14 (2H, d,  $J = 7,51$  Hz), 8,81 (1H, s), 9,21 (1H,s).  $m/z$  297,7 ( $\text{MH}^+$ ).

## Etapa 3

**14**

- 10 *2-Fenil-7-(piperazin-1-il)-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,6] naftiridin-3-ona* (**14**). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito en la etapa 4 para la síntesis de **6a** usando **13** en lugar de **5a**. RMN de  $^1\text{H}$  (DMSO- $d_6$ )  $\delta$  (ppm): 2,80 (4H, ma), 3,46 (4H, ma), 6,68 (1H, s), 7,06 (1H, dd,  $J = 7,42, 7,14$  Hz), 7,36 (2H, dd,  $J = 8,52, 7,41$  Hz), 8,20 (2H, dd,  $J = 8,79, 1,10$  Hz), 8,47 (1H, s), 8,94 (1H, s).  $m/z$  347,4 ( $\text{MH}^+$ ).

## Ejemplo 22

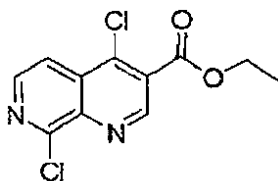
**17**

15



2-Fenil-6-(piperazin-1-il)-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,7] naftiridin-3-ona (17).

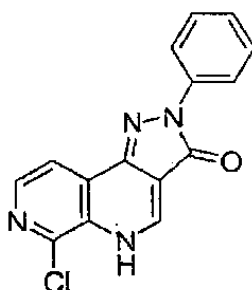
Etapas 1



**15**

- 5 4,8-dicloro-[1,7]naftiridina-3-carboxilato de etilo (15). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito para **4a** usando éster etílico de 8-cloro-4-hidroxi[1,7]naftiridina-3-carboxílico (11). RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm): 1,47 (3H, t, J = 7,14 Hz), 4,53 (2H, c, J = 7,14 Hz), 8,13 (1H, d, J = 5,8 Hz), 8,55 (1H, d, J = 5,8 Hz), 9,35 (1H, s). m/z 271,0 ( $\text{MH}^+$ ).

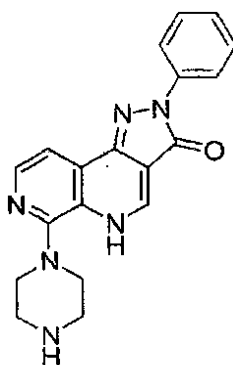
Etapas 2



**16**

- 10 6-cloro-2-fenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,7] naftiridin-3-ona (16). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito en la etapa 3 para la síntesis de **5a** usando **15** en lugar de **4a**. RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 7,16 (1H, m), 7,44 (2H, dd, J = 8,6, 7,6 Hz), 8,09 (1H, d, J = 5,3 Hz), 8,14 (2H, dd, J = 8,5, 1,1 Hz), 8,37 (1H, d, J = 5,2 Hz), 8,51 (1H, s). m/z 297,7 ( $\text{MH}^+$ ).

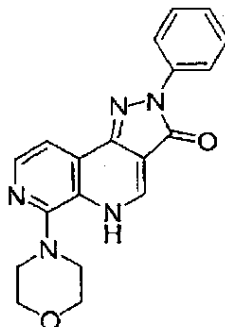
Etapas 3



**17**

- 15 2-Fenil-6-(piperazin-1-il)-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,7] naftiridin-3-ona (17). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito en la etapa 4 para la síntesis de **6a** usando **16** en lugar de **5a**. RMN de  $^1\text{H}$  ( $\text{DMSO-d}_6$ )  $\delta$  (ppm): 3,2 (4H, ma), 3,48 (4H, ma), 7,13 (1H, m), 7,46 (2H, m), 7,78 (1H, d, J = 5,2 Hz), 8,18 (2H, d, J = 7,7 Hz), 8,30 (1H, d, J = 5,2 Hz), 8,50 (1H, s). m/z 347,4 ( $\text{MH}^+$ ).

20

**Ejemplo 23****18**

5 6-(morfolin-4-il)-2-fenil-2,5-dihidro-pirazolo[4,3-c][1,7] naftiridin-3-ona (**18**). El compuesto del título se preparó siguiendo el procedimiento descrito en la etapa 4 para la síntesis de **6a** usando **16** y morfolina. RMN de <sup>1</sup>H (DMSO-d<sub>6</sub>) δ (ppm): 3,17 (4H, ma), 3,87 (4H, ma), 7,15 (1H, m), 7,43 (2H, m), 7,76 (1H, d, J = 5,5 Hz), 8,17 (2H, d, J = 8,8 Hz), 8,33 (1H, d, J = 5,2 Hz), 8,44 (1H, s). m/z 348,1 (MH<sup>+</sup>).

**Ejemplos biológicos**

10 La capacidad de un compuesto divulgado en el presente documento para actuar como ligando del sitio de benzodiazepina del GABA<sub>A</sub> se puede determinar usando modelos farmacológicos que son bien conocidos en la técnica usando el ensayo siguiente. Los valores de CI<sub>50</sub> para los compuestos de ejemplo varían desde sub nM a 10 μM en una curva 3-concentración- respuesta a la dosis.

