(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 539 502**

(51) Int. Cl.:

C07D 487/04 (2006.01)
A61K 31/5517 (2006.01)
A61P 25/20 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.01.2012** **E 12701824 (0)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.03.2015** **EP 2683719**

(54) Título: **Compuestos del ácido [(5H-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico sustituidos como agonistas inversos de H1/antagonistas de 5-HT_{2A} con actividad dual**

(30) Prioridad:

07.02.2011 US 201161440092 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
01.07.2015

(73) Titular/es:

ELI LILLY AND COMPANY (100.0%)
Lilly Corporate Center
Indianapolis, IN 46285, US

(72) Inventor/es:

CAMP, ANNE MARIE;
GALLAGHER, PETER THADDEUS;
SANDERSON, ADAM JAN;
LEDGARD, ANDREW JAMES y
COATES, DAVID ANDREW

(74) Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 539 502 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 del ácido [(5H-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico sustituidos como agonistas inversos de H1/antagonistas de 5-HT_{2A} con actividad dual

La histamina desempeña un papel importante en una diversidad de procesos fisiológicos a través de su interacción con al menos cuatro receptores acoplados a proteínas G diferentes, los receptores H1-H4. En el SNC, los receptores H1 desempeñan un papel clave en el ciclo de regulación del sueño y los antagonistas/agonistas inversos de H1 son conocidos por inducir somnolencia.

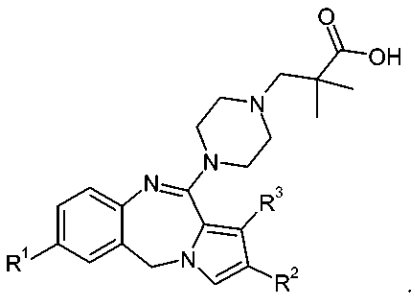
Igualmente, la serotonina desempeña papeles importantes en una diversidad de procesos fisiológicos a través de su interacción con al menos catorce receptores acoplados a proteínas G diferentes. La modulación de los receptores 5-HT_{2A} en el SNC desempeña un papel clave en el ciclo de regulación del sueño y los antagonistas de 5-HT_{2A} han demostrado mejorar el sueño pasivo y el mantenimiento del sueño en pacientes con insomnio.

Se han usado compuestos que tienen actividad de antagonista o agonista inverso sobre H1 o 5-HT_{2A} en el tratamiento del insomnio (por ejemplo, doxepina y trazodona, respectivamente) y han presentado efectos farmacológicos en estudios del sueño con animales. Sin embargo, los agonistas inversos/antagonistas no selectivos de H1/5-HT_{2A} con actividad dual están disponibles comercialmente.

El documento US 4,192,803 describe ciertos compuestos 4-(5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazinilo sustituidos para su uso como antipsicóticos y neurolépticos.

La presente invención proporciona una familia de compuestos del ácido (5*H*-pirrolo [2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico sustituidos con potencia alta de agonista inverso para el receptor H1 y potencia alta de antagonista para el receptor 5-HT_{2A}. Algunos compuestos de la presente invención son también selectivos para los receptores H1 y 5-HT_{2A} , particularmente frente a otros receptores de histamina, receptores de serotonina y otros receptores fisiológicamente pertinentes, particularmente frente al receptor 5-HT_{2C}, receptor $GABA_A$, receptores muscarínicos, receptores dopaminérgicos, receptores adrenérgicos, y el canal hERG. A través de modelos animales, ciertos compuestos también han demostrado que pueden ser útiles para el tratamiento de trastornos del sueño caracterizados por mal mantenimiento del sueño. Se cree que, como tales, los compuestos de la invención son útiles para el tratamiento de trastornos del sueño caracterizados por mala latencia del sueño o mal mantenimiento del sueño o ambos, tales como el tratamiento del insomnio, como, por ejemplo, insomnio primario crónico o transitorio, o insomnio secundario crónico o transitorio, o ambos. Los ejemplos de insomnio secundario incluyen, pero no están limitados a insomnio asociado con trastornos depresivos (por ejemplo, trastorno depresivo mayor, distimia, y/o ciclotimia), insomnio asociado con trastornos de ansiedad (por ejemplo, trastorno de ansiedad generalizado y/o fobia social), insomnio asociado con dolor (por ejemplo, fibromialgia, osteodinia o artralgia crónica, tales como las asociadas con artritis o artrosis, o dolor neuropático diabético), insomnio asociado con reacciones alérgicas (por ejemplo, asma alérgica, prurito, rinitis, congestión, etc.), insomnio asociado con trastornos de pulmón o vías respiratorias (por ejemplo, con apnea obstructiva del sueño, enfermedad reactiva de las vías respiratorias, etc.), insomnio asociado con trastornos psiquiátricos, demencia, y/o enfermedades neurodegenerativas, y/o insomnio asociado con trastornos del ritmo circadiano del sueño (por ejemplo, trastorno del sueño por turnos de trabajo, trastorno por desfase horario, trastorno de fase del sueño retrasada, trastorno de fase del sueño avanzada, y síndrome del sueño-vigilia diferente a 24 horas, etc.).

Adicionalmente, ciertos de los compuestos de la presente invención demuestran la potenciación de sus efectos sobre el sueño sin movimientos oculares rápidos (sueño nMOR) y mantenimiento del sueño cuando se coadministran con inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina. La presente invención proporciona compuestos de Fórmula I:



;

I

en la que R^1 es cloro o metilo;

R^2 es metilo, etilo, isopropilo, cloro, bromo, trifluorometilo, o metiltio; y

R^3 es hidrógeno o metoxi;

o una sal farmacéuticamente aceptable de los mismos.

En otro aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable. Lo que es más, este aspecto de la invención proporciona una composición farmacéutica adaptada para el tratamiento del insomnio, como, por ejemplo, insomnio caracterizado por latencia del sueño prolongada o mal mantenimiento del sueño o ambos, como, por ejemplo, insomnio primario, desfase horario, trastorno del sueño por turnos de trabajo, trastorno de fase del sueño retrasada, trastorno de fase del sueño avanzada, y/o trastornos del sueño-vigilia diferente a 24 horas, que comprende un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con uno o más excipientes, vehículos o diluyentes farmacéuticamente aceptables.

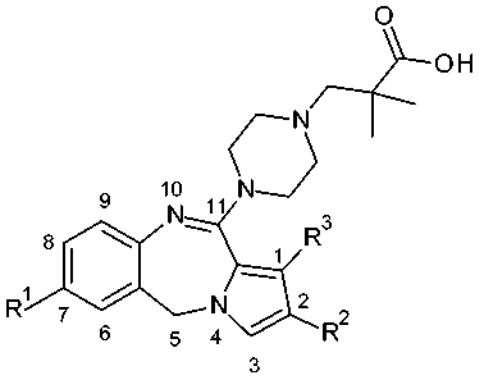
En una realización adicional de este aspecto de la invención, se proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con la Formula I, o sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con al menos un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente otros ingredientes terapéuticos. En todavía una realización adicional de este aspecto de la invención, la composición farmacéutica comprende adicionalmente un segundo agente terapéutico que es un inhibidor de la recaptación de serotonina, como, por ejemplo, citalopram, paroxetina, fluoxetina y/o fluvoxetina.

La presente invención también proporciona compuestos de Fórmula I para su uso en un procedimiento de tratamiento del insomnio, como, por ejemplo, insomnio caracterizado por latencia del sueño prolongada o mal mantenimiento del sueño o ambos, como, por ejemplo, insomnio primario, desfase horario, trastorno del sueño por turnos de trabajo, trastorno de fase del sueño retrasada, trastorno de fase del sueño avanzada, y/o trastornos del sueño-vigilia diferente a 24 horas, en un mamífero que comprende administrar a un mamífero en necesidad de tal tratamiento una cantidad eficaz de un compuesto de Fórmula I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, o administrar en combinación secuencial, separada o simultánea un segundo agente terapéutico que es un inhibidor de la recaptación de serotonina, como, por ejemplo, citalopram, paroxetina, fluoxetina y/o fluvoxetina. En una realización particular de estos procedimientos de tratamiento, el mamífero es un ser humano.

