

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 512 447**

51 Int. Cl.:

**A61K 31/4196** (2006.01)

**A61K 31/425** (2006.01)

**C07D 249/10** (2006.01)

**C07D 401/06** (2006.01)

**C07D 413/12** (2006.01)

**C07D 249/16** (2006.01)

**C07D 487/04** (2006.01)

**A61P 9/10** (2006.01)

**A61P 25/28** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **02.11.2011 E 11797264 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **06.08.2014 EP 2635275**

54 Título: **Compuestos que modulan el Gpr17, diagnóstico y uso terapéutico de estos**

30 Prioridad:

**03.11.2010 IT MI20102037**

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

**24.10.2014**

73 Titular/es:

**CENTRO CARDIOLOGICO MONZINO SPA  
(100.0%)  
Via Carlo Parea, 4  
20138 Milano, IT**

72 Inventor/es:

**ABBRACCHIO, MARIAPIA;  
EBERINI, IVANO;  
PARRAVICINI, CHIARA;  
MARTINI, CLAUDIA;  
TRINCAVELLI, MARIA LETIZIA y  
DANIELE, SIMONA**

74 Agente/Representante:

**LAZCANO GAINZA, Jesús**

ES 2 512 447 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

### Descripción

Compuestos que modulan el Gpr17, diagnóstico y uso terapéutico de estos

#### 5 Campo de la invención

10 La presente invención concierne a compuestos capaces de modular la actividad del receptor de GPR17, en una forma altamente específica, y su uso en el tratamiento y diagnóstico de enfermedades y trastornos que involucran la activación de dicho receptor, particularmente su uso para propósitos de reparación y/o neuroprotectores en la isquemia cerebral, cardíaca y renal, en la lesión traumática cerebral y en enfermedades desmielinizantes, tales como la esclerosis múltiple, esquizofrenia, depresión, enfermedad de Alzheimer, demencia tipo Alzheimer, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica y todas los otros trastornos neuroinflamatorios.

#### 15 Estado de la técnica

La posibilidad de modular los procesos de reparación/remodelación del tejido cerebral, a través de objetivos específicos, abre algunos prospectos terapéuticos interesantes para el tratamiento de déficit y enfermedades cerebrales, que hasta el momento han sido consideradas incurables. Actualmente la profesión médica tiene recursos disponibles, los cuales limitan el progreso de la neurodegeneración que sigue al trauma y a las enfermedades crónicas o agudas, pero que son incapaces de inducir la regresión de los procesos de degeneración cerebral y la reconstrucción de los circuitos cerebrales. En consecuencia, las enfermedades tipo isquemia cerebral y esclerosis múltiple aún se encuentran entre las principales causas de muerte y discapacidad permanente en el mundo occidental, que incluye a Europa, Japón, los Estados Unidos y Canadá.

25 Recientemente, el GPR17, un nuevo receptor tipo P2Y que pertenece a la superfamilia de los receptores acoplados a proteína G (GPCR), se identificó como un nuevo y prometedor objetivo terapéutico para la manipulación de disfunciones cerebrales resultantes de isquemia, trauma, enfermedades crónicas o agudas, caracterizadas por una disfunción de la mielina, la vaina que rodea las extensiones nerviosas que permiten la transmisión de los impulsos. El GPR17 es un receptor dual que responde a dos clases distintas de ligandos endógenos: nucleótidos extracelulares y leucotrienos cisteinil (CysLTs). Durante un evento isquémico, se produce una acumulación masiva de nucleótidos extracelulares y CysLT en el tiempo del daño, lo cual sugiere que la acción coordinada de ambas clases de moléculas induce la respuesta inflamatoria y los consecuentes procesos de reparación/remodelación [Ciana y otros, 2006, EMBO J 25:4615]. El GPR17, objetivo molecular común de éstas dos clases de moléculas, es uno de los principales elementos que gobiernan éstos mecanismos, los cuales participan en el desarrollo del daño y en su reparación posterior. De hecho, los datos de algunos inventores de la presente solicitud, reportados en WO2006/045476 A2, demuestran que la inhibición específica del GPR17 *in vivo*, por ligandos antagonistas u oligonucleótidos antisentido para la expresión del receptor reduce el progreso del daño isquémico en un modelo de isquemia focal en ratas. Junto al efecto de incremento del daño, atribuido al GPR17, el cual se observa en los primeros estados agudos de la respuesta isquémica (de acuerdo con datos recientes, esto se debe a la desregulación del receptor bajo estas condiciones patológicas), se ha observado que el GPR17 puede producir efectos beneficiosos en las etapas posteriores mediante la estimulación de los mecanismos de reparación endógenos, típicos de algunas poblaciones celulares presentes en las regiones isquémicas [Lecca y otros. 2008, PLoS ONE 3:e3579]. Particularmente, se ha postulado que el GPR17 juega una parte en el control de la transición de células precursoras de oligodendrocitos hacia oligodendrocitos maduros con un fenotipo mielinizante [Chen y otros, 2009, Nat Neurosci 12:1398] el cual tiene un potencial para reparar el daño, promoviendo así la reconstrucción de la vaina de mielina dañada. Los estudios detallados de la expresión del GPR17 en las células precursoras de oligodendrocitos, mantenidas *in vitro* en varios estados de diferenciación han demostrado que el receptor aparece muy temprano en estas células, y alcanza su máximo grado de expresión cuando el precursor cesa de proliferar, abandona el ciclo celular y comienza su diferenciación irreversible. No obstante, en estados posteriores (pre-oligodendrocito inmaduro), el GPR17 debe ser desactivado de manera que las células puedan completar su diferenciación terminal [Fumagalli y otros, 2011, J Biol Chem 286:10593]. El GPR17 identifica por tanto una etapa muy precisa en la diferenciación del oligodendrocito. Los datos obtenidos *in vitro* demuestran además que los agonistas del GPR17 (por ejemplo UDP-glucosa) promueven la maduración celular, mientras que los antagonistas (por ejemplo el cangrelor) la demoran. Más aún, la eliminación temprana del GPR17 en las primeras etapas de la diferenciación, usando ARN silenciadores pequeños, inhiben completamente la maduración celular. El GPR17 está presente, por lo tanto, en una etapa muy temprana en estos precursores, y es necesario para dirigir su diferenciación. Estas conclusiones están confirmadas por estudios llevados a cabo *in vivo* en roedores en desarrollo y adultos [Boda y otros, 2011, Glia doi: 10.1002/glia.21237]. Finalmente, confirmando el rol crucial del GPR17 en el proceso mielinizante, se observó alrededor de las lesiones desmielinizantes, una acumulación de los precursores oligodendrogiales activados que expresan el receptor, en el modelo *in vivo* de desmielinización focal inducida por bromuro de etidio [Boda y otros, Glia doi: 10,1002/glia.21237].

60 El GPR17, por lo tanto, representa un sensor de daños que se activa como resultado de un trauma/daño, y un promotor del proceso de remodelación/reparación. El mismo mecanismo ha sido observado no sólo en el cerebro, sino también en la

médula ósea en un modelo de lesión espinal típica, y en el modelo de desmielinación focal mencionado anteriormente. Por lo tanto, el GPR17 es un objetivo promisorio para identificar nuevas estrategias de tratamiento para reparar lesiones presentes en la isquemia y en enfermedades desmielinizantes. Los ligandos altamente selectivos para el GPR17 son necesarios para este propósito, debido a que los ya conocidos compiten por otros receptores correlacionados con este.

Los ligandos no selectivos para el GPR17 se conocen en el presente. Las moléculas disponibles actualmente que son capaces de modular su actividad están compartidas con otros receptores correlacionados, nombrados los receptores P2Y y CysLT, y pertenecen clínicamente a la clase de ligandos agonista/antagonista, los cuales se han usado como tratamiento por años. La ausencia de una nueva, farmacológicamente específica, herramienta representa un obstáculo para explotar el potencial terapéutico del GPR17 sin interferencia con otros mecanismos fisiológicos.

Actualmente, no existe tratamiento terapéutico para los trastornos isquémicos en los cuales está involucrado el GPR17 (los que están debidos a un daño tanto de neuronas como de mielina) que actúan sobre el mecanismo subyacente al daño.

La isquemia cerebral es la tercera causa de muerte más alta en la Unión Europea, con 650,000 casos un año, y la causa principal de discapacidad de largo término.