Ensayo de unión a benzodiazepina

15 Cerebros enteros (sin cerebelo) de ratas macho Wistar de peso 175 ± 25 g se usaron para preparar el receptor de benzodiazepina central de GABA<sub>A</sub> en un tampón fosfato Na-K a pH 7,4. Un alícuota de 5 mg se incubó con <sup>3</sup>H)-flunitrazepam 1 nM durante 60 minutos a 25 °C. Los experimentos se realizaron en presencia o ausencia de 30 μM of GABA. La unión inespecífica se estimó en presencia de 10 μM de diazepam. Las membranas se filtraron y se lavaron, después se contaron los filtros para determinar (<sup>3</sup>H)-flunitrazepam específicamente unido. Los compuestos de ensayo se analizaron por duplicado de acuerdo con las concentraciones requeridas (Damm, H.W., y col., (1978) Res. Comm. Chem. Pathol. Pharmacol. 22: 597 - 560; Speth, R.C., y col., (1979) Life Sci. 24: 351 - 357 ).

Ejemplos de actividad:

en los que:

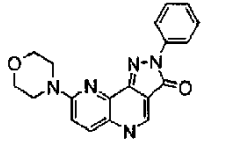
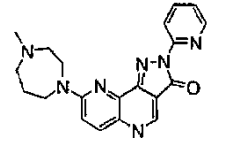
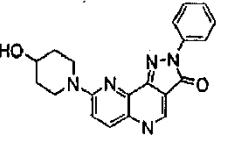
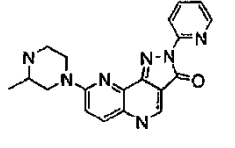
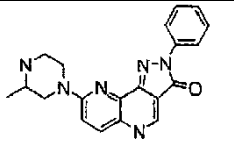
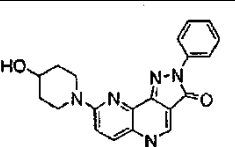
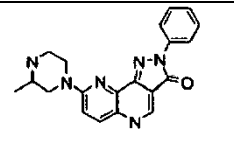
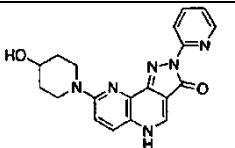
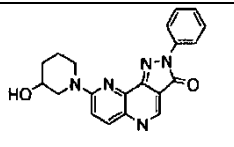
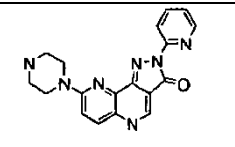
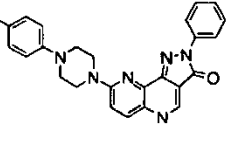
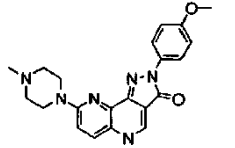
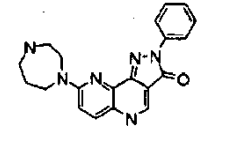
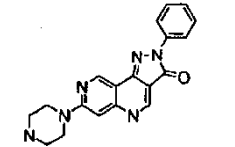
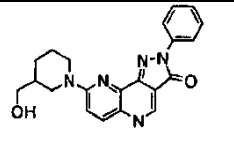
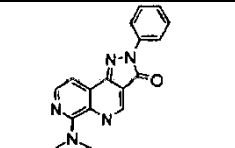
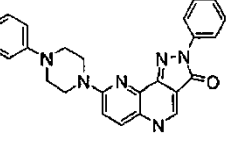
- A indica una CI<sub>50</sub> > 1 μM
- B indica una CI<sub>50</sub> < 1 μM
- C indica una CI<sub>50</sub> < 1 nM

25

Tabla 1

Nº	Estructura	Ensayo de unión a BZ (CI <sub>50</sub> )	Resultado EP	Nº	Estructura	Ensayo de unión a BZ (CI <sub>50</sub> )	Resultado EP
6a		B	Neg	6n		B	
6b		B	Neg	6o		B	

(continuación)

Nº	Estructura	Ensayo de unión a BZ (CI <sub>50</sub> )	Resultado EP	Nº	Estructura	Ensayo de unión a BZ (CI <sub>50</sub> )	Resultado EP
6c		C	Neg	6p		B	
6d		C		6q		B	Pos
6e		B		6r		C	
6e		B		6r		C	
6f		B		6s		B	Pos
6g		B		6t		C	Neg
6h		B		14		A	Neg
6i		C		17		A	
6l		B	Pos				

(continuación)

Nº	Estructura	Ensayo de unión a BZ (CI <sub>50</sub> )	Resultado EP	Nº	Estructura	Ensayo de unión a BZ (CI <sub>50</sub> )	Resultado EP
6m		B	Pos				

5 Todos los compuestos divulgados en la Tabla 1 se suponen trazados como neutros. Si no está indicado, se supone que un átomo de hidrógeno está presente en los átomos de nitrógeno para proporcionar un compuesto neutro. Los compuestos de la Tabla 1 pueden existir en formas isoméricas adicionales, por ejemplo, los compuestos pueden existir como tautómeros de las estructuras trazadas. Los compuestos divulgados en la Tabla 1 abarcan todos los posibles tautómeros de las estructuras trazadas. Un experto en la técnica entenderá que un compuesto puede existir en diferentes formas tautoméricas o mezclas de las mismas dependiendo del ambiente que abarca el compuesto, es decir, puede existir un equilibrio entre las diferentes formas tautoméricas de los compuestos y el equilibrio entre dichas formas puede verse afectado por factores externos.

10 La modulación de la función del GABA<sub>A</sub> está determinada por cambios en la corriente determinados en un ensayo de electrofisiología, como se detalla más adelante.