La presente invención también proporciona un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia. Dentro de este aspecto, la invención proporciona un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento del insomnio. En realizaciones adicionales, el insomnio está caracterizado por latencia del sueño prolongada o mal mantenimiento del sueño o ambos, como, por ejemplo, insomnio primario, desfase horario, trastorno del sueño por turnos de trabajo, trastorno de fase del sueño retrasada, trastorno de fase del sueño avanzada, y/o trastornos del sueño-vigilia diferente a 24 horas. En otra realización de este aspecto, la invención proporciona un compuesto de acuerdo con la Formula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en combinación secuencial, separada o simultánea con un inhibidor de la recaptación de serotonina, como, por ejemplo, citalopram, paroxetina, fluoxetina y/o fluvoxetina en el tratamiento del insomnio. En una realización de este aspecto de las invenciones, los usos son en mamíferos, en particular seres humanos.

Otro aspecto de la presente invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del insomnio, como, por ejemplo, insomnio primario caracterizado por latencia del sueño prolongada o mal mantenimiento del sueño o ambos, como, por ejemplo, insomnio primario, desfase horario, trastorno del sueño por turnos de trabajo, trastorno de fase del sueño retrasada, trastorno de fase del sueño avanzada, y/o trastornos del sueño-vigilia diferente a 24 horas. Otra realización de este aspecto de la invención proporciona el uso de un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, y un segundo agente terapéutico que es un inhibidor de la recaptación de serotonina, como, por ejemplo, citalopram, paroxetina, fluoxetina y/o fluvoxetina, en la fabricación de un medicamento para el tratamiento del insomnio, como, por ejemplo, insomnio caracterizado por latencia del sueño prolongada y/o mal mantenimiento del sueño, como, por ejemplo, insomnio primario, desfase horario, trastorno del sueño por turnos de trabajo, trastorno de fase del sueño retrasada, trastorno de fase del sueño avanzada, y/o trastornos del sueño-vigilia diferente a 24 horas.

En aras de claridad, se usará la siguiente numeración de la estructura de anillo tricíclica en toda la solicitud:



Los compuestos de la presente invención tienen restos ácidos y básicos, y, por consiguiente, reaccionan con un número de ácidos y bases orgánicos e inorgánicos para formar sales farmacéuticamente aceptables. Las sales farmacéuticamente aceptables de cada uno de los compuestos de la presente invención están contempladas dentro del alcance de la presente solitud. El término "sal farmacéuticamente aceptable", como se usa en el presente documento, se refiere a cualquier sal de un compuesto de la invención que es sustancialmente no tóxica para organismos vivos. Tales sales incluyen las enumeradas en Journal of Pharmaceutical Science, 66, 2-19 (1977), que son conocidas por el experto en la técnica.

Las clases preferentes de compuestos de la presente invención son compuestos en los que:

1) R^3 es hidrógeno;

2) R^3 es metoxi;

3) R^1 es cloro;

4) R^1 es metilo;

5) R^1 es cloro y R^3 es hidrógeno;

6) R^1 es metilo y R^3 es hidrógeno;

7) R^2 es metilo, etilo o isopropilo;

8) R^2 es metilo;

9) R^2 es cloro o bromo;

10)R^2 es cloro;

11)R^2 es trifluorometilo; y

12)R^2 es metiltio.

Se entenderá que los compuestos adicionalmente preferentes son los que combinan las selecciones preferentes anteriores para un sustituyente o sustituyentes dados con selecciones preferentes de otros sustituyentes. Los ejemplos de tales combinaciones incluyen, pero no están limitados a las siguientes clases preferentes de compuestos:

13) los compuestos preferentes de una cualquiera de las clases preferentes 7-12 (que son selecciones preferentes para R^2) en los que R^3 es hidrógeno (clase preferente 1);

14) los compuestos preferentes de una cualquiera de las clases preferentes 7-12 (que son selecciones preferentes para R^2) en los que R^1 es cloro y R^3 es hidrógeno (clase preferente 5); y

15) los compuestos preferentes de la clase preferente 8 en los que R^3 es metoxi (clase preferente 2).

Los compuestos preferentes específicos son los descritos en los ejemplos, incluyendo sus bases libres y sales farmacéuticamente aceptables de los mismos.

Un cierto compuesto preferente es el ácido 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo (es decir, el compuesto del ejemplo 1 y sales farmacéuticamente aceptables del mismo).

Las abreviaturas usadas en el presente documento se definen como sigue:

“BSA” significa seroalbúmina bovina.

"DCG IV" significa (2S,2’R,3’R)-2-(2’,3’-dicarboxiciclopropil)glicina.

"DCM" significa diclorometano.

"DMEM significa medio mínimo Eagle de Dulbecco.

"DMSO" significa dimetilsulfóxido.

"DPBS" significa solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco.

"CDB" significa calorimetría diferencial de barrido.

"EtOAc" significa acetato de etilo.

"CG" significa cromatografía de gases.

"HBSS" significa solución salina tamponada de Hank.

“HEPES” significa ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinetanosulfónico.

HPLC significa cromatografía líquida de alta presión

"h" significa hora u horas.

"IBMX" significa 3-isobutil-1-metilxantina

“CI_{50}” significa la concentración a la que se logra el 50 % de la inhibición máxima.

"i.v." significa intravenoso o por vía intravenosa.

"i.p." significa intraperitoneal.

"CL-EM" significa HPLC-espectrometría de masas.

"MeOH" significa metanol.

“mFST” significa prueba de natación forzada en ratones; un modelo animal para la actividad antidepresiva.

"min" significa minutos.

"pf" significa punto de fusión.

“EM” significa espectroscopía de masas.

“EM (ES+)” significa espectroscopía de masas usando ionización por electropulverizador.

"MTBE" significa éter metil-terc-butílico.

“RMN” significa resonancia magnética nuclear.

"v.o." significa por vía oral, por la boca.

"SCX-2" significa columnas de intercambio catiónico fuerte Biotage Isolute Flash SCX-2®.

“THF” significa tetrahidrofurano.

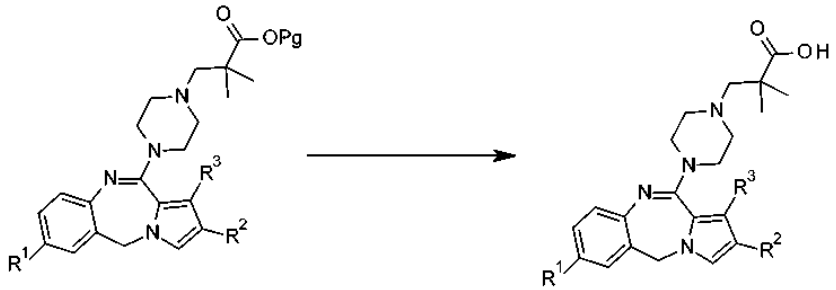
Química general

Los compuestos de la presente invención se pueden preparar de acuerdo con los siguientes esquemas sintéticos mediante procedimientos generales bien conocidos y apreciados en la técnica. Las condiciones de reacción adecuadas para las etapas de estos esquemas son bien conocidas en la técnica y las sustituciones apropiadas de los disolventes y coreactivos están dentro de la pericia de la técnica. Igualmente, los expertos en la técnica apreciarán que se pueden aislar y/o purificar intermedios sintéticos por diversas técnicas bien conocidas según sea necesario o deseado y que, frecuentemente, será posible usar directamente diversos intermedios en etapas de síntesis subsiguientes con poca o ninguna purificación. Lo que es más, el experto en la técnica apreciará que, en algunas circunstancias, el orden en que se introducen los restos no es crítico. El orden particular de las etapas requeridas para producir los compuestos de la presente invención depende del compuesto en particular que se esté sintetizando, del

compuesto de partida y los inconvenientes relativos de los restos sustituidos, así como lo aprecia bien el químico experto. Todos los sustituyentes, a menos que se indique lo contrario, son como se ha definido previamente, y todos los reactivos son bien conocidos y apreciados en la técnica.