La esclerosis múltiple, una enfermedad crónica progresiva causada por la destrucción de la vaina de mielina, es además una de las enfermedades del sistema nervioso más diseminadas, afectando aproximadamente 1.3 millones de personas a nivel mundial, 400,000 de ellos solamente en Europa. Esta incidencia está agravada por el hecho de que, a diferencia de los trastornos isquémicos, la esclerosis múltiple afecta a personas muy jóvenes que necesitan tratamiento crónico, con un principal impacto social y sobre el presupuesto financiero del Servicio de Salud Nacional. Los tratamientos de primera selección farmacológica para esta enfermedad son específicos, y no suficientes para controlar su desarrollo. Por ejemplo, aunque los medicamentos actualmente disponibles, los cuales pertenecen a la categoría terapéutica de inmunomoduladores, presentan una eficacia modesta en tratamientos agudos, estos son incapaces de curar la enfermedad, sólo enlentecen su progreso. Más aún, todos los medicamentos disponibles causan efectos adversos significativos invalidantes, sistémicos y locales.

En vista del rol establecido del GPR17 en la formación de la vaina de mielina [Lecca y otros. 2008, PLoS ONE 3:e3579, Chen y otros, 2009, Nat Neurosci 12:1398], sus nuevos ligandos específicos representan agentes farmacológicos poderosos para el tratamiento de la isquemia cerebral y la esclerosis múltiple y el tratamiento de otros tipos de trastornos caracterizados por la desmielinación para la cual aún no existe una cura disponible, tales como la esquizofrenia, depresión, enfermedad de Alzheimer, demencia tipo Alzheimer, enfermedad de Parkinson, esclerosis lateral amiotrófica (ALS) y corea de Huntington.

El uso de moduladores altamente específicos puede tener un impacto considerable en el tratamiento de estos trastornos humanos, sin el riesgo de la interferencia con otras funciones fisiopatológicas mediadas por otros receptores similares.

Las únicas moléculas actualmente disponibles en el mercado que son capaces de inhibir la actividad del GPR17 pertenecen a la familia lukast (montelukast, pranlukast y zafirlukast) y fueron comercializadas como antagonistas al receptor CysLT, por ejemplo sólo con una indicación anti-asma. Otro antagonista conocido del GPR17 es el cangrelor, un derivado del trifosfato de adenosina, el cual no ha completado ensayos clínicos de fase 3 y fue desarrollado como un antagonista de algunos receptores P2Y para usar como un inhibidor de la agregación de plaquetas. EL Ticagrelor, una alternativa al cangrelor, fue recientemente aprobado por la Agencia de Medicinas Europea (EMA) (2 de diciembre de 2010) y por la Administración de Alimentos y Fármacos de los Estados Unidos (20 de julio de 2011) como un nuevo inhibidor de la agregación de plaquetas.

#### DESCRIPCIÓN DE LA INVENCION

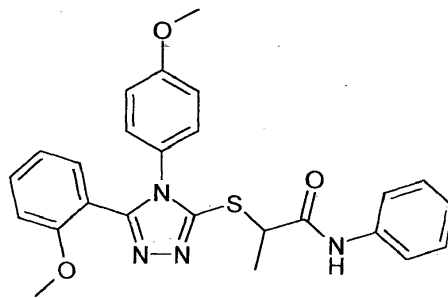
La presente invención se relaciona con compuestos, que son altamente específicos para el GPR17, identificados de acuerdo con su habilidad para interactuar con la estructura molecular de su sitio aglutinante presente sobre el receptor GPR17. La modelación de dicho sitio se desarrolló por medio de un procedimiento experimental *in silico* basado en un método de modelación quimérico comparativo desarrollado por los inventores de la presente solicitud [Eberini y otros, 2011, J Comput Aided Mol Des 25:743]. Esto permitió la identificación de compuestos, los cuales interactúan con el receptor GPR17 en una forma optimizada, tanto en términos geométricos como energéticos. Los compuestos farmacológicamente activos se identificaron sobre esta base.

El tema de la invención es un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

2-[[5-(2-metoxifenil)-4-(4-metoxifenil)-4H-1,2,4-triazol-3-il]tio]-N-fenilpropanamida de la fórmula (I):

5

10



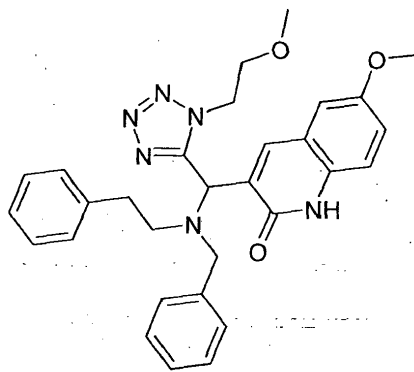
(I);

15

6-metoxi-3-[[1-(2-metoxietio)-1H-tetrazol-5-il] [(2-feniletil)(fenilmetil)-amino]metil]-2(1H)-quinolinona de la fórmula (II):

20

25



(II);

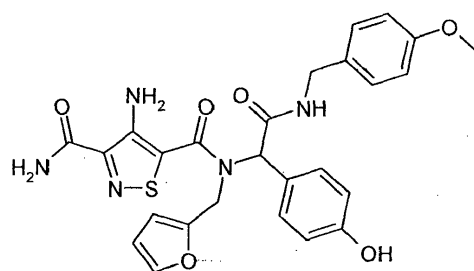
30

35

4-amino-N5-(2-furanilmetilo)-N5-[1-(4-hidroxifenil)-2-[[4-metoxifenil)-metilo]amino-2-oxoetil]-3,5-isotiazol dicarboxamida de la fórmula (III):

40

45



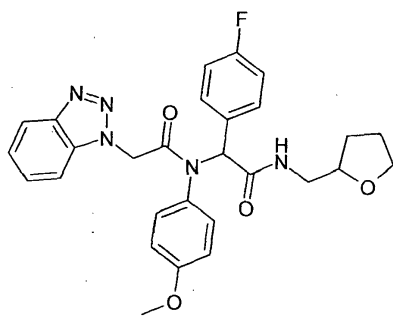
(III);

50

N-[1-(4-fluorofenil)-2-oxo-2-[[tetrahydro-2-furanilo]metilo]amino]etil]-N-(4-metoxifenil)-1H-benzotriazol-1-acetamida de la fórmula (IV):

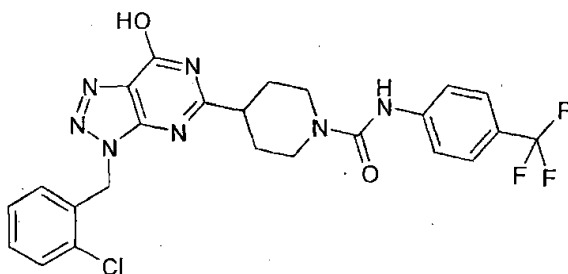
55

60



(IV);

4-[3-[(2-clorofenil)metil]-6,7-dihidro-7-oxo-3H-1,2,3-triazol[4,5-d]pirimidin-5-il]-N-[4-(trifluorometil)fenil]-1-piperidinacarboxamida de la fórmula (V):



(V);

o una sal, isómero, enantiómero sencillo, racemato o tautómero del mismo, como agente terapéutico.

Los compuestos de acuerdo con la invención se conocen y están comercialmente disponibles, pero no se reporta para ellos una actividad farmacológica o aplicación terapéutica.

El compuesto de la fórmula (I) tiene el Número de Registro CAS 483283-39-2 (vendido por Asinex, código ASN02563583).

El compuesto de la fórmula (II) tiene el Número de Registro CAS 570365-12-7 (vendido por Asinex, código ASN04421891).

El compuesto de la fórmula (III) tiene el Número de Registro CAS1032654-11-7 (vendido por Asinex, código ASN04450772).

El compuesto de la fórmula (IV) tiene el Número de Registro CAS1032892-26-4 (vendido por Asinex, código ASN04885796).

El compuesto de la fórmula (V) tiene el Número de Registro CAS 837404-68-9 (vendido por Asinex, código ASN06917370).

Los compuestos de la invención pueden prepararse de acuerdo con los procedimientos de síntesis detallados en los ejemplos 1-6 de la presente solicitud.

Dichos compuestos poseen un alto poder sobre el GPR17, significativamente mayor que el de ligandos endógenos, y no están correlacionados estructuralmente con los ligandos conocidos capaces de interactuar con el GPR17, los cuales son principalmente agonistas y antagonistas de los receptores P2Y y CysLT relacionados a GPR17.

Los compuestos de acuerdo con la invención, cuando se ensayaron *in vitro* con los ensayos farmacológicos clásicos, desarrollados para determinar la afinidad/actividad de las moléculas activas sobre los GPCR, probaron ser moduladores potentes y efectivos de la actividad de GPR17, con una alta afinidad por el GPR17 (CI<sub>50</sub>/CE<sub>50</sub> nanomolar, subnanomolar/picomolar), lo cual permite que la especificidad de acción se incremente y que cualquier efecto secundario debido a la interacción con otros receptores P2Y o CysLT se minimice. Los mismos compuestos, ensayados en un prueba de actividad pro-mielinizante [Fumagalli y otros, 2011, J Biol Chem 286:10593] basado en el uso de cultivos de células

precursoras de oligodendrocitos (OPC) purificadas a partir de cerebros de ratas post-natales, mantenidas *in vitro*, promovieron la maduración de células precursoras a oligodendrocitos maduros que expresan la proteína básica mielina.