#### Ensayo de electrofisiología

##### *Preparación del ARN*

15 El ARNm se preparó a partir de pastillas de plásmido liofilizado que contienen insertos de ADNc que codifican la subunidad específica del receptor GABA<sub>A</sub>. Los ADNc que codifican las subunidades  $\alpha$ 2,  $\alpha$ 3 y  $\gamma$ 3 se subclonaron en pBluescript, SK. Los ADNc que codifican las subunidades  $\alpha$ 1 y  $\alpha$ 5 se subclonaron en prC, mientras que el ADNc que codifica la subunidad  $\beta$ 2 se subclonó en pcDNA1. La construcción de ADN que codifica la subunidad  $\gamma$ 2s está en la construcción de expresión pGH19. Durante la noche, los cultivos de células bacterianas DH5a transformadas se realizaron para cultivar cantidades suficientes para aislar maxipreparaciones del ADNc plasmídico. El ADNc plasmídico resultante se linealizó mediante digestión con una enzima de restricción adecuada que escinda en situación distal al inserto de ADNc (*Xba*I para  $\alpha$  1,2,  $\beta$  2 y  $\gamma$  3 o *Not*I para  $\alpha$  3,5 y  $\gamma$  2, respectivamente). Tras la digestión, el ADNc plasmídico se trató con proteinasa K y se extrajo con fenol/cloroformo/alcohol isoamílico, seguido de precipitación en etanol. La calidad del ADNc se evaluó mediante electroforesis en gel de agarosa (1,5% de gel de agarosa). Las muestras se almacenaron a -20°C hasta su uso. La transcripción *In vitro* se realizó con la ARN polimerasa de T7. Después, el ARNm se almacenó a -80°C hasta su uso. Los plásmidos se linealizaron con las enzimas de restricción adecuadas antes de la transcripción *in vitro* usando el kit Message Machine (Ambion, Austin, TX).

##### *Expresión del receptor GABA<sub>A</sub> en oocitos de Xenopus*

30 Expresión del receptor GABA<sub>A</sub> en oocitos de Xenopus: Tras 45 minutos de anestesia con tricaina al 0,15%, a través de una incisión abdominal lateral en la rana se extirpó una sección de ovario que contenía los oocitos foliculares. Los oocitos se introdujeron de inmediato en una solución sin calcio (NaCl 96 mM, MgCl<sub>2</sub> 1 mM, KCl 2mM, Hepes 50 mM, piruvato 2,5 mM, gentamicina 100  $\mu$ g/ml, penicilina-estreptomina 50 U/ml, pH 7,4). Tras 1,5 – 2 horas de incubación en 0,2% de colagenasa (tipo II, Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) a temperatura ambiente, oocitos individuales en estadio V y VI de Dumont se transfirieron a un incubador y se mantuvieron durante la noche en solución de Barth (NaCl 84 mM, NaHCO<sub>3</sub> 2,4 mM, MgSO<sub>4</sub> 0,82 mM, KCl 1 mM, Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 0,33 mM, CaCl<sub>2</sub> 0,41 mM, Tris/HCl 7,5 mM, piruvato 2,5 mM, gentamicina 50  $\mu$ g/ml, penicilina-estreptomina, 100 unidades/ml, pH 7,4) a 18 - 20° C y se usaron para los experimentos 1 - 5 días después de la inyección. En los oocitos se inyectó una solución usando un microinyector electrónico (Drummond, Broomall, PA) con 50 nl de ARN que contiene 0,3 - 0,5 ng de ARN de cada subunidad en una proporción 1:1:1. Los oocitos inyectados se usaron para los experimentos 1 – 5 días de incubación en solución de Barth a 18 - 20° C.

##### *Electrofisiología:*

45 Las determinaciones de las corrientes iónicas de los oocitos que expresan los receptores GABA<sub>A</sub> se realizaron usando un amplificador de tensión limitada con dos electrodos Warner (Warner Instruments, Inc., Foster City, CA) (Park-Chung, M., y col., (1999) Brain Res. 830: 72 - 87). Los microelectrodos se fabricaron con capilares de cristal de borosilicato con un tensor de pipeta programado (Sutter Instrument Co., CA). La resistencia del microelectrodo

fue de 1 - 3 MΩ cuando estaba cargado con KCl 3 M. La cámara de registros de oocitos se perfundió de forma continua con solución de Ringer. Los oocitos se pinzaron con un potencial de retención de -70mV durante la adquisición de datos. La corriente de la membrana se filtró a 10 Hz y se obtuvo la muestra a 100 Hz. Los compuestos se aplicaron mediante un sistema de perfusión externo dirigido por gravedad. El volumen de trabajo de la cámara de registros fue de 30 µl y la velocidad de la perfusión fue de aproximadamente 50 µl/segundo. La aplicación del compuesto fue de 10 - 20 segundos, seguido de un lavado de 90 segundos. La adquisición de datos y la perfusión externa se controló por ordenador mediante software desarrollado de forma adaptada. Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente (22 - 24° C). Los datos de respuesta a la dosis de cada oocito se ajustaron a la ecuación de Hill mediante regresión no lineal usando la ecuación:

$$I_{GABA} = E_{max} / (1 + (CE_{50}/c)^{n_H})$$

E<sub>max</sub> es la respuesta máxima, CE<sub>50</sub> es la concentración que produce el 50% de la respuesta máxima, n<sub>H</sub> es el coeficiente de Hill y c es la concentración de agonista. En base al ajuste de la curva de concentración de GABA-respuesta, se determinó una CE<sub>10</sub> para GABA para cada combinación de subunidades y esta concentración se usó para posteriores estudio de concentración-respuesta del modulador. Las determinaciones de la corriente máxima se normalizaron y se expresaron como una fracción de las determinaciones de la corriente control máxima. Las respuestas de la corriente control a una concentración CE<sub>10</sub> de GABA se volvieron a determinar tras cada 2 - 4 aplicaciones del modulador. El porcentaje de modulación se determinó mediante la ecuación:

$$\% \text{ cambio} = (I/I-1) \times 100$$

en la que I es la respuesta del control en la CE<sub>10</sub> de GABA e I' la respuesta en presencia del modulador (Lippa A, y col., (2005) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 102(20): 7380 - 7385).