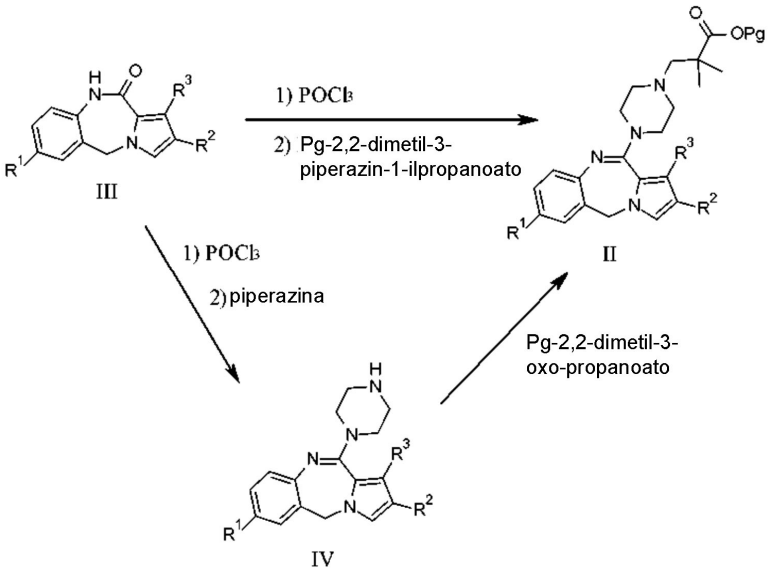
En general, un compuesto de Fórmula I se puede preparar a partir de un compuesto de Fórmula II en la que Pg es un grupo protector carboxilo adecuado (esquema 1). Más específicamente, un compuesto de Fórmula II, en la que Pg es un grupo alquilo C_1-C_3, se hace reaccionar con un agente de desprotección adecuado tal como hidróxido de sodio acuoso en un codisolvente orgánico, tal como alcohol isopropílico, para proporcionar, tras neutralización con un ácido, un compuesto de Fórmula I.

Esquema 1



En general, un compuesto de Fórmula II se puede preparar a partir de un compuesto de Fórmula III o un compuesto de Fórmula IV (esquema 2). Más específicamente, un compuesto de Fórmula III se hace reaccionar con cloruro de fosforilo en un disolvente adecuado tal como metoxibenceno o diclorometano para proporcionar el intermedio cloruro de imino. El cloruro de imino se puede aislar o hacer reaccionar directamente con Pg-2,2-dimetil-3-piperazin-1-il propanoato en presencia de una base adecuada, tal como carbonato de potasio para proporcionar un compuesto de Fórmula II. La reacción se lleva a cabo en un disolvente adecuado tal como acetonitrilo. De forma alternativa, el cloruro de imino se puede hacer reaccionar con piperazina en presencia de una base adecuada tal como carbonato de cesio para proporcionar un compuesto de Fórmula IV. La reacción se lleva a cabo en un disolvente adecuado tal como acetonitrilo. Un compuesto de Fórmula IV se alquila con Pg-2,2-dimetil-3-oxopropanoato en presencia de un agente reductor adecuado tal como triacetoxiborohidruro de sodio para proporcionar un compuesto de Fórmula II. La reacción se lleva a cabo típicamente en un disolvente tal como diclorometano.

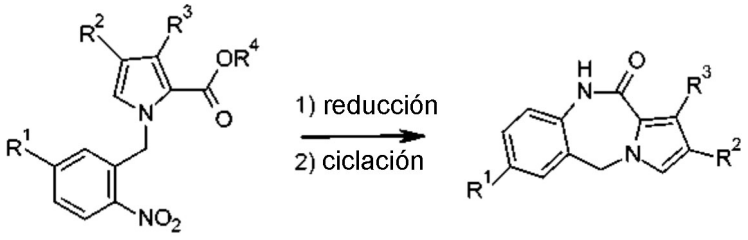
Esquema 2



Un compuesto de Fórmula III se puede preparar a partir de un compuesto de Fórmula V, en la que R4 es metilo o etilo (esquema 3). Más específicamente, un compuesto de Fórmula V se hace reaccionar con un agente adecuado para reducir el grupo nitro del arilo a la anilina correspondiente. Los agentes reductores adecuados incluyen hidrógeno en

presencia de un catalizador de metal de transición tal como platino; hierro en ácido acético; y dicloruro de estaño en ácido clorhídrico. La anilina correspondiente primero se puede aislar o hacer reaccionar directamente en condiciones de ciclación para proporcionar un compuesto de Fórmula III. La ciclación se lleva a cabo en presencia de un ácido tal como ácido clorhídrico o una base tal como *t*-butóxido de potasio. Se puede preparar un compuesto de Fórmula V donde R4 es metilo o etilo como se describe en las preparaciones o mediante procedimientos conocidos en las técnicas químicas para la producción de compuestos estructuralmente análogos.

Esquema 3



V III

En las siguientes preparaciones y ejemplos ilustrativos, los reactivos se obtuvieron a partir de una diversidad de fuentes comerciales. En general, los disolventes se eliminan a presión reducida (se evaporan). En algunos procedimientos, los rendimientos indicados son rendimientos en bruto representativos para productos que se aíslan mediante evaporación o filtración y se usan directamente sin purificación adicional.

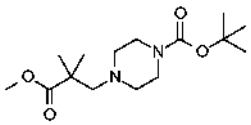
Preparación 1

Síntesis de 2,2-dimetil-3-oxo-propanoato de metilo

Añadir 3-hidroxi-2,2-dimetilpropanoato de metilo (33 g, 250 mmol) a peryodinano de Dess-Martin (106 g, 250 mmol) suspendido en DCM (1000 ml) a 0 °C y agitar a temperatura ambiente durante 18 h. Filtrar la mezcla de reacción a través de un lecho de celite y concentrar el filtrado. Lavar el filtrado concentrado con pentano (2 x 200 ml). Separar la capa de pentano y concentrar al vacío para dar 2,2-dimetil-3-oxo-propanoato de metilo (31,93 g, cuantitativo). RMN de ^{1}H (d_6-DMSO) δ 9,59 (s, 1H), 3,67 (s, 3H), 1,26 (s, 6H).

Preparación 2

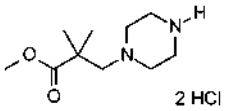
Síntesis de 4-(3-metoxi-2,2-dimetil-3-oxopropil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo



Agitar una solución de 2,2-dimetil-3-oxo-propanoato de metilo (30,88 g, 237,31 mmoles) y piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (34,00 g, 182,55 mmoles) en DCM (500 ml) a temperatura ambiente durante 20 minutos. Añadir ácido acético (2 equiv); 20,92 ml, 365,09 mmoles) seguido de triacetoxiborohidruro de sodio (1,4 equiv; 54,17 g, 255,56 mmoles) durante 0,5 h y agitar la mezcla resultante agitada a temperatura ambiente durante la noche. Con cuidado, desactivar con agua (250 ml) y transferir la mezcla a un embudo de decantación con DCM (300 ml). Lavar la capa orgánica resultante con salmuera. Secar sobre $MgSO_4$, filtrar y evaporar para dar 4-(3-metoxi-2,2-dimetil-3-oxopropil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo. (58 g, 100 %). EM (m/z): 301,2 (M+1).