5 Un tema adicional de la invención se representa por lo tanto por un compuesto de la fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), como se definió anteriormente, como agente terapéutico para usar en el tratamiento de trastornos que involucran la activación del receptor GPR17, particularmente para el tratamiento de enfermedades y disfunciones neurodegenerativas neoplásicas y renales, cardiovasculares, del sistema inmune e inflamatorias crónicas y agudas.

10 De acuerdo con un aspecto preferido de la invención los compuestos de la fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), como se definió anteriormente, se usan como agentes neuroprotectores y/o reparadores en la isquemia, trauma cerebral y esclerosis múltiple.

15 De acuerdo con otro aspecto preferido de la invención, los compuestos de la fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) como se definió anteriormente se usan para tratar una enfermedad desmielinizante tal como esclerosis múltiple, esquizofrenia, depresión, enfermedad de Alzheimer, demencia tipo Alzheimer, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington, esclerosis lateral amiotrófica (ALS) o una enfermedad neuro-inflamatoria.

20 De acuerdo con otro aspecto preferido, los compuestos de la fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) como se definió anteriormente se usan para tratar la isquemia renal, cardíaca o cerebral.

De acuerdo con un aspecto particularmente preferido, los compuestos de la fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) como se definió anteriormente se usan para tratar el daño isquémico cerebral.

25 Los compuestos de acuerdo con la presente invención pueden administrarse en dosis en el intervalo de 0.01 mg a 10 mg por kg de peso corporal al día. Un método preferido de administración usa una dosis de aprox. 0.5 mg a aprox. 5 mg por kg de peso corporal al día, usando dosis unitarias que administra aprox.. 2 mg a aprox. 200 mg de sustancia activa en 24h a un paciente que pesa aprox. 70 Kg. Tal método de administración puede ajustarse para obtener un mejor efecto terapéutico. Por ejemplo, las dosis pueden ajustarse sobre la base de la situación terapéutica del paciente.

30 Los compuestos de acuerdo con la invención pueden administrarse por vía oral, intravenosa, intramuscular o subcutánea.

35 Para el uso terapéutico, los compuestos de acuerdo con la invención, pueden formularse adecuadamente con excipientes o portadores fisiológicamente aceptables. Las formas farmacéuticas adecuadas pueden variar de acuerdo con el compuesto específico y la vía de administración. La dosis del ingrediente activo podrá determinarse en cada ocasión, sobre la base de la severidad de la enfermedad a tratar y la condición general del paciente. Las composiciones farmacéuticamente adecuadas pueden prepararse de acuerdo con las indicaciones reportadas en Remington's Pharmaceutical Sciences, 18o. ed., Mack Publishing Co.

40 Las composiciones farmacéuticas de acuerdo con la presente invención contienen cantidades terapéuticamente efectivas de al menos un compuesto de acuerdo con la invención, mezclado con excipientes compatibles con el uso farmacéutico.

45 Las composiciones orales generalmente incluyen un diluyente inerte o un portador comestible y pueden comprimirse en tabletas o encerrarse en cápsulas de gelatina. Otras formas posibles de administración oral son cápsulas, píldoras, elixires, suspensiones y siropes.

50 Dichas tabletas, píldoras, cápsulas y composiciones similares pueden contener los siguientes ingredientes (adicionalmente al compuesto activo): un aglutinante tal como la celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un portador tales como almidón o lactosa, un agente desintegrante tales como el ácido algínico, primogel, almidón de maíz o similares; un lubricante tales como el estearato magnésico; un fluidificador tal como el dióxido de silicio coloidal; un edulcorante tales como la sacarosa o sacarina o un saborizante tales como saborizante de menta, salicilato de metilo o saborizante de naranja. Cuando la composición seleccionada está en forma de cápsula, esta puede contener además un líquido portador tal como un aceite graso. Otras composiciones pueden contener varios materiales, por ejemplo agentes de recubrimiento (para tabletas y píldoras) tales como azúcar o goma laca. El material usado para preparar las composiciones debe ser farmacéuticamente puro, y no tóxico en las dosis usadas.

55 Para preparar composiciones farmacéuticas para administración parenteral, el ingrediente activo puede incluirse en soluciones o suspensiones, el cual puede además contener los siguientes constituyentes: un diluyente estéril tal como agua para inyectables, solución salina, aceite, polietilenglicol, glicerina, propilenglicol, u otros solventes sintéticos; agentes antibacterianos tal como alcohol bencílico; antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito de sodio; agentes quelantes tal como ácido etilendiaminotetraacético; amortiguadores tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para ajustar la

tonicida de la solución, por ejemplo cloruro de sodio o dextrosa. Las preparaciones parenterales pueden estar contenidas en frascos, jeringas desechables, y botellas de vidrio o plástico.

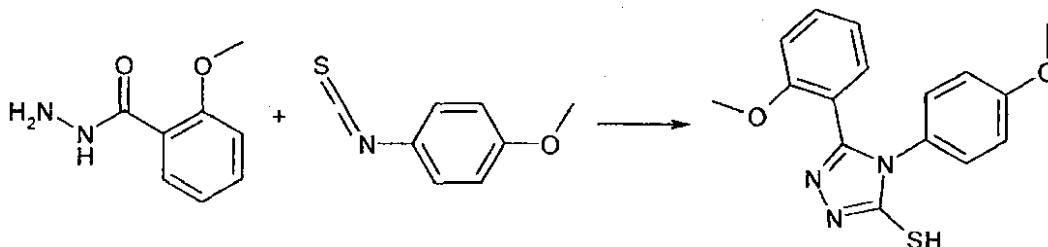
Un tema adicional de la invención es por lo tanto una composición farmacéutica que contiene un compuesto de la fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) como se definió anteriormente, en mezcla con un portador o excipiente adecuado, farmacéuticamente aceptable.

Otros temas de la invención se refieren al compuesto de la fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V) como se definió anteriormente, para usarlo en el diagnóstico y estudio de la función del receptor GPR17 bajo condiciones patológicas o fisiológicas.

La invención será ahora ilustrada por los ejemplos siguientes y las figuras anexas.

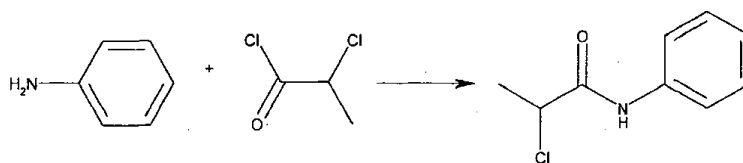
Ejemplo 1 - Síntesis de 2-[[5-(2-metoxifenil)-4-(4-metoxifenil)-4H-1,2,4-triazol-3-il]tio]-N-fenilpropanamida de la fórmula (I)

a) Preparación de 4-(4-metoxifenil)-5-(2-metoxifenil)-4H-[1,2,4]triazol-3-tiol.



2-metoxibenzoyl hidrazida (Lancaster; 0.2 mol) se disolvió en etanol (100 mL). A esta solución se añadió 4-metoxifenilo isotiocianato (Acros; 0.22 mol). La mezcla se mantuvo a reflujo agitando por 8 horas. Una TLC control realizada luego de este tiempo mostró la formación del tioureido intermedio. En este punto, se añadió una solución acuosa de KOH (0.24 mol) al 15%. La mezcla resultante se calentó a reflujo bajo agitación por 20h. AL completar la reacción (control TLC) la mezcla de reacción se concentró a baja presión. El residuo obtenido se diluyó con agua (200 mL) y se acidificó hasta pH 4.5 con HCl 2N. El precipitado formado se separó por filtración, se lavó con agua y se secó. El producto crudo se cristalizó con dimetilformamida, y dio 4-(4-metoxifenil)-5-(2-metoxifenil)-4H-[1,2,4]triazol-3-tiol (46 g, 74%).

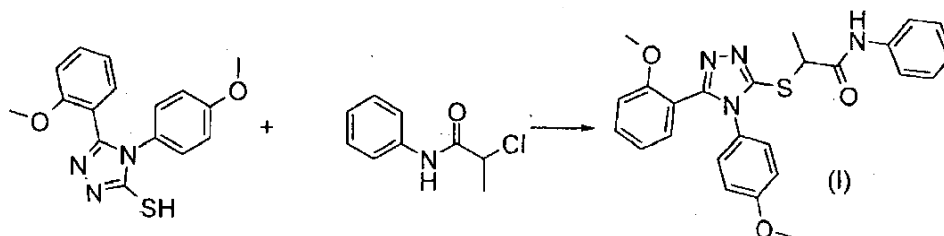
b) Preparación de 2-cloro-N-fenilpropionamida.