Algunos compuestos mostraron modulación positiva y algunos mostraron modulación negativa a una concentración de detección selectiva de 10 µM.

#### Ensayo de reconocimiento de objetos

El efecto sobre el comportamiento animal, específicamente la mejora de la función cognitiva (incluyendo, entre otros, la memoria a corto plazo/de trabajo y la memoria a largo plazo), se puede determinar usando una serie de protocolos establecidos. A continuación se describe un procedimiento, reconocimiento de un objeto nuevo.

#### Ensayo de reconocimiento de objetos

El reconocimiento de objetos es una tarea etiológicamente relevante para los roedores, que no es el resultado de un refuerzo negativo (estímulo eléctrico en el pie). Esta tarea depende de la curiosidad natural de los roedores para explorar objetos nuevos en su entorno más que los familiares. Obviamente, para que un objeto sea "familiar", el animal debe haber acudido a él antes y recordar dicha experiencia. Por tanto, los animales con mejor memoria acudirán y explorarán un objeto nuevo más que un objeto que sea familiar para ellos. Durante la prueba, se presenta al animal el objeto de entrenamiento y, después, uno nuevo. La memoria del objeto de entrenamiento lo convierte en familiar para el animal y, por tanto, pasa más tiempo explorando el objeto nuevo que el que le es familiar (Bourtchouladze, R., y col., (2003) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100: 10518 - 10522). Estudios recientes sobre neuroimágenes en seres humanos demostraron que la memoria en el reconocimiento de objetos depende de la corteza prefrontal (CPF) (Deibert, E., y col., (1999) Neurology 52: 1413 - 1417). Consistente con estos hallazgos, las ratas con lesiones en la CPF muestran una mala memoria de trabajo cuando tienen que discriminar entre objetos que le son familiares y objetos nuevos (Mitchell, J.B. y Laiacona, J. (1998) Behav. Brain Res. 97: 107 - 113). En otros estudios realizados con monos y roedores se sugiere que el hipocampo es importante para el reconocimiento de objetos nuevos (Teng, E. y col., (2000) J. Neuroscience 20: 3853 - 3863; Mumby, D.G. (2001) Behavioural Brain Research 127: 159 - 181). Por tanto, el reconocimiento de objetos proporciona un excelente modelo de comportamiento para evaluar los efectos compuestos del fármaco sobre la tarea de la cognición asociados con la función del hipocampo y la corteza.

La fuerza de la retención de la memoria, en la mayoría de los casos, depende de la cantidad de entrenamiento (repetición de ensayos explícitos o implícitos). Esta "curva de adquisición de memoria" se puede ver afectada por muchas variables experimentales y físicas, que incluyen, entre otros, temperatura, humedad, ruido ambiente, niveles de luz, el tamaño de la arena de entrenamiento, el tamaño y las dimensiones de los objetos, las texturas físicas y colores de la arena de entrenamiento y los niveles de estrés del animal, sus estados motivacionales o experiencias antes del entrenamiento. Para evaluar los compuestos que potencian la memoria para NOR, el experimentador debe parametrizar la duración del entrenamiento para definir (i) la duración (cantidad de entrenamiento) requerida para alcanzar un nivel asintótico (alto) de retención de memoria y (ii) una duración menor a la que la retención de la memoria es submáxima. Los compuestos potenciadores de la memoria producirán una retención de la memoria más alta con entrenamiento submáximo (pero pueden no tener un efecto mensurable con un entrenamiento asintótico

("máximo"). Normalmente, la diferencia entre la memoria submáxima y asintótica debe ser lo bastante grande como para dar la potencia estadística adecuada. Un ejemplo:

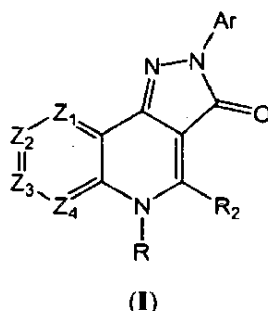
5 Antes del inicio del entrenamiento, los animales fueron manipulados y habituados a la arena de entrenamiento. Se usaron arenas de tamaños adecuados para especies diferentes (p. ej., para ratones: Una caja de plexiglás de L=48 cm; W=38 cm y H=20 cm; para ratas: una caja de plexiglás de L=70 cm; W=60 cm y H=35 cm). El día antes del entrenamiento, una animal individual se introdujo en un aparato de entrenamiento localizado en un cuarto con luz tenue y se les dejó que se habituaran al entorno durante 15 minutos (véase también (Pittenger, C., y col., (2002) *Neuron* 34: 447 - 462; Bourchouladze, R., y col., (2003) *Proc. Natl. Acad.Sci. USA* 100: 10518 - 10522). El entrenamiento se inició 24 horas después de la habituación. Un animal se volvió a introducir en la caja de  
10 entrenamiento, que contenía dos objetos idénticos (p. ej., un objeto pequeño con forma de cono) y se dejó que explorara estos objetos. Los objetos se colocaron en el área central de la caja y la posición espacial de los objetos (lados izquierda-derecha) se contraequilibraron entre los sujetos. Se entrenó a los animales durante 15 minutos. Para analizar la retención de la memoria, se observó a los animales durante 10 minutos 24 horas después del entrenamiento. A un roedor se le presentaron dos objetos, uno de los cuales se usó durante el entrenamiento y, por tanto, era "familiar", y el otro era nuevo (p. ej., un objeto pequeño con forma de pirámide). Para garantizar que las  
15 dianas de discriminación no difieren en el olor, después de cada sujeto experimental, el aparato y los objetos se limpiaron exhaustivamente con etanol al 90%, se secaron y se ventilaron durante unos minutos.