Preparación 3

Síntesis de diclorhidrato de 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)propanoato de metilo

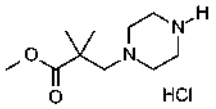


Añadir a una solución de 4-(3-metoxi-2,2-dimetil-3-oxopropil)piperazin-1-carboxilato de *terc*-butilo (58,0 g, 193,08 mmoles) en alcohol isopropílico (150 ml) una solución de cloruro de hidrógeno en dioxano 4 M ((4 equiv);

193,08 ml, 772,31 mmoles) durante 15 minutos, observando la evolución del gas y un precipitado fino. Calentar a 55 °C durante 3 h para dar un precipitado blanco. Enfriar hasta 10 °C y recoger el sólido blanco mediante filtración, lavar con alcohol isopropílico adicional (30 ml), luego EtOAc. Secar en un horno a vacío a 45 °C durante 1 h para dar diclorhidrato de 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)propanoato de metilo (31 g, 59 % de rendimiento). EM (m/z): =201,1 (M+1).

Preparación 4

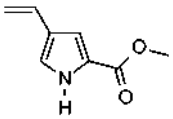
Síntesis de clorhidrato de 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)propanoato de metilo



Disolver diclorhidrato de 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)propanoato de metilo (112,0 g, 409,95 mmoles) en agua (250 ml). Añadir bicarbonato de sodio sólido para dar una capa acuosa de pH 4 y extraer la mezcla en una solución de DCM al 10 % en éter dietílico (300 ml) para eliminar algo de materia sólida oscura y algo de color. Desechar la capa orgánica. Basificar la fase acuosa hasta pH 8 con solución de hidróxido de sodio acuosa 2 M, luego saturar con cloruro de sodio sólido. Extraer en una solución al 10 % de isopropanol en cloroformo. Añadir adicionalmente hidróxido de sodio acuoso 2 M para mantener el pH 8. Repetir la extracción en una solución al 10 % de isopropanol en cloroformo. Continuar con el procedimiento de extracción hasta que el 85 % del material esperado se haya recuperado. Lavar con salmuera la solución de isopropanol en cloroformo, secar sobre Na_2SO_4, filtrar y evaporar para dar clorhidrato de 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)propanoato de metilo (82,1 g % de rendimiento). EM (m/z): 201,1 (M+1).

Preparación 5

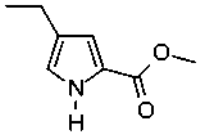
Síntesis de 4-etenil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo



Desgasificar, mediante purgado con nitrógeno durante 10 minutos, una solución de 4-bromo-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo (2,0 g, 9,8 mmoles), trietenilboroxin piridina (1,3 equiv; 3,1 g, 12,7 mmoles), y carbonato de potasio (3 equiv; 4,1 g, 29,4 mmoles) en una mezcla de 1,4-dioxano (20 ml) y agua (10 ml). Añadir tris(dibencilidenacetonilo)bis-paladio ($Pd_2(dba)_3$) (0,01 equiv; 0,0925 g, 98,0 mmoles) y 1,1'-bis(di-terc-butilfosfino)ferroceno (dtbpf) (0,03 equiv; 0,0853 g, 294,1 mmoles) y calentar a 95 °C durante 3 h. Enfriar hasta la temperatura ambiente, luego repartir entre agua (50 ml) y una mezcla 1:1 de hexanos/éter dietílico (100 ml). La capa orgánica se lava con agua (2 x 50 ml), luego salmuera. Secar sobre Na_2SO_4, filtrar y evaporar para dar 4-etenil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo como un aceite de color paja (1,5 g). Usar sin purificación adicional. RMN de ^1H ($CDCl_3$), δ: 8,90 (1H, s. a.), 7,02 (1H, m), 6,95 (1H, m), 6,56 (1H, q) 5,48 (1H, dd), 5,05 (1H, dd), 3,86 (3H, s).

Preparación 6

Síntesis de 4-etil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo

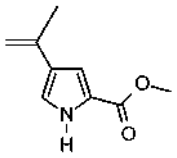


Cargar en un frasco de Parr de 500 ml, una mezcla de paladio al 5 % sobre carbón vegetal (0,2 g) en etanol (25 ml) y añadir 4-etenil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo (1,4 g, 9,3 mmoles). Hidrogenar a 206,8 kPa durante 3 h para dar una conversión completa mediante CL-EM. Filtrar a través de celite y evaporar para dar un aceite. Hacer pasar a través de un soporte de gel de sílice con isohexano/acetato de etilo (100:0 a 75:25) para dar el compuesto del título como un

aceite amarillo pálido (1,12g). RMN de ^{1}H ($CDCl_3$), δ: 8,87 (1H, s. a.), 6,73-6,78 (2H, m), 3,83 (3H, s), 2,50 (2H, q, J=7,8 Hz) y 1,19 (3H, t, *J*=7,3 Hz).

Preparación 7

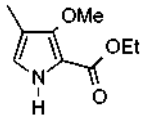
Síntesis de 4-(prop-1-en-2-il)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo



Mezclar 4-yodo-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo (1,5 g, 5,98 mmoles), 4,4,5,5-tetrametil-2-(prop-1-en-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (3,01 g, 17,98 mmoles) 1,1'-bis(di-terc-butilfosfino)ferroceno (dtbpf) (0,3 g, 0,06 mmoles), tris(dibencilidenacetonilo)bis-paladio ($Pd_2(dba)_3$) (0,3 g, 0,06 mmoles), fosfato tripotásico (2,54 g, 11,95 mmoles) y metanol (12 ml). Calentar la mezcla en un tubo sellado en un microondas a 140 °C durante 30 minutos. Enfriar, filtrar la mezcla de reacción y lavar el sinterizado con metanol, evaporar el filtrado a presión reducida y someter a cromatografía sobre sílice eluyendo con isohexano/diclorometano (gradiente de elución, 100:0 a 0:100). Evaporar las fracciones que contienen producto para dar 4-(prop-1-en-2-il)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo. (0,679 g, 68,79 % de rendimiento). EM (m/z): 166,1 (M+1).

Preparación 8

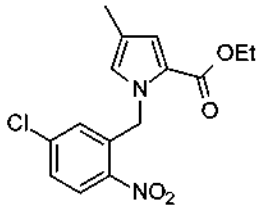
Síntesis de 3-metoxi-4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo



Añadir sulfato de dimetilo (3 ml, 3,99 g, 31,63 mmoles) a una mezcla de éster etílico del ácido 3-hidroxi-4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxílico (3,5 g, 20,69 mmoles) e hidróxido de sodio 2M (75 ml, 1500 mmoles) y agitar vigorosamente la mezcla de reacción durante 30 min a temperatura ambiente (se aplica baño de enfriamiento con agua). Recoger el precipitado resultante y lavar con agua. Añadir más sulfato de dimetilo (3 ml, 3,99 g, 31,63 mmoles) al filtrado y agitar durante 30 minutos. Recoger el precipitado resultante y lavar con agua. Añadir más sulfato de dimetilo (3 ml, 3,99 g, 31,63 mmoles) al filtrado y agitar durante 1 h. Combinar los precipitados aislados y secar en un horno a vacío a 50 °C durante 30 minutos para dar 3-metoxi-4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo (3,221 g, 84,98 % de rendimiento). EM (m/z): 184,09 (M+1).

Preparación 9

Síntesis de 1-(5-cloro-2-nitrobencil)-4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo



Agitar vigorosamente una solución de 2-(bromometil)-4-cloro-1-nitro-benceno (25,02 g, 99,88 mmoles) en DCM (200 ml), y añadir a esta una solución de 4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo (15 g, 97,92 mmoles) en DCM (200 ml). Luego añadir hidróxido de tetra-n-butilamonio 30-hidratado (0,508 g) y enfriar la mezcla agitada en nitrógeno hasta 5 °C usando un baño de hielo externo. Añadir hidróxido de sodio ac. al 25 % (200 ml) gota a gota durante 15 minutos observando la elevación de la temperatura interna hasta 10 °C. Agitar y dejar templar hasta la temperatura ambiente. Agitar a temperatura ambiente durante 3,5 h. Añadir adicionalmente hidróxido de sodio ac. al 50 % (20 ml) y

agitar a temperatura ambiente durante1 h adicional. Detener la agitación y dejar que las capas se separen. Transferir a un embudo de decantación y lavar la capa orgánica con ácido clorhídrico 1 N (200 ml), observando que el pH de esta capa sea ácido usando papel indicador A continuación, lavar la capa orgánica con agua (600 ml) y luego salmuera (600 ml) y finalmente secar sobre Na_2SO_4. Filtrar la mezcla y eliminar el disolvente al vacío a 40 °C para dar un aceite naranja. Purificar haciendo pasar a través de un soporte de gel de sílice con isohexano/acetato de etilo (gradiente que eluye desde el 10 al 20 %) para dar 1-(5-cloro-2-nitrobencil)-4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo como un aceite amarillo (33 g, cuantitativo). EM (m/z): 322,98 (M+1).