2-cloropropionil cloruro (1.1 mol) se añadió a una solución de fenilamina (1 mol) a aprox. 200-300 mL de acetonitrilo anhidro (o DMF anhidro). La adición fue realizada en pequeñas porciones para prevenir la ebullición y el metalizado al vacío de la mezcla de reacción. Este último se calentó después a reflujo (o cuando el solvente de reacción es DMF, se calienta a 100°C) hasta el fin del desarrollo del HCl gaseoso y la desaparición del punto de amina en la TLC. Después se dejó que la mezcla de reacción retornara a la temperatura ambiente, se vertió en agua fría (1 L) y se mantuvo bajo agitación el tiempo necesario para solidificar el producto. El precipitado formado se separó por filtración, se lavó con agua y se secó. Cuando, luego de verter y agitar en agua fría, el producto no solidificó pero permaneció en la forma de aceite, la fase oleosa de la amida se separó, la fase acuosa se extrajo con éter etílico y las fases orgánicas combinadas se secaron sobre Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se

concentraron a baja presión, y el residuo se pulverizó sobre éter etílico para dar 2-cloro-N-fenilpropionamida (130 g, 71%) en forma sólida.

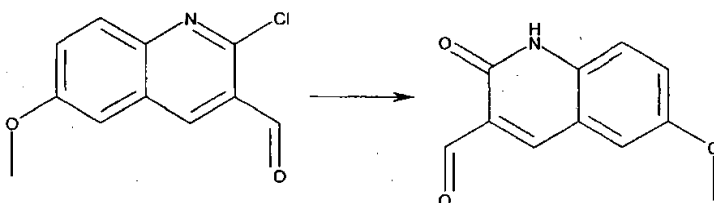
c) 2-[[5-(2-metoxifenil)-4-(4-metoxifenil)-4H-1,2,4-triazol-3-il]tio]-N-fenilpropanamida (I)



El 4-(4-metoxifenil)-5-(2-metoxifenil)-4H-[1,2,4]triazol-3-tiol obtenido en la etapa a) (1 mmol) se suspendió en etanol (8 ml). Una solución acuosa de KOH (0.9 mmol) al 15% y trietilamina (0.3 mmol) se añadieron a la solución obtenida. La mezcla se calentó hasta 50°C y se añadió el 2-cloro-N-fenilpropionamida obtenido en la etapa b) (1.1 mmol). La mezcla obtenida se calentó a reflujo por 4h. Luego de enfriar hasta temperatura ambiente, la mezcla se diluyó con agua (aprox. 5-10 mL). El precipitado formado se separó por filtración, se lavó con una mezcla (1/1) de etanol/agua y se secó para dar un producto crudo. La recrystalización con etanol/agua (1/1) (o con acetona/agua 1/1) proporcionó 2-[[5-(2-metoxifenil)-4-(4-metoxifenil)-4H-1,2,4-triazol-3-il]tio]-N-fenilpropanamida (I) puro (315 mg, 66%).

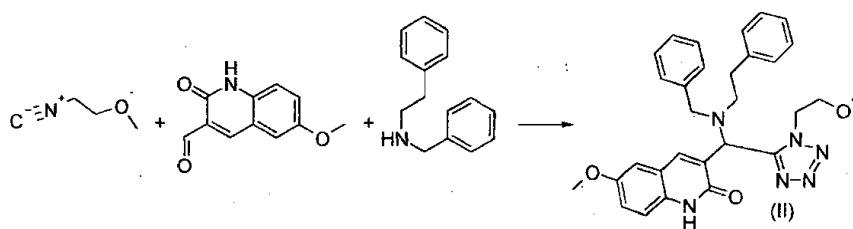
Ejemplo 2 - síntesis de 6-metoxi-3-[[1-(2-metoxietilo)-1H-tetrazol-5-il][(2-feniletil)(fenilmetil)amino]metil]-2(1H)-quinolinona de la fórmula (II)

a) Preparación de 6-metoxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxaldehído



Una mezcla de 2-cloro-6-metoxiquinolin-3-carboxaldehído (0.1 mol) y agua (0.5 mol) en ácido acético (200 mL) se calentó a reflujo con agitación por 8h. La reacción se monitoreó mediante TLC. Se enfrió la mezcla de reacción. El precipitado formado se recogió por filtración, se lavó con acetona y se secó al aire para dar el 6-metoxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxaldehído (17 g, 83%).

b) 6-metoxi-3-[[1-(2-metoxietil)-1H-tetrazol-5-il][(2-feniletil)(fenilmetil)amino]metil]-2(1H)-quinolinona (II)

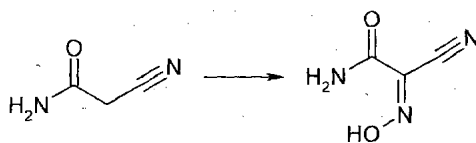




Una mezcla del 6-metoxi-2-oxo-1,2-dihidroquinolin-3-carboxaldehído obtenido en la etapa a) (2 mmol) y N-bencilfenilamina (Acros; 2 mmol) en metanol (10 mL) se calentó a 50°C bajo agitación por 2-3 h. El 2-metoxietil isonitrilo (Zerenex; 2 mmol) y el trimetilsililo azida (3 mmol) se añadieron después, y la mezcla se calentó bajo agitación a 50°C por 10 h. Luego de completada la reacción (evaluación por TLC), el solvente se eliminó por destilación a baja presión. El residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente diclorometano) para dar el 6-metoxi-3-[[1-(2-metoxietil)-1H-tetrazol-5-il]-(2-feniletilo)(fenilmetil)amino]metil]-2(1H)-quinolinona (II) puro (331 mg, 35%).

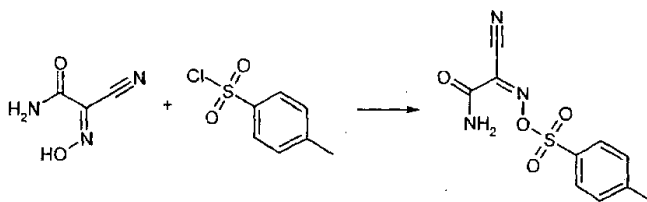
Ejemplo 3 - Síntesis de 4-amino-N5-(2-furanilmetilo)-N5-[1-(4-hidroxifenil)-2-[[4-metoxifenil]metil]amino]-2-oxoetil]-3,5-isotiazol-dicarboxamida de la fórmula (III)

a) Preparación de 2-ciano-2-[(Z)-hidroxiimino]acetamida



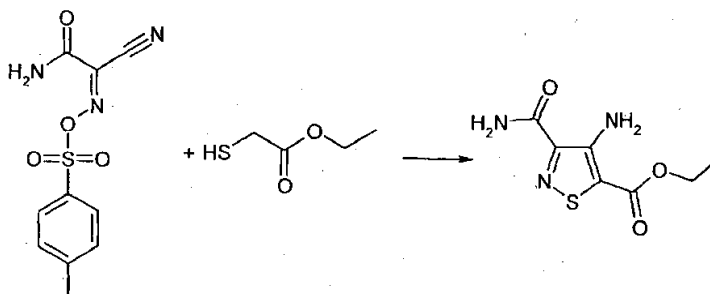
Una solución saturada de nitrito sódico (172.5 g, 2.5 mol) en agua fue añadida gota a gota a 5-10°C en una solución de 2-cianoacetamida (84 g, 1 mol) en ácido acético (250 mL). La mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación a 10°C por 12 h. La mezcla obtenida se filtró, y el sólido recogido se secó para dar el 2-ciano-2-[(Z)-hidroxiimino]acetamida (88 g, 78%).

b) Preparación de 2-ciano-2-[(Z)-tosiloxiimina]acetamida



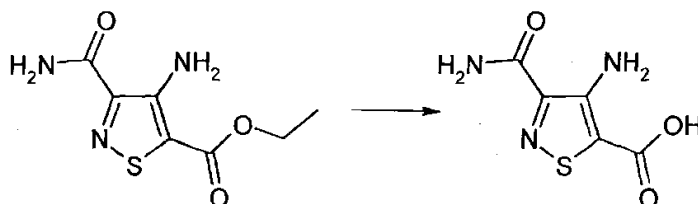
El cloruro de 4-metilbencenosulfonil (51.3 g, 0.27 mol) se añadió en porciones, a 5°C, en una solución de 2-ciano-2-[(Z)-hidroxiimino]-acetamida (28.25 g, 0.25 mol) en piridina anhidra (100 mL). La mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación a temperatura ambiente por 6h, y se dejó reposar toda la noche y después se trató con etanol (300 mL). La mezcla obtenida se filtró. El sólido recuperado se lavó con etanol frío y se secó, para dar el 2-ciano-2-[(Z)-tosiloxiimino]acetamida puro (54 g, 81%).