Los experimentos se grabaron en vídeo a través de un sistema de cámara de vídeo aérea. Después, un observador enmascarado revisó los tipos y se determinaron los siguientes parámetros del comportamiento: el tiempo de  
20 exploración de cada objeto; el tiempo total de exploración de los objetos; el número de abordajes de los objetos y el tiempo (latencia) al primer abordaje a un objeto. El índice de discriminación, puntuación de la memoria, se determinó como se ha descrito anteriormente (Ennaceur, A. y Aggleton, J.P. (1997) *Behav. Brain Res.* 88: 181 - 193; Bourchouladze, R., et. al. (2003) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 100: 10518 - 10522). Estos datos se analizaron mediante la prueba t de Student no apareada usando un paquete de software (Statview 5,0.1; SAS Institute, Inc).  
25 Todos los valores en el texto y las figuras se expresan como la media  $\pm$  SEM.

Para NOR, una retención de memoria de 1 hora representa una medida de memoria en decremento a corto plazo (normalmente independiente de la transcripción), que contribuye a las funciones cognitivas, tales como la memoria de trabajo (laberinto de brazo radial, retraso de la correspondencia con la muestra, etc.), la función ejecutiva (cambio de tareas, etc.) y procesos de atención (cebado etc.). Una retención de memoria de veinticuatro horas representa una medida de la memoria a largo plazo a la cual STM se convierte a través de procesos moleculares y celulares de consolidación de la memoria. LTM contribuye a funciones cognitivas duraderas, tales como la memoria de referencia.  
30

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):

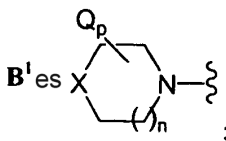


5 o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que:

R es hidrógeno u óxido;

Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>, Z<sub>3</sub> y Z<sub>4</sub> son cada uno de forma independiente N, o C(R<sub>1</sub>), en las que al menos uno de Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>, Z<sub>3</sub> o Z<sub>4</sub> son N y al menos dos de Z<sub>1</sub>, Z<sub>2</sub>, Z<sub>3</sub>, o Z<sub>4</sub> son C(R<sub>1</sub>);

10 cada R<sub>1</sub> se selecciona de forma independiente del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, ciano, B<sup>1</sup>, -CONR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, -NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo, heteroarilo, heterociclo, aminoalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor y alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor, en la que al menos un R<sub>1</sub> es B<sup>1</sup>;



15 R<sub>2</sub> se selecciona del grupo que consiste en hidrógeno, hidroxilo, halo, hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor y alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor;

20 cada R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub> es, de forma independiente, hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo, heteroarilo, heterociclo, alquilarilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -S(O)<sub>z</sub>alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -S(O)<sub>z</sub>arilo, -C(O)alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)NR<sub>g</sub>alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)NR<sub>g</sub>arilo, -C(O)Oalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), ariloOC(O)- o ariloC(O)-, o R<sub>a</sub> y R<sub>b</sub> se toman junto con el nitrógeno al que están unidos para formar un grupo heterociclo sustituido opcionalmente con uno o más R<sub>d</sub>; en el que el grupo heterociclo incluye opcionalmente uno o más grupos seleccionados de O (oxígeno), S (azufre) y NR<sub>c</sub>;

25 cada R<sub>c</sub> es, de forma independiente, hidrógeno, alquenoilo (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), alquinoilo (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)Oalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)Arilo, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alcoxi alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo, heteroarilo, heterociclo, ariloOalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)NR<sub>g</sub>alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)NR<sub>g</sub>arilo, -S(O)<sub>z</sub>alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -S(O)<sub>z</sub>arilo, -C(O)alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), ariloC(O)-, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor o alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor;

30 cada R<sub>d</sub> se selecciona de forma independiente de halo, oxo, hidroxilo, -C(O)NR<sub>e</sub>R<sub>f</sub>, -NR<sub>e</sub>R<sub>f</sub>, hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo, arilalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor, o alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor;

35 cada R<sub>e</sub> y R<sub>f</sub> se selecciona de forma independiente de hidrógeno, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo, heteroarilo, heterociclo, alquilarilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -S(O)<sub>z</sub>alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -S(O)<sub>z</sub>NR<sub>g</sub>alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -S(O)<sub>z</sub>arilo, -C(O)NR<sub>g</sub>alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo C(O)-, arilo OC(O)-, o -C(O)Oalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>);

R<sub>g</sub> es hidrógeno, arilo, heteroarilo, heterociclo o alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) opcionalmente sustituido con hasta 5 átomos de flúor;

Ar es arilo opcionalmente sustituido con uno o más M o heteroarilo sustituido con uno o más M;

40 cada Q se selecciona de forma independiente de hidrógeno, halo, oxo, hidroxilo, -C(O)NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, -NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor, alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con uno o más R<sub>d</sub>, hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con uno o más R<sub>d</sub>, arilo sustituido opcionalmente con uno o más R<sub>d</sub>, o arilalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con uno o más R<sub>d</sub>;

cada M es, de forma independiente, hidrógeno, halo, CF<sub>3</sub>, CF<sub>2</sub>H, hidroxilo, ciano, nitro, alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -NR<sub>a</sub>R<sub>b</sub>, arilo, heteroarilo o heterociclo;

cada **X** es independientemente **NL**, oxígeno, C(**Q**)<sub>2</sub>, o S(O)<sub>z</sub>;