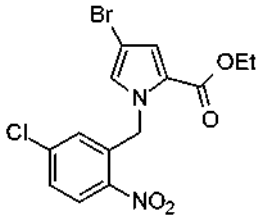
Preparación 9 alternativa

Síntesis de 1-(5-cloro-2-nitrobencil)-4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo

En una atmósfera de nitrógeno con agitación añadir carbonato de cesio (96 g, 295 mmoles) a una solución de 4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo (30 g, 196 mmoles) en DMF (240 ml) y calentar la mezcla de reacción hasta 40 °C a 45 °C durante 1 hora. Enfriar la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente y añadir una solución de 2-(bromometil)-4-cloro-1-nitro-benceno (54 g, 216 mmoles) en DMF (120 ml) gota a gota. Agitar la suspensión resultante durante 1,5 h a 2,0 h, filtrar los sólidos y aclarar la torta de filtración con DMF (45 ml). Transferir los sólidos a un recipiente de reacción limpio, añadir agua (200 ml) y enfriar la suspensión hasta 10 °C a 15 °C con agitación durante 1 h a 2 h. Filtrar la suspensión, aclarar con agua (75 ml) y transferir los sólidos a otro recipiente de reacción. Añadir etanol (125 ml) y agitar la suspensión a 5 °C a 10 °C durante 1 h a 2 h. Filtrar los sólidos, aclarar la torta de filtración con etanol (20 ml), y secar los sólidos en un horno a menos de 50 °C a presión reducida para dar 1-(5-cloro-2-nitrobencil)-4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo como un sólido amarillo (54 g, 94,1 % de pureza, 73,3 % de rendimiento).

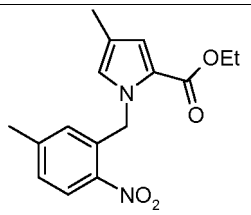
Preparación 10

Síntesis de 4-bromo-1-(5-cloro-2-nitrobencil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo

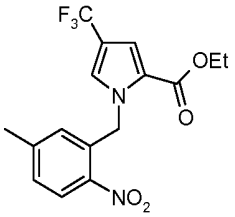
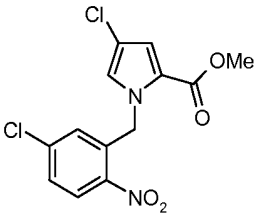
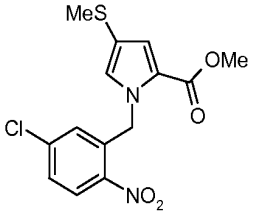
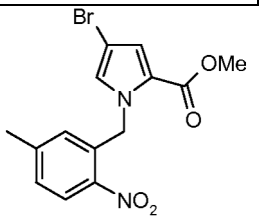
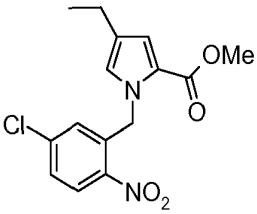
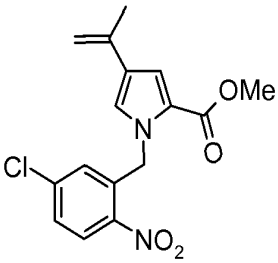


Lavar hidruro de sodio al 60 % suspendido en aceite mineral (1,2 equiv; 1,1 g, 27,52 mmoles) con una cantidad pequeña de isohexano (x 2). Suspender en N,N-dimetilacetamida (15 ml) y refrigerar en un baño de hielo. Añadir 4-bromo-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo (5,0 g, 22,93 mmoles) en porciones durante 15 minutos dejando que la evolución del gas cese entre adiciones. Agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos para dar una solución marrón. Añadir 2-(bromometil)-4-cloro-1-nitro-benceno (1,15 equiv; 6,61 g, 26,37 mmoles) en porciones durante 15 minutos y agitar la solución violeta resultante a temperatura ambiente durante 2,5 h. Enfriar en un baño de hielo y desactivar con agua (10 ml). Repartir entre ácido clorhídrico 1M (100 ml) y EtOAc (300 ml). Lavar la capa orgánica con agua (2 x 100 ml), luego salmuera. Secar sobre Na_2SO_4 y decolorar con carbón vegetal activado. Filtrar a través de celite y evaporar para dar 4-bromo-1-(5-cloro-2-nitrobencil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo como un aceite naranja (9,1 g, cuantitativo). RMN de ^1H ($CDCl_3$) δ: 8,12 (1H, d), 7,40 (1H, dd), 7,07 (1H, d), 6,92 (1H, d), 6,53 (1H, d), 5,87 (2H, s), 4,17 (2H, q), 1,25 (3H, t).

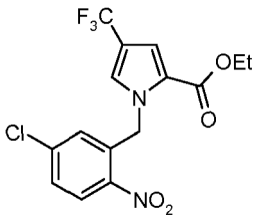
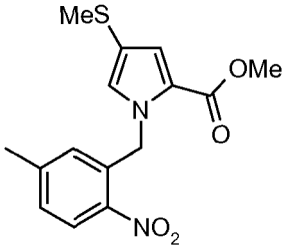
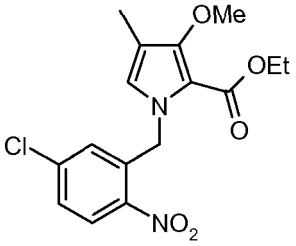
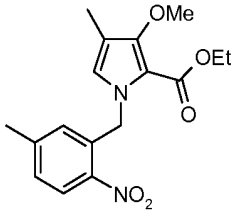
Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de la preparación 10.

Preparación n.º	Nombre	Estructura	Datos físicos
11	4-metil-1-(5-metil-2-nitrobencil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo		EM (m/z): 303,09 (M+1)

(continuación)

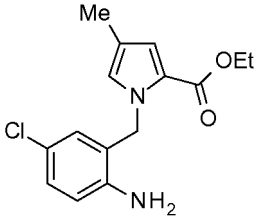
Preparación n.º	Nombre	Estructura	Datos físicos
12	1-(5-metil-2-nitrobencil)-4-(trifluorometil)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de etilo		RMN de ^{1}H (d6-DMSO) δ 8,06 (1H, d), 7,90 (1H, s), 7,37 (1H, d), 7,25 (1H, s), 6,31 (1H, s), 5,87 (2H, s), 4,09 (2H, q), 2,27 (3H, s), 1,13 (3H, t)
13	4-cloro-1-(5-cloro-3-nitrobencil)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metilo		RMN de ^{1}H (CDCl3) δ: 8,16 (1H, d), 7,40 (1H, dd),6,98 (1H, d), 6,88 (1H, d), 6,53 (1H, d), 5,86 (2H, s), 3,73 (3H, s)
14	1-(5-cloro-3-nitrobencil)-4-(metilsulfanil)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metilo		EM (m/z): 340,98 (M+1)
15	4-bromo-1-(5-metil-2-nitrobencil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo		EM (m/z): 352,98 (M+1)
16	1-(5-cloro-2-nitrobencil)-4-etil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo		EM (m/z):323,18 (M+1)
17	1-(5-cloro-3-nitrobencil)-4-(prop-1-en-2-il)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metilo		EM (m/z): 334,98 (M+1)