c) Preparación de etil 4-amino-3-carbamoiisotiazol-5-carboxilato



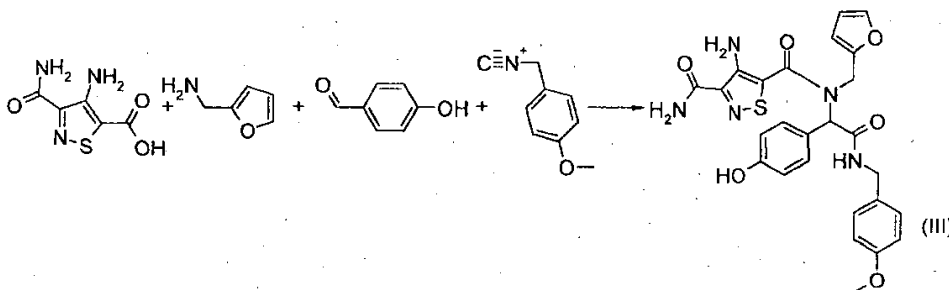
La piperidina (8.5 g, 0.1 mol) se goteó a 5°C en una solución de 2-ciano-2-[(Z)-tosiloxiimino]acetamida (53.4 g, 0.2 mol) y etil 2-mercaptoacetato (25 g, 0.21 mol) en etanol (250 mL). La mezcla de reacción se mantuvo bajo agitación a temperatura ambiente por 6h, y después se dejó en reposo toda la noche. La mezcla de reacción se enfrió a -60°C. El precipitado formado se recuperó por filtración, se lavó con etanol frío (100 mL) y se secó al aire para dar el etil 4-amino-3-carbamoilisotiazol-5-carboxilato (25 g, 58%).

d) Preparación de ácido 4-amino-3-carbamoilisotiazol-5-carboxílico



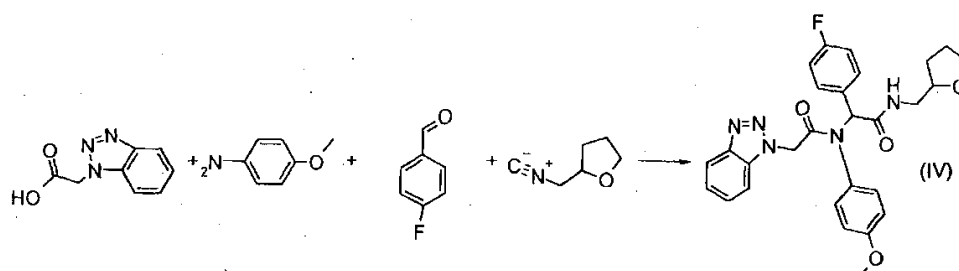
Una solución de NaOH (8 g, 0.2 mol) en agua (60 mL) fue añadida gota a gota a una solución de etil 4-amino-3-carbamoilisotiazol-5-carboxilato (21.5 g, 0.1 mol) en etanol (100 mL). La mezcla de reacción se mantuvo en agitación toda la noche. Después se evaporó, el residuo obtenido se disolvió en agua, y la fase acuosa se extrajo con acetato de etilo. La fase acuosa se acidificó después hasta pH 4 con HCl concentrado. EL producto precipitado como un polvo blanco que se recuperó por filtración se secó, para dar el 4-amino-3-carbamoilisotiazol-5-ácido carboxílico (15.5 g, 83%).

e) 4-amino-N5-(2-furanilmetil)-N5-[1-(4-hidroxifenil)-2-[[4-metoxifenil]metil]amino]-2-oxoetil]-3,5-isotiazol dicarboxamida (III)



Una mezcla del 4-hidroxibenzaldehído (Acros; 2 mmol) y furfurilamina (Acros; 2 mmol) en metanol (10 mL) se mantuvo bajo agitación a 50°C por 2-3 h. El 4-metoxibencil isonitrilo (Fluorochem; 2 mmol) y el ácido 4-amino-3-carbamoilisotiazol-5-carboxílico preparado en la etapa c) (2 mmol) se añadió después, y la mezcla se mantuvo bajo agitación a temperatura ambiente por 24h. Luego del completamiento de la reacción (evaluado mediante TLC), el solvente se eliminó a baja presión y el residuo obtenido se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente diclorometano), para dar 4-amino-N5-(2-furanilmetil)-N5-[1-(4-hidroxifenil)-2-[[4-metoxifenil]metil]amino]-2-oxoetil]-3,5-isotiazol dicarboxamida (III) puro (522 mg, 54%).

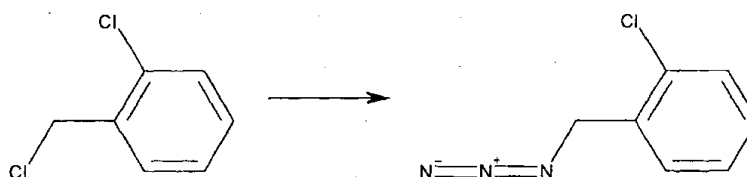
Ejemplo 4 - Síntesis de N-[1-(4-fluorofenil)-2-oxo-2-[[tetrahidro-2-furanil]metil]amino]etil]-N-(4-metoxifenil)-1H-benzotriazol-1-acetamida de la fórmula (IV)



15 Una mezcla del 4-fluorobenzaldehído (TCI-Europa; 2 mmol) y p-anisidina (Acros; 2 mmol) en metanol (10 mL) se mantuvo bajo agitación a 50°C por 2-3 h. El 2-tetrahidrofurfuril isonitrilo (Zerenex; 2 mmol) y el ácido (1H-benzotriazol-1-il) acético (Matrix; 2 mmol) se añadieron después, y la mezcla obtenida se mantuvo bajo agitación a temperatura ambiente por 24h. Luego del completamiento de la reacción (evaluación por TLC), el solvente se eliminó a baja presión. El residuo se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice, eluyente diclorometano), para dar N-[1-(4-fluorofenil)-2-oxo-2-[(tetrahidro-2-furanilo)metil]amino]etil]-N-(4-metoxifenil)-1H-benzotriazol-1-acetamida puro (IV) (505 mg, 51%).

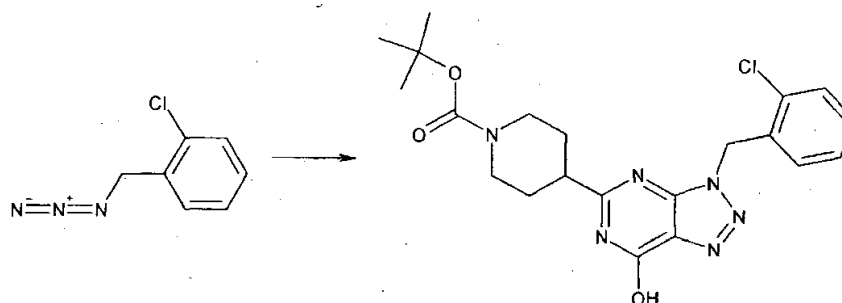
20 Ejemplo 5 - Síntesis del 4-[3-[(2-clorofenil)metil]-6,7-dihidro-7-oxo-3H-1,2,3-triazol[4,5-d]pirimidin-5-il]-N-[4-(trifluorometil)fenil]-1-piperidinacarboxamida de la fórmula (V)

25 a) Preparación de 1-azidometil-2-clorobenceno



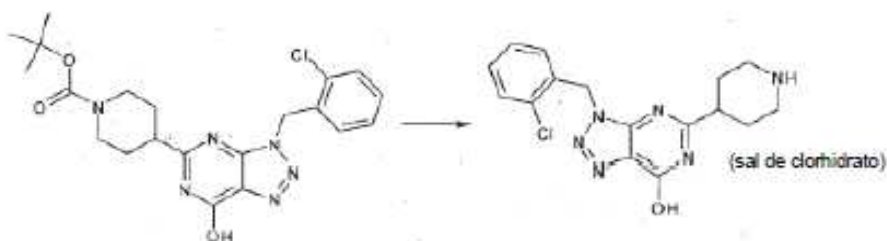
40 La azida sódica (200 mmol) se añadió a una solución de cloruro de 2-clorobencilo (200 mmol) en acetonitrilo anhidro (200 mL). La mezcla se mantuvo bajo agitación a 60°C por 2 h (monitoreada con TLC) y se enfrió a temperatura ambiente. El solvente se eliminó a presión reducida. El residuo obtenido se diluyó con agua (300 mL) y se extrajo con diclorometano (2x150 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron con Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, se concentraron a baja presión y se secaron para dar 1-azidometil-2-clorobenceno (26 g, 77%).