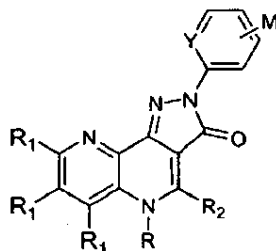
cada **L** es, de forma independiente, hidrógeno, alqueno (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), alquino (C<sub>2</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)Oalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -C(O)Oarilo, (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>)alcoxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), hidroxialquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), arilo, heteroarilo, heterociclo, ariloOalquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -CONR<sub>g</sub>R<sub>f</sub>, -S(O)<sub>z</sub>alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), -S(O)<sub>z</sub>arilo, -C(O)alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), ariloC(O)-, -C(O)NR<sub>g</sub>alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>), alquilo (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor o alcoxi (C<sub>1</sub>-C<sub>6</sub>) sustituido opcionalmente con hasta 5 átomos de flúor;

**p** es un número entero seleccionado de 0, 1, 2 y 3;

**p** es un número entero seleccionado de 0, 1 y 2; y

**n** es un número entero seleccionado de 0, 1 y 2.

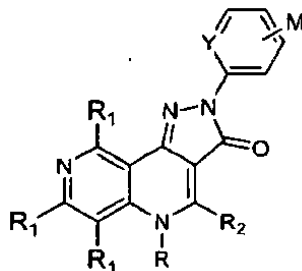
- 10 2. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula **1a**:



(1a)

o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que **Y** es **CM** o N, preferentemente al menos una **X** es **NL**.

3. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula **1b**:

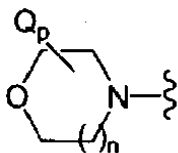


(1b)

- 15

o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que **Y** es **CM** o N, preferentemente al menos una **X** es **NL**.

4. El compuesto de la reivindicación 1, en el que al menos un **B'** es

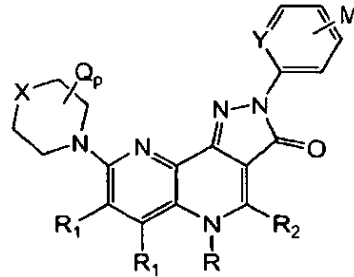


- 20

5. El compuesto de la reivindicación 4, en el que **Z**<sub>1</sub> es N (nitrógeno) o **Z**<sub>2</sub> es N (nitrógeno).



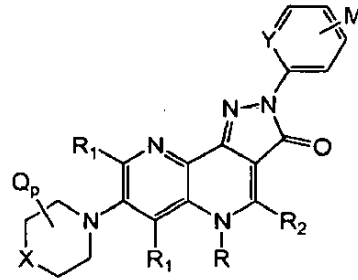
6. El compuesto de la reivindicación 2 que tiene la fórmula **Ih**:



**(Ih)**

5 o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que **Y** es **CM** o N, preferentemente al menos una **X** es **NL** u oxígeno.

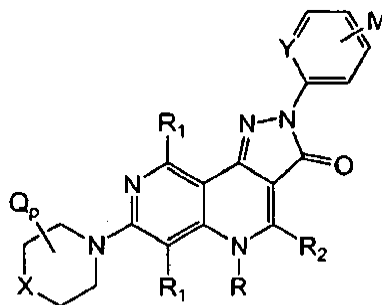
7. El compuesto de la reivindicación 2 que tiene la fórmula **Ik**:



**(Ik)**

o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que **Y** es **CM** o N, preferentemente al menos una **X** es **NL** u oxígeno.

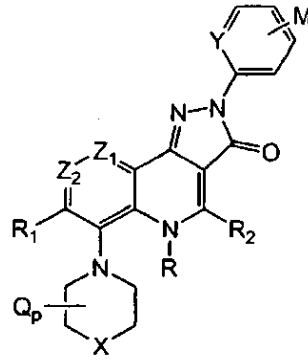
10 8. El compuesto de la reivindicación 3 que tiene la fórmula **In**:



**(In)**

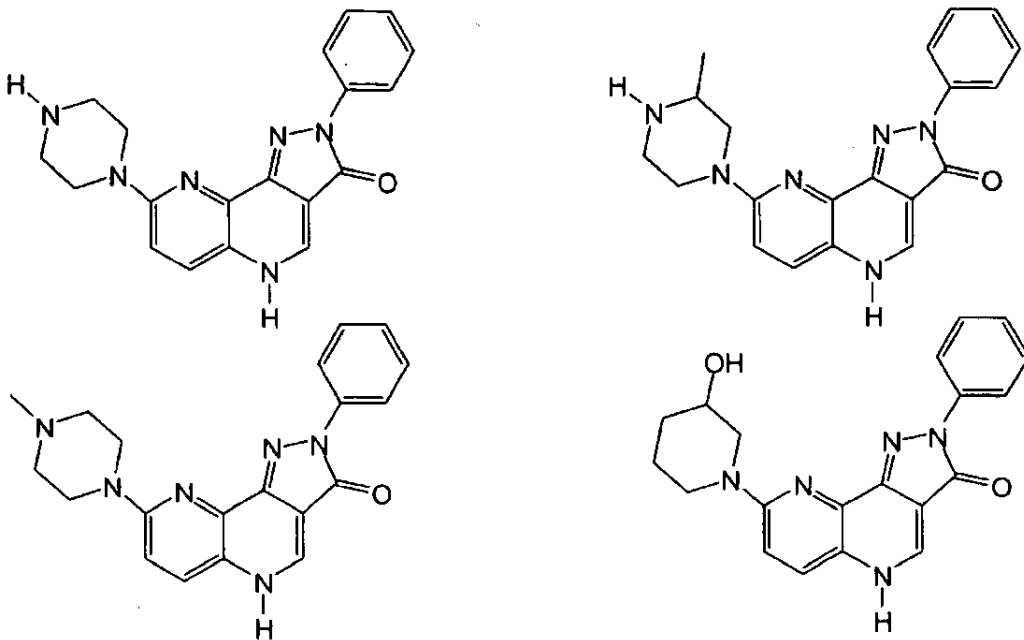
o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que **Y** es **CM** o N, preferentemente al menos una **X** es **NL** u oxígeno.