(continuación)

Preparación n.º	Nombre	Estructura	Datos físicos
18	1-(5-cloro-3-nitrobencil)-4-(trifluorometil)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de etilo		RMN de ^{1}H (CDCl3) d: 8,14 (1H, d), 7,43 (1H, dd), 7,25 (1H, s), 7,22 (1H, d), 6,51 (1H, d), 5,92 (2H, s), 4,20 (2H, q),1,28 (3H, t).
19	1-(5-metil-2-nitrobencil)-4-(metilsulfanil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo		EM (m/z): 321,03 (M+1)
20	1-(5-cloro-2-nitrobencil)-3-metoxi-4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo		EM (m/z): 353,13 (M+1)
21	3-metoxi-4-metil-1-(5-metil-3-nitrobencil)-1*H*-pirrol-3-carboxilato de etilo		EM (m/z): 333,18 (M+1)

Preparación 22

Síntesis de1-(2-amino-5-clorobencil)-4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo



Cargar platino al 5 % (S)/carbón vegetal (2,5 g), y 1-(5-cloro-2-nitrobencil)-4-metil-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo (16,0 g, 49,57 mmoles) en un frasco de Parr de 500 ml. Añadir etanol (200 ml), luego dibromuro de cinc (0,22 equiv; 2,46 g, 10,91 mmoles) y colocar la mezcla en hidrógeno a 275,8 kPa e hidrogenar a temperatura ambiente durante la noche, supervisando la formación de un intermedio parcialmente hidrogenado. Retirar el frasco de Parr, calentar suavemente en un baño de agua para disolver el material cristalizado y filtrar a través de celite. Combinar con el filtrado de una ejecución idéntica y evaporar para dar 1-(2-amino-5-clorobencil)-4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo como

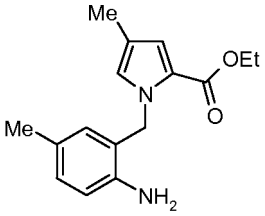
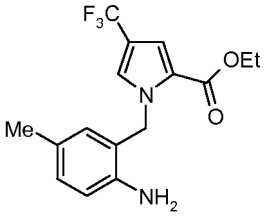
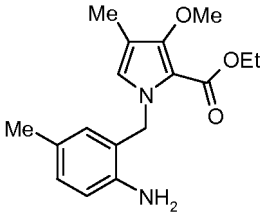
un sólido blanquecino. Colocar a alto vacío para eliminar etanol residual para dar el material (35 g, cuantitativo). EM (m/z): 293,1 (M+1)

Preparación 22 alternativa

Síntesis de 1-(2-amino-5-clorobencil)-4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo

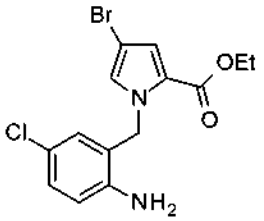
En un recipiente de reacción en nitrógeno cargar una solución de 1-(5-cloro-2-nitrobencil)-4-metil-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo (100,0 g, 310 mmoles) en THF (800 ml) y añadir dibromuro de cinc (0,22 equiv; 15,4 g, 68,4 mmoles) con agitación a temperatura ambiente. Cargar una suspensión densa de platino al 5 % (S)/carbón vegetal (13,3 g) en THF (25 ml), y colocar el recipiente en hidrógeno a 380 kPa. Hidrogenar a temperatura ambiente durante 30 h a 40 h, supervisando la formación de un intermedio parcialmente hidrogenado y filtrar sobre diatomita. Aclarar el filtro con ayuda de THF (300 ml) y concentrar el filtrado, por debajo de 40 °C, para alcanzar un volumen de aproximadamente 200 ml. Añadir DCM (250 ml), concentrar la solución, por debajo de 40 °C, para alcanzar un volumen de aproximadamente 200 ml, y añadir DCM adicional (600 ml). Este procedimiento se puede repetir según sea necesario para eliminar niveles no deseados de THF de la mezcla de reacción. Cargar agua (500 ml), separar las capas, y lavar la capa orgánica con agua (300 ml), seguido de solución acuosa de cloruro de sodio al 25 % (250 ml). Concentrar la solución, 40 °C, para alcanzar un volumen de aproximadamente 200 ml, añadir heptano (400 ml), y concentrar la solución, por debajo de 40 °C, para alcanzar un volumen de aproximadamente 200 ml. Añadir heptano (400 ml) y calentar la mezcla de reacción hasta 40-45 °C con agitación durante 2-3 h. Enfriar la mezcla de reacción hasta 5-10 °C y continuar la agitación a esta temperatura durante 1-2 h. Filtrar los sólidos resultantes y secar en un horno a menos de 50 °C a presión reducida para dar 1-(2-amino-5-clorobencil)-4-metil-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo (81,4 g, 95,8 % de pureza, 85,9 % de rendimiento) como un sólido amarillo.

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de la preparación 22.

Preparación n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
23	1-(3-amino-5-metilbencil)-4-metil-1*H*-pirrol-3-carboxilato de etilo		273,09
24	1-(3-amino-5-metilbencil)-4-(trifluorometil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo		327,18
25	1-(3-amino-5-metilbencil)-3-metoxi-4-metil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de etilo		303,19

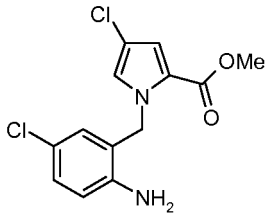
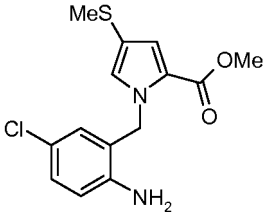
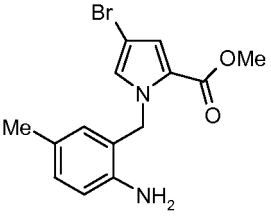
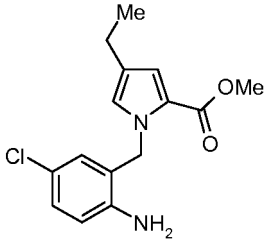
Preparación 26

Síntesis de 1-(2-amino-5-clorobencil)-4-bromo-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo

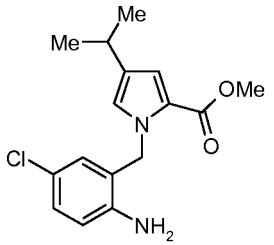


A una solución bien agitada de 4-bromo-1-(5-cloro-2-nitrobencil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo (9,1 g, 23,48 mmoles) en ácido acético (60,00 ml) a 70 °C, añadir hierro (5 equiv; 6,56 g, 117,38 mmoles) en porciones durante 0,5 h. A la mitad de la adición, observar una exotermia para mantener una temperatura de 85 °C con el baño de aceite retirado. La mezcla de reacción se espesará a medida que la exotermia se disipa y se puede añadir el resto del hierro. Agitar a 85 °C durante 0,5 h. Enfriar hasta la temperatura ambiente y verter sobre agua (200 ml). Extraer en cloroformo (2 x 200 ml). Combinar las capas orgánicas y lavar con agua (2 x 100 ml), luego solución acuosa de $NaHCO_3$ saturada. Secar sobre Na_2SO_4, filtrar y evaporar hasta el compuesto del título como un aceite naranja (7,7 g, 92 % de rendimiento). EM (m/z): 358,98 (M+1)

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de la preparación 26.