45 b) Preparación de terc-butil 4-[3-(2-clorobencil)-7-hidroxi-3H-[1,2,3]triazol[4,5-d]pirimidin-5-il]-1-piperidinacarboxilato



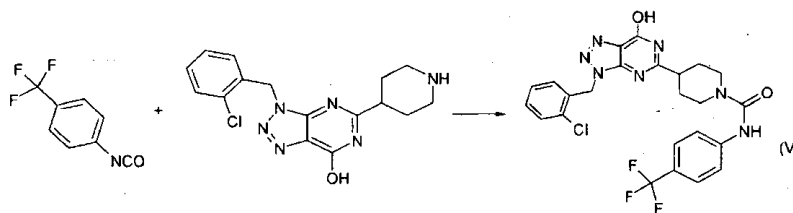
El 2-cianoacetamida (100 mmol) se añadió a una solución de sodio (400 mmol) en isopropanol anhidro (1 L) mantenido bajo agitación. La mezcla se calentó a reflujo, y se añadió 1-azidometil-2-clorobenceno (100 mmol). La mezcla obtenida se mantuvo bajo reflujo con agitación por 2h, y después se añadió 1-terc-butil éster 4-etil éster del ácido piperidin-1,4-dicarboxílico (100 mmol); el calentamiento a reflujo continuó bajo agitación por otras 2h, y el progreso de la reacción se monitoreó con TLC. El solvente se eliminó a presión reducida. El residuo obtenido se diluyó con agua (400 mL), dando lugar a la separación de un sólido. El sólido se recuperó por filtración y recristalizó a partir de dioxano para dar terc-butil 4-[3-(2-clorobencil)-7-hidroxi-3H-[1,2,3]triazol[4,5-d]pirimidin-5-il-1-piperidincarboxilato (27 g, 61%).

c) Preparación de 3-(2-clorobencil)-5-(piperidin-4-il)-3H-[1,2,3]triazol[4,5-d]pirimidin-7-ol clorhidrato



El terc-butil 4-[3-(2-clorobencil)-7-hidroxi-3H-[1,2,3]triazol[4,5-d]pirimidin-5-il]-1-piperidincarboxilato preparado en la etapa b) (50 mmol) se disolvió en una solución al 14% de HCl gaseoso en dioxano (100 mL). La solución se mantuvo bajo agitación y reflujo por 5h y después se enfrió a temperatura ambiente para dar un sólido. El sólido se recogió por filtración, se lavó con acetona caliente y se secó para dar el 3-(2-clorobencil)-5-(piperidin-4-il)-3H-[1,2,3]triazol[4,5-d]pirimidin-7-ol en la forma de clorhidrato (16 g, 85%). El producto obtenido se convirtió a la base libre por tratamiento con una solución acuosa al 30% de hidróxido de potasio, seguido por extracción con diclorometano y la evaporación del solvente. La base libre resultante se usó en la siguiente etapa de síntesis.

d) 4-[3-[(2-clorofenil)metil]-6,7-dihidro-7-oxo-3H-1,2,3-triazol[4,5-d]pirimidin-5-il]-N-[4-(trifluorometil)fenil]-1-piperidincarboxamida de la fórmula (V)



El 4-trifluorofenil isocianato (1.1 mmol) se añadió a una solución de 3-(2-clorobencil)-5-(piperidin-4-il)-3H-[1,2,3]triazol[4,5-d]pirimidin-7-ol (1 mmol) en acetonitrilo (5 mL). La mezcla de reacción se calentó a reflujo por 30 min y después se enfrió a temperatura ambiente, se trató con una solución acuosa saturada de  $\text{NaHCO}_3$  (15 mL) y se extrajo con diclorometano (2x10 mL). Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  y se concentraron a baja presión hasta secar y dar un producto crudo. Dicho producto se purificó por cromatografía en columna (gel de sílice; eluyente hexano/acetato de etilo) para dar 4-[3-[(2-clorofenil)metil]-6,7-dihidro-7-oxo-3H-1,2,3-triazol[4,5-d]pirimidin-5-il]-N-[4-(trifluorometil)fenil]-1-piperidincarboxamida (V) (245 mg, 58%).

Ejemplo 6 Evaluación - *in vitro* de la actividad de los compuestos de acuerdo con la invención por ensayos farmacológicos funcionales para la determinación de parámetros de afinidad tales como  $\text{CE}_{50}/\text{CI}_{50}$  y eficacia (A: [ $^{35}\text{S}$ ]aglutinante GTP $\gamma$ S; B: propiedades pro-mielinizantes en cultivos de células precursoras de oligodendrocitos (OPC)

A- Los compuestos de acuerdo con la invención se evaluaron para su actividad funcional sobre el GPR17 usando un ensayo bien conocido para los GPCR, el ensayo de unión al GTP $\gamma$ S [ $^{35}\text{S}$ ], el cual se basa en la habilidad del agonista para

incrementar la unión del GTP radioactivo cuando el GPCR está activado. La actividad antagonista se evalúa de acuerdo con la habilidad para contrarrestar la unión incrementada al [<sup>35</sup>S]GTPγS inducida por el agonista de referencia LTC<sub>4</sub>.

#### Preparación y transfección de los cultivos celulares

Las células humanas 1321N1 se cultivaron según lo descrito en [Fumagalli y otros, 2004, Biochem Pharmacol 68:113]. Para el ensayo de [<sup>35</sup>S]GTPγS, 10<sup>6</sup> células 1321N1 se sembraron en frascos de 75cm<sup>2</sup> y se transfectaron por el método de precipitación con fosfato cálcico, con el vector pcDNA3.1 que contiene la construcción que codifica para el receptor humano GPR17, y con el vector vacío pcDNA3.1 como control [Fumagalli y otros, 2004, Biochem Pharmacol 68:113].

#### Ensayo de unión al [<sup>35</sup>S]GTPγS

La activación de los GPCR por agonistas estimula la disociación del GDP a partir de la proteína G, incrementando así la unión del GTP en su lugar. Este incremento en la unión del GTP a la proteína G puede ser cuantificado *in vitro* con el [<sup>35</sup>S]GTPγS. El efecto de la activación del GPCR sobre la unión del [<sup>35</sup>S]GTPγS es catalítico, ya que éste incrementa la velocidad de unión del [<sup>35</sup>S]GTPγS más que el equilibrio de unión del [<sup>35</sup>S]GTPγS. Consecuentemente, el ensayo de unión del [<sup>35</sup>S]GTPγS es intrínsecamente una curva de respuesta-concentración funcional, no un ensayo de unión en equilibrio [Lazareno, 1999, Methods Mol Biol 1106:231; Milligan, 2003, Trends Pharmacol Ski 24:87]. Para algunos GPCR, la unión estimulada por el agonista (es decir, la diferencia entre la unión de GTP en la presencia o ausencia del agonista) incrementa con el tiempo, llega a un máximo y después cae a cero; los incrementos óptimos en la unión del [<sup>35</sup>S]GTPγS inducidos por el agonista se obtienen frecuentemente antes que se alcance el equilibrio, más que en el equilibrio. Los estudios preliminares de constantes de asociación cinéticas realizadas sobre las células 1321N1 para definir las condiciones de unión óptimas han sido ya publicadas [Ciana y otros, 2006, EMBO J 25:4615]. Las células control y transfectadas fueron homogenizadas en tris-HCl 5 mM y EDTA 2 mM (pH 7.4) y centrifugadas a 48000 g por 15 min a 4°C. Los precipitados resultantes (membranas plasmáticas) se lavaron en tris-HCl 50 mM y MgCl<sub>2</sub> 10 mM (pH 7.4) y se almacenaron a -80°C hasta usarse. La unión del [<sup>35</sup>S]GTPγS estimulada por los nucleótidos en las membranas de células que expresan el receptor humano se realizó como se describió previamente en [Fumagalli y otros, 2004, Biochem Pharmacol 68:113; Ciana y otros, 2006, EMBO J 25:4615 y Calleri y otros, 2010, J Med Chem 53:3489].

#### B- Ensayo de actividad pro-mielinizante

##### Preparación de cultivos primarios de células precursoras de oligodendrocitos (OPCs)

Los OPC se aislaron de cultivos gliales mixtos de corteza de ratas Sprague-Dawley en el segundo día post-natal, usando el método diseñado en nuestro laboratorio y descrito previamente en detalle en [Fumagalli y otros, 2011, J Biol Chem 286:10593]. Los OPC se cultivaron en placas que contenían portaobjetos de 24 mm recubiertos con poli-D,L-ornitina en medio Neurobasal con un suplemento de B27 al 2% (Invitrogen), L-glutamina (2 mM) y enriquecido con los factores de crecimiento PDGF y betaFGF (10 ng/ml) para promover la proliferación. Con el objetivo de promover la proliferación, luego de 24 h, el medio de cultivo se reemplazó con el Neurobasal con 2% de B27 sin los factores de crecimiento y con la adición de triyodotironina T<sub>3</sub> (400 ng/ml).