9. El compuesto de la reivindicación 1 que tiene la fórmula Iq:

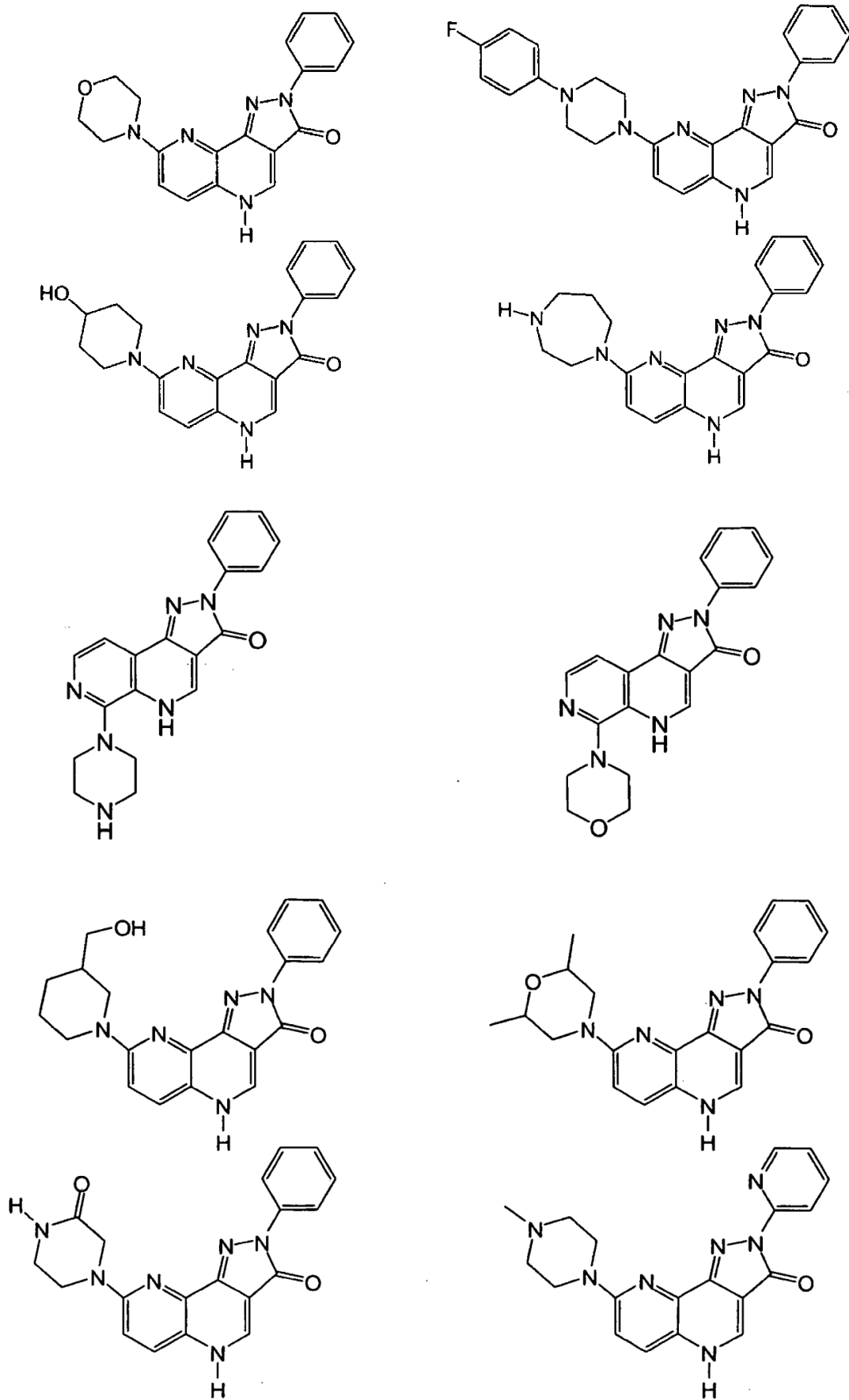


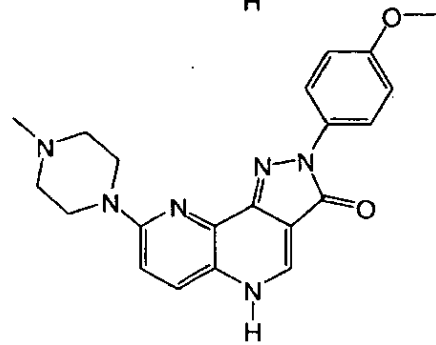
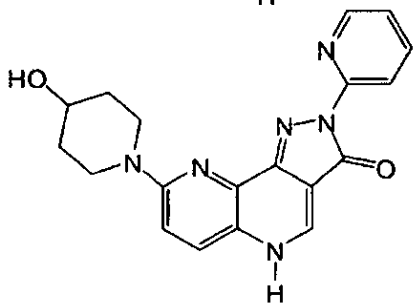
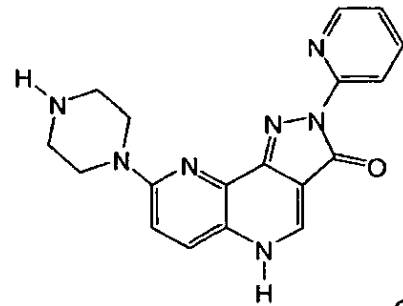
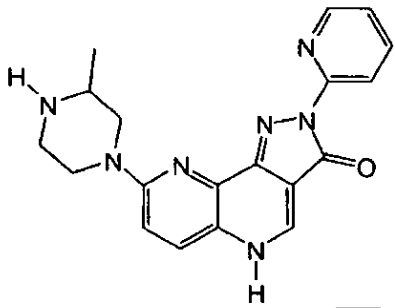
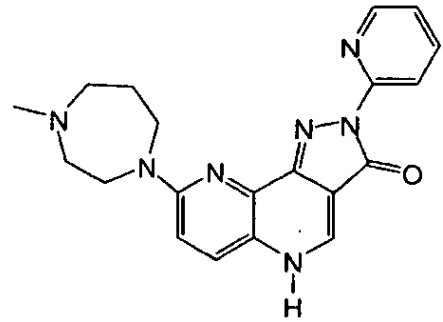
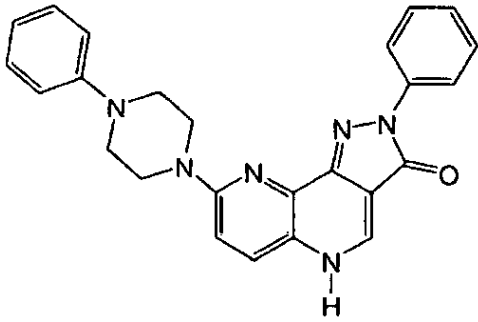
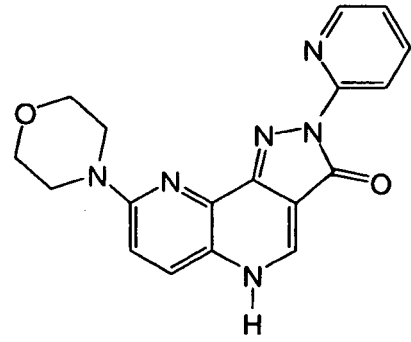
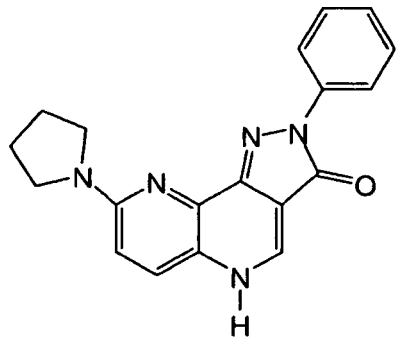
(Iq)

- 5 o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables, en la que Y es CM o N, preferentemente Z<sub>1</sub> es N; y Z<sub>2</sub> es C(R<sub>1</sub>), o Z<sub>2</sub> es N; y Z<sub>1</sub> es C(R<sub>1</sub>).
10. El compuesto de la reivindicación 9, en el que al menos una X es NL.
11. El compuesto de la reivindicación 9, en el que al menos una X es oxígeno.
12. El compuesto según la reivindicación 1, seleccionado del grupo que consiste en:

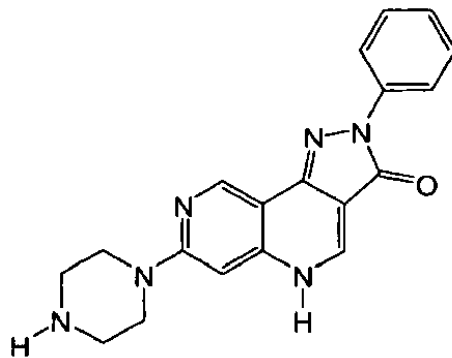


10





y



o un tautómero del mismo, o sus sales farmacéuticamente aceptables

13. Una composición farmacéutica que comprende:

- 5 a) un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12; y  
b) un vehículo farmacéuticamente aceptable.

14. Uso de un compuesto de la reivindicación 1 o la composición farmacéutica de la reivindicación 13, en la preparación de un medicamento para la modulación de uno o más subtipos de GABA<sub>A</sub> en un animal, preferentemente los subtipos de GABA<sub>A</sub> es GABA<sub>A</sub> α5.

15. El uso de acuerdo con la reivindicación 14, en el que la modulación es negativa o positiva.