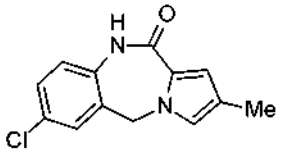
Preparación n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
27	1-(2-amino-5-clorobencil)-4-cloro-1*H*-pirrol-3-carboxilato de metilo		298,99/ 301,09
28	1-(2-amino-5-clorobencil)-4-(metilsulfanil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo		311,13
29	1-(3-amino-5-metilbencil)-4-bromo-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo		322,98
30	1-(2-amino-5-clorobencil)-4-etil-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo		293,14

(continuación)

Preparación n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
31	1-(2-amino-5-clorobencil)-4-(propan-2-il)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo		307,09

Preparación 32

Síntesis de 7-cloro-2-metil-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona



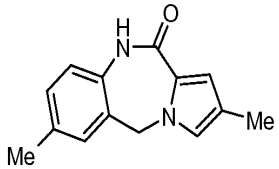
A una solución de 1-[(2-amino-5-cloro-fenil)metil]-4-metil-pirrol-2-carboxilato de etilo (35 g, 119,55 mmoles) en dimetilsulfóxido (120 ml) añadir *t*-butóxido de potasio (14,76 g, 131,5 mmoles) durante 10 minutos. Calentar a 80 °C (temperatura del baño de aceite) durante 1 h. Dejar enfriar, luego verter sobre agua (400 ml). Recoger el sólido pulverulento marrón resultante mediante filtración lavando bien con agua. Aspirar hasta secar tanto como sea posible sobre el sinterizado, luego transferir a una placa y secar en un horno a vacío a 55 °C sobre pentóxido de fósforo durante la noche, para dar 7-cloro-2-metil-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona. (22 g, 91 %). EM (m/z): 247,1 (M+1)

Preparación 32 alternativa

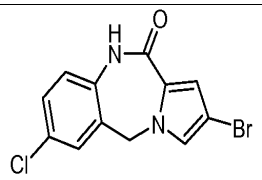
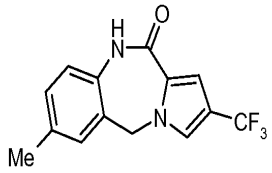
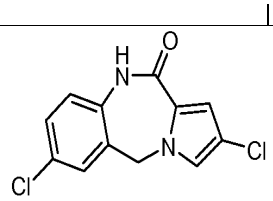
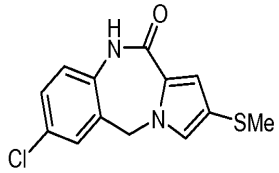
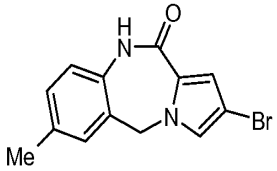
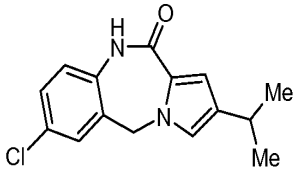
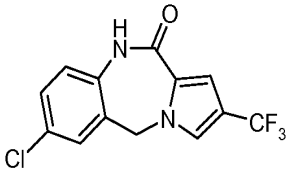
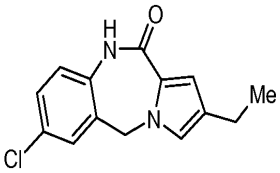
Síntesis de 7-cloro-2-metil-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona.

A una solución de 1-[(2-amino-5-cloro-fenil)metil]-4-metil-pirrol-2-carboxilato de etilo (20 g, 68,3 mmoles) en dimetilsulfóxido (60 ml) añadir *t*-butóxido de potasio (8,4 g, 74,9 mmoles) en DMSO (40 ml) y calentar la mezcla de reacción hasta 75-80 °C durante 1-2 h. Añadir agua (200 ml) lentamente, enfriar hasta la temperatura ambiente, y agitar durante 1-2 h. Filtrar los sólidos, lavar la torta de filtración con agua (75 ml), y transferir los sólidos a un recipiente de reacción limpio. Añadir THF (100 ml) y calentar la mezcla de reacción hasta 30-35 °C hasta que los sólidos se disuelvan. Añadir DCM (350 ml) y continuar agitando a 30-35 °C durante 1-2 h. Añadir ácido clorhídrico 1 N (250 ml) y continuar agitando a 30-35 °C durante 1-2 h. Separar las capas, lavar la capa orgánica con ácido clorhídrico 1 N (250 ml) seguido de una solución acuosa de cloruro de sodio al 25 % (50 ml), y concentrar la solución, por debajo de 50 °C, para alcanzar un volumen de aproximadamente 25 ml. Añadir etanol (50 ml), concentrar la solución, por debajo de 50 °C, para alcanzar un volumen de aproximadamente 25 ml, y añadir etanol adicional (50 ml). Concentrar la solución, por debajo de 50 °C, para alcanzar un volumen de aproximadamente 25 ml, calentar la mezcla de reacción hasta 45-50 °C, y agitar durante 1-2 h. Enfriar la mezcla de reacción hasta 5-10 °C con agitación durante 2-3 h, y filtrar los sólidos resultantes. Aclarar la torta de filtración con etanol (25 ml) y secar en un horno a menos de 50 °C a presión reducida para dar 7-cloro-2-metil-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona como un sólido blanquecino (14,9 g, 99,9 % de pureza, 88,5 % de rendimiento).

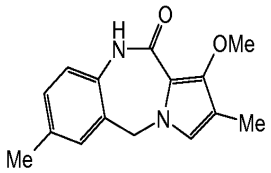
Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de la preparación 32.

Preparación n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
33	2,7-dimetil-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[3,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-ona		227,09

(continuación)

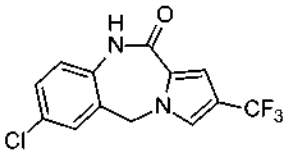
Preparación n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
34	2-bromo-7-cloro-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[3,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-ona		312,93
35	7-metil-2-(trifluorometil)-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[3,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona		281,14
36	2,7-dicloro-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[3,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-ona		267,04
37	7-cloro-3-(metilsulfanil)-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona		279,04 [M+H]+ 579,02 [2M+Na]+
38	2-bromo-7-metil-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-ona		291,04/291,99
39	7-cloro-2-(1-metiletil)-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[3,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona		275,19
40	7-cloro-3-(trifluorometil)-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona		300,99
41	7-cloro-2-etil-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-ona		261,19

(continuación)

Preparación n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
42	1-metoxi-2,7-dimetil-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona		257,14

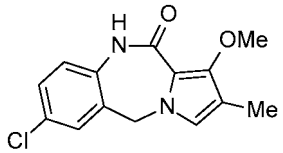
Preparación 43

Síntesis alternativa de 7-cloro-2-(trifluorometil)-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona



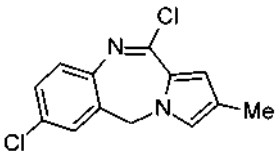
Añadir dicloruro de estaño (3 equiv; 3,02 g, 15,77 mmol) en ácido clorhídrico 5 M (20 ml, 100 mmol) a 1-(5-cloro-2-nitrobencil)-4-(trifluorometil)-1H-pirrol-2-carboxilato de etilo (1 equiv; 1,98 g, 5,26 mmoles) y etanol (100 ml) a 50 °C. Calentar durante la noche y, luego, durante unas 26 h adicionales, eliminar la mayoría del etanol al vacío y diluir la solución resultante con agua y recoger el precipitado resultante mediante filtración, lavar bien con agua y secar al vacío a 40 °C. Absorber el sólido sobre sílice, someter a cromatógrafía eluyendo con DCM/metanol (5:95) para dar aminoéster no cliclado (0,260 g) y 7-cloro-2-(trifluorometil)-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona (0,613 g). Calentar el éster no ciclado en una mezcla de ácido clorhídrico 5 M (10 ml, 50 mmol) durante 80 h. Eliminar el etanol al vacío y recoger el sólido precipitado resultante mediante filtración y lavar con agua para dar 7-cloro-2-(trifluorometil)-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona (0,17 g). Combinar con la 7-cloro-2-(trifluorometil)-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona precedente para dar (0,794 g, 50 % de rendimiento). EM (m/z): 300,99 (M+1)

El siguiente compuesto se prepara esencialmente mediante el procedimiento de la preparación 43.