##### Tratamientos farmacológicos

En el día 5 las OPCs se colocaron en medio de diferenciación que contenía T<sub>3</sub> con los 5 compuestos en prueba a las concentraciones finales de 1 nM (compuestos de la fórmula (I) y (V)) o 10 nM (compuestos de la fórmula (II), (III) y (IV)) o, en muestras paralelas, con los agonistas endógenos conocidos de referencia LTD<sub>4</sub> (10 nM) y UDP-glucosa (100 μM).

##### Ensayo de actividad pro-mielinizante

Para verificar si los nuevos ligandos de la fórmula (I), (II), (III), (IV) y (V) pueden promover la diferenciación de las OPCs, como ya se describió para los agonistas endógenos [Fumagalli y otros, 2011, J Biol Chem 286:10593], el grado de madurez de los cultivos se analizó 48h después del tratamiento, por la medición de la expresión de un marcador específico para la diferenciación oligodendroglial terminal, la proteína básica mielina (MBP). La habilidad de los agonistas para promover la mielinización se evaluó por la medición del incremento en el número de células positivas para el marcador MBP presente en el cultivo comparado con el control tratado con el portador sólo. Particularmente, 48h luego del tratamiento con los agonistas, las células se fijaron en paraformaldehído al 4% en PBS 0.1 M y se marcaron por inmunocitoquímica usando un anticuerpo específico para la MBP. El marcaje se realizó de acuerdo con el procedimiento siguiente: luego de 30 min de bloqueo de los sitios específicos en el amortiguador GSDB (450 mM NaCl, 20 mM de amortiguador fosfato 240 mM, pH 7.4, 15% de suero de carnero, 0.3% Triton X-100), los portaobjetos se incubaron por 2.5 h a temperatura ambiente con un anticuerpo primario anti-MBP para rata (Chemicon, 1:200 en GSDB). Las células se incubaron después por 1 h a

temperatura ambiente con el anticuerpo secundario anti-ratón de carnero, conjugado con Alexa Fluor 555 (1:600 en GSDB; Molecular Probes, Invitrogen). Finalmente, el núcleo de la célula se marcó con el marcador nuclear fluorescente Hoechst 33258 por 20 min a temperatura ambiente (1:10.000, Molecular Probes, Invitrogen). Los portaobjetos se montaron en el medio de montaje fluorescente Dako (Dako, Milan) sobre los cubreobjetos y se analizaron con un microscopio óptico invertido (AXIOVERT 200 M, Zeiss, Milán). Las imágenes se procesaron y se adquirieron con el programa Axiovision 4.4, en el canal de fluorescencia de la rodamina para la MBP. Los efectos de los tratamientos sobre la mielinación OPC se cuantificaron mediante conteo manual usando el programa ImageJ (Wayne Rasband, Rama de Servicios de Investigación del Instituto Nacional de Salud Mental de Bethesda, Estados Unidos).

## 10 *Análisis Estadístico*

El programa Graph-Pad Prism se usó para el análisis y presentación gráfica de los datos de unión del [<sup>35</sup>S]GTPγS. Todos los datos se muestran como la media ± DEM de los tres experimentos diferentes. Los datos se probaron para la significación estadística con la prueba de Student pareada o el análisis de varianza (ANOVA unidireccional), según fuera adecuado. Cuando se observaron diferencias significativas, se realizó la prueba de comparación múltiple (ANOVA unidireccional). Un valor de P < 0.05 se consideró significativo.

### *Resultados*

20 Los resultados del ensayo de unión del [<sup>35</sup>S]GTPγS se muestran en la Tabla.

Todos los compuestos de acuerdo con la invención presentan una potencia muy alta en un intervalo estrecho de concentraciones, que están en el intervalo de sub-nanomolar al nanomolar/picomolar.

25 Todos los compuestos probados, apartando el compuesto de la fórmula (III) (ASN04450772), exhibieron una eficacia comparable o mayor que la del compuesto de referencia LTC<sub>4</sub>. Solamente el compuesto de la fórmula (III) presentó una eficacia menor (89.6%) que la del LTC<sub>4</sub>, lo que sugiere que este compuesto puede actuar como un agonista parcial.

30 La figura 1, panel A muestra las curvas dosis-respuesta para los compuestos de acuerdo con la invención en el ensayo de [<sup>35</sup>S]GTPγS realizado en las células 1321N1 que expresan el GPR17. El compuesto de referencia LTC<sub>4</sub> fue incapaz de inducir una respuesta en las células transfectadas sólo con el vector control pcDNA3.1 (línea negra), confirmando que la unión del [<sup>35</sup>S]GTPγS es mediada por la presencia del GPR17. La figura 1 panel B muestra el efecto antagonista del cangrelor sobre la activación del GPR17 inducida por los compuestos de acuerdo con la invención. Los resultados demuestran que todos los compuestos de acuerdo con la invención son antagonizados por el cangrelor, un antagonista del P2Y<sub>12/13</sub>, y el GPR17, capaz de unirse al sitio de unión de nucleótidos uracilo del GPR17 [Ciana y otros, 2006, EMBO J 25:4615].

40 Las curvas de concentración-respuesta obtenidas para el compuesto más potente (compuesto de la fórmula (I); ASN02563583) en la presencia de diferentes concentraciones de cangrelor (Figura 1, panel C) están desplazadas hacia la derecha (incremento en CE50), pero no se observó un efecto sobre la eficacia, lo que sugiere que el cangrelor es un antagonista competitivo para el compuesto de fórmula I y que dichas dos moléculas compiten por el mismo sitio de unión en el GPR17.

45 El mismo experimento se repitió con el montelukast, un antagonista del CysLTR1 [Brink, 2003, Adv Exp Med Biol 525:7] (Figura 1, panel D). Los medicamentos de la clase lukast son conocidos por actuar como inhibidores no solamente del CysLTR1, sino también del GPR17 [Ciana y otros, 2006, EMBO J 25:4615]. No obstante, las curvas de dosis-respuesta para el compuesto de fórmula I, obtenido en presencia de montelukast, muestran una reducción en la eficacia del compuesto, lo que sugiere un antagonismo no competitivo de montelukast en el efecto del compuesto de fórmula I. Dicho mecanismo se ejerce probablemente a través de un efecto alostérico del montelukast sobre un sitio de unión diferente del específico para nucleótidos uracilo a los cuales el compuesto de fórmula parece unirse.

Los resultados de la prueba de mielinación se muestran en la Figura 2 (actividades pro-mielinizantes de los compuestos de acuerdo con la invención - ensayo conducido en OPC).

55 Como se esperaba, los agonistas endógenos del GPR17 con actividad conocida (LTE<sub>4</sub> y UDP) incrementaron el número de células maduras en el cultivo, expresando la MBP 48 h después del inicio del tratamiento.

60 Todos los compuestos de acuerdo con la invención probaron además ser activos, con una actividad en el intervalo entre un 140 y 170%; aunque ellos se usaron a concentraciones nanomolares (1 o 10 nM, como se muestra en la Figura 2), todos presentaron una actividad comparable a o mayor que la de los compuestos de referencia estándar.

El compuesto (III), el cual probó la mayor actividad en este ensayo, actúa como agonista parcial del GPR17, y es por lo tanto particularmente interesante. Esto puede representar el prototipo de una nueva clase de agentes protectores óptimos capaces de desarrollar su acción en dos etapas sucesivas: primero al actuar como antagonistas en la fase inicial del daño y contrarrestar la activación excesiva del receptor GPR17 en presencia de concentraciones locales altas de sus ligandos endógenos, que son responsables de su desregulación y muerte celular, y en segundo lugar al actuar como agonistas en la fase de recuperación funcional, cuando la estimulación del receptor es necesaria para activar la diferenciación de la célula y el proceso de re-mielinación.