- 10 16. El uso de la reivindicación 14, en el que el compuesto modula de forma negativa el subtipo GABA<sub>A</sub> α5.

17. Uso de un compuesto de la reivindicación 1 o la composición farmacéutica de la reivindicación 13, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de una disfunción cognitiva en un animal.

- 15 18. Uso de un compuesto de la reivindicación 1 o la composición farmacéutica de la reivindicación 13, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos psiquiátricos en un animal, preferentemente el trastorno psiquiátrico es un trastorno de ansiedad, trastorno del sueño, depresión o esquizofrenia.

19. Uso de un compuesto de la reivindicación 1 o la composición farmacéutica de la reivindicación 13, en la preparación de un medicamento para el tratamiento de trastornos mejorados mediante la modulación de las subunidades GABA<sub>A</sub> α distintas a α5 en un animal, preferentemente la modulación es positiva o negativa.

- 20 20. Uso de un compuesto de la reivindicación 1 o la composición farmacéutica de la reivindicación 13, en la preparación de un medicamento para aumentar la función cognitiva en un animal en condiciones en las que la memoria aumenta, preferentemente la memoria es memoria a largo plazo o memoria a corto plazo.

21. Uso de un compuesto de la reivindicación 1 o la composición farmacéutica de la reivindicación 13, en la preparación de un medicamento aumentar la función cognitiva en un animal en el que el subtipo GABA<sub>A</sub> α5 en un animal está modulado de forma negativa.