Preparación n.º	Nombre	Intermedio	EM (m/z): (M+1)
44	7-cloro-1-metoxi-2-metil-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona		277,09

Preparación 45

Síntesis de 7,11-dicloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepina



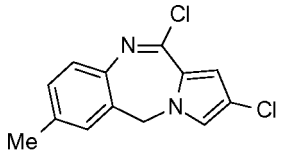
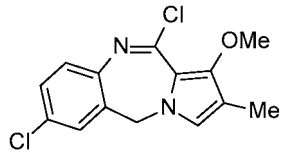
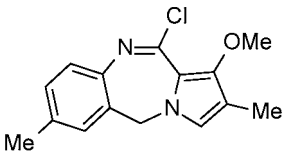
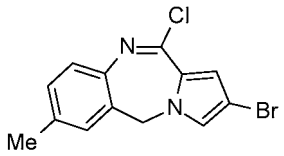
A una suspensión de 7-cloro-2-metil-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona (40,6 g, 164,58 mmoles) en metoxibenceno (250 ml) a 70 °C añadir *N,N*-dimetilanilina (2,8 equiv; 58,59 ml, 460,8 mmoles) en una porción seguido de cloruro de fosforilo (2,3 equiv (molares); 35,18 ml, 378,52 mmoles) durante 20 minutos, controlando la exotermia mediante adición. Calentar la solución oscura resultante a 90 °C durante 1,5 h. Añadir cloruro de fosforilo adicional (0,33 equiv; 5,05 ml, 54,31 mmoles) y calentar la mezcla a 90 °C durante 1 h adicional para dar una conversión completa. Evaporar casi hasta sequedad y repartir el residuo entre agua (500 ml) y acetato de etilo (2

x 500 ml). Combinar las capas orgánicas y lavar con agua (500 ml), luego salmuera. Secar sobre Na_2SO_4, filtrar y evaporar sobre sílice. Hacer pasar a través de un soporte de gel de sílice con isohexano/acetato de etilo (gradiente de elución del 5 al 25 %). Combinar las fracciones de producto y evaporar hasta una cantidad pequeña de disolvente. Añadir isohexano (150 ml) y recoger el polvo amarillo resultante mediante filtración para dar 7,11-dicloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepina (34,0 g, 78 % de rendimiento). EM (m/z): 265,1 (M+1)

Síntesis alternativa:

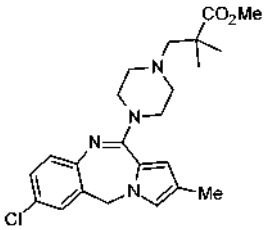
En una atmósfera de N_2 añadir cloruro de fosforilo (124 g, 819 mmol) a una mezcla de 7-cloro-2-metil-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona (100 g, 405 mmol), *N,N*-dimetilanilina (138 g, 1,14 mol) y anisol (550 ml). Calentar hasta 80-85 °C y agitar durante 4 h. a 6 h. Concentrar hasta un total de 1,5 volúmenes a 2,5 volúmenes mientras se mantiene la temperatura por debajo de 75 °C. Enfriar hasta 15-25 °C. Añadir diclorometano (600 ml) gota a gota y agitar durante 1 h. Añadir la mezcla resultante a agua (600 ml) mientras se mantiene la temperatura entre 10 °C y 35 °C. Agitar durante 1 h y luego separar las capas. Extraer la capa acuosa con diclorometano (2 × 600 ml). Lavar las capas orgánicas combinadas con HCl 1,0 N (600 g) seguido de $NaHCO_3$ al 7 % (600 g). Filtrar la capa orgánica a través de diatomita (20 g a 30 g) y gel de sílice (60 g a 100 g). Concentrar el filtrado resultante hasta un total de 1,5 volúmenes a 2,5 volúmenes mientras se mantiene la temperatura por debajo de 45 °C. Añadir heptano (270 g a 410 g) y concentrar el filtrado resultante hasta un total de 1,5 volúmenes a 2,5 volúmenes mientras se mantiene la temperatura por debajo de 45 °C. Añadir heptano (150 g a 210 g), enfriar hasta 5 °C a 10 °C, y agitar durante 2 h a 3 h. Filtrar, aclarar el filtro la torta con heptano, y secar a vacío, por debajo de 45 °C, para obtener el compuesto del título como un sólido amarillo pálido (90 % al 95 % de rendimiento)

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de la preparación 45.

Preparación n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
46	3,11-dicloro-7-metil-5*H*-pirrolo[3,1-*c*][1,4] benzodiazepina		265,09/267,04
47	7,11-dicloro-1-metoxi-3-metil-5*H*-pirrolo[2,1 -*c*][1,4]benzodiazepina		295,09/297,04
48	11-cloro-2,7-dimetil-1-metoxi-5*H*-pirrolo[2,1 -*c*][1,4]benzodiazepina		275,14/277,09
49	2-bromo-11-cloro-7-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1 ,4]benzodiazepina		309,04/310,98

Preparación 50

Síntesis de 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo



Añadir cloruro de fosforilo (1,47 ml, 2,43 g, 15,85 mmoles) a 7-cloro-2-metil-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona (1,117 g, 4,53 mmoles) en DCM (50 ml) y agitar a temperatura ambiente durante un fin de semana. Añadir agua helada a la mezcla de reacción, luego añadir DCM, separar la capa acuosa y lavar la capa de DCM con agua y solución de hidrogenocarbonato de sodio. Secar la solución de DCM con $MgSO_4$, filtrar y evaporar el disolvente al vacío para dar 7,11-dicloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepina (1,167 g).

Disolver diclorhidrato de 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)propanoato de metilo (1,61 g, 5,89 mmoles) en agua y cargar sobre dos cartuchos SCX-2 (10 g). Lavar los cartuchos con metanol y eluir con amoniaco 2 M en metanol. Concentrar al vacío, luego disolver el aceite resultante en acetonitrilo (40 ml). Añadir 7,11-dicloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepina (1,167 g, 4,4 mmoles) a la solución de acetonitrilo. Dividir la solución de acetonitrilo y colocarla en 2 tubos de microondas, añadir carbonato de potasio (0,89 g, 6,79 mmoles) a cada tubo de microondas y calentar y agitar a 140 °C en el microondas durante 3,5 h. Dejar que la mezcla de reacción enfríe, filtrar, lavar el sólido recogido sobre el sinterizado con acetonitrilo, luego concentrar el filtrado al vacío, añadir metanol y, luego, evaporar hasta sequedad. Tratar con más metanol y recoger el precipitado resultante, lavar el precipitado con metanol para dar 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo como un sólido cristalino (1,1 g). EM (m/z): 429,18 (M+1).

Síntesis alternativa de 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo

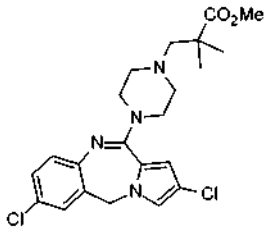
A una suspensión de 7,11-dicloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepina (34,0 g, 128,23 mmoles) en acetonitrilo (300 ml) añadir clorhidrato de 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)propionato de metilo (2,1 equiv; 63,75 g, 269,29 mmoles) y carbonato de potasio (4 equiv; 70,89 g, 512,93 mmoles). Calentar la mezcla a reflujo durante la noche. Evaporar hasta sequedad. Repartir el residuo entre agua (500 ml) y EtOAc (2 x 500 ml). Combinar las capas orgánicas y lavar con agua (500 ml), luego salmuera. Secar sobre sulfato de sodio, filtrar y evaporar hasta un aceite marrón Añadir isohexano (~150 ml) y un cristal de siembra de la preparación 50. Dejar que cristalice durante 2 h, luego transferir el matraz a un refrigerador y dejar reposar. Recoger sólido cristalino pesado resultante mediante filtración, lavando con isohexano frío. Secar en un horno a vacío a 40 °C durante 1 h, para dar 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo (53,6 g, 97 % de rendimiento). EM (m/z): 429,18 (M+1).

Segunda síntesis alternativa de 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il] -2,2-dimetilpropanoato