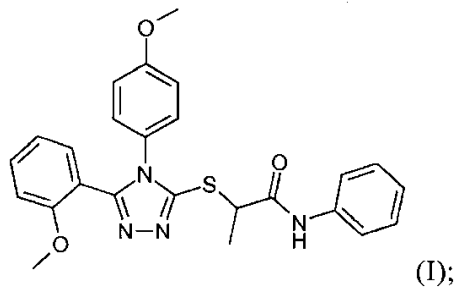
**Tabla** - Parámetros farmacológicos para los compuestos de acuerdo con la invención determinados en la unión del [<sup>35</sup>S]GTPγS

| Compuesto                                       | EC <sub>50</sub> | E <sub>máx</sub> | % E <sub>max</sub> v estándar | CI <sub>50</sub> compuestos vs cangrelor |
|---|------------------|------------------|-------------------------------|--|
| (V)<br><b>ASN06917370</b>                       | 268 ± 9 pM       | 161.5 ± 2.4      | 111.5 **                      | 0.78 ± 0.22 nM                           |
| (I)<br><b>ASN02563583</b>                       | 109 ± 28 pM      | 145.6 ± 5.7      | 100.6                         | 0.64 ± 0.19 nM                           |
| (III)<br><b>ASN04450772</b>                     | 1.18 ± 0.08 nM   | 129.7 ± 0.7      | 89.6 ***                      | 0.51 ± 0.04 nM                           |
| (IV)<br><b>ASN04885796</b>                      | 2.27 ± 0.07 nM   | 173.5 ± 0.5      | 119.8 ***                     | 0.48 ± 0.17 nM                           |
| (II)<br><b>ASN04421891</b>                      | 3.67 ± 0.51 nM   | 206.8 ± 8.3      | 142.8 ***                     | 0.71 ± 0.09 nM                           |
| LTC <sub>4</sub> 100nM                          |                  | 144.8 ± 0.4      | 100                           |  |
| ** P < 0.01 vs LTC <sub>4</sub> fijado a 100%   |                  |                  |                               |  |
| *** P < 0.001 vs LTC <sub>4</sub> fijado a 100% |                  |                  |                               |  |

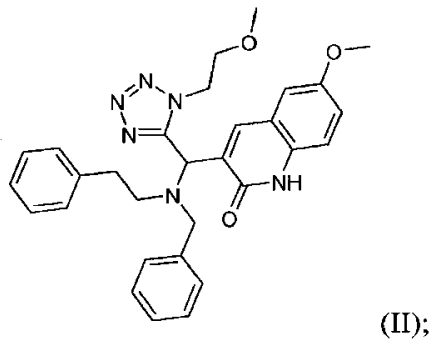
Reivindicaciones

1. Un compuesto seleccionado del grupo que consiste en:

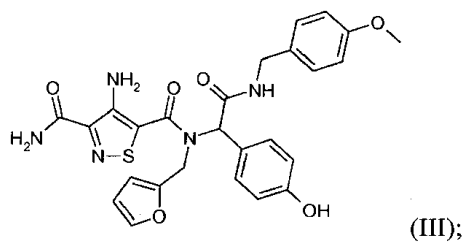
5 2-[[5-(2-metoxifenil)-4-(4-metoxifenil)-4H-1,2,4-triazol-3-il]tio]-N-fenilpropanamida de la fórmula (I):



6-metoxi-3-[[1-(2-metoxietil)-1H-tetrazol-5-il][(2-feniletil)-(fenilmetil)amino]metil]-2(1H)-quinolinona de la fórmula (II):

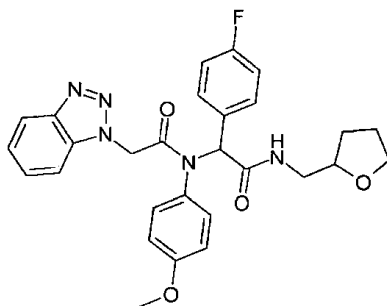


4-amino-N5-(2-furanilmetil)-N5-[1-(4-hidroxifenil)-2-[[4-metoxifenil]metil]amino]-2-oxoetil]-3,5-isotiazol dicarboxamida de la fórmula (III):



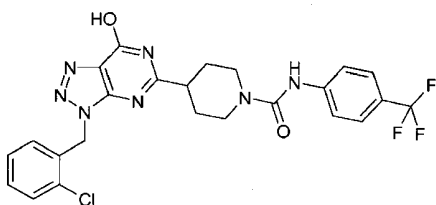


N-[1-(4-fluorofenil)-2-oxo-2-[[[(tetrahidro-2-furanyl)metil]amino]etil]-N-(4-metoxifenil)-1H-benzotriazol-1-acetamida de la fórmula (IV):



(IV);

4-[3-[(2-clorofenil)metil]-6,7-dihidro-7-oxo-3H-1,2,3-triazol[4,5-d]pirimidin-5-il]-N-[4-(trifluorometil)fenil]-1-piperidinacarboxamida de la fórmula (V):



(V);

o una sal, isómero, enantiómero sencillo, racemato o tautómero del mismo, para usar como un agente terapéutico.

2. Un compuesto de la fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), como se define en la reivindicación 1, para usar en un método de tratamiento de enfermedades o disfunciones que involucran la activación de GPR17.
3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 2, para usar en un método de tratamiento de enfermedades o disfunciones neoplásicas, renales, cardiovasculares, del sistema inmune, y neurodegenerativas inflamatorias crónicas o agudas.
4. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 2-3, para usar como un agente neuroprotector o un agente para la reparación de la isquemia y el trauma cerebral.
5. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 2-3 para usar en un método de tratamiento de una enfermedad desmielinizante seleccionada de esclerosis múltiple, esquizofrenia, depresión, enfermedad de Alzheimer, demencia tipo Alzheimer, enfermedad de Parkinson, corea de Huntington.
6. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 2-3 para usar en un método de tratamiento de la isquemia cardíaca o renal.
7. Un compuesto de acuerdo con las reivindicaciones 2-3 para usar en un método de tratamiento de la lesión cerebral isquémica.
8. Un compuesto de la fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), como se define en la reivindicación 1, para usar en el diagnóstico.
9. Una composición farmacéutica que contiene un compuesto de fórmula (I), (II), (III), (IV) o (V), como se define en la reivindicación 1, en mezcla con un portador o excipiente farmacéuticamente aceptable.

FIGURA I

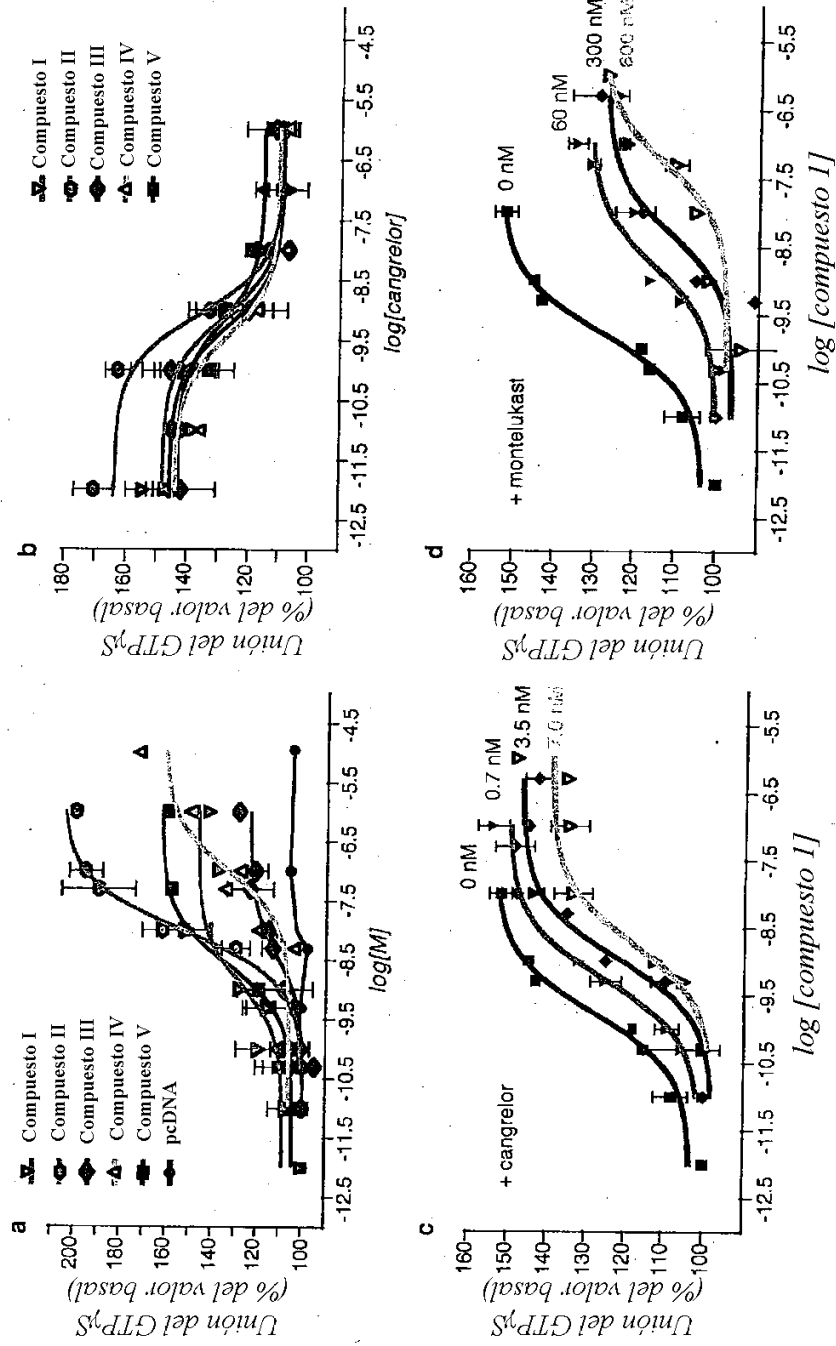


Figura 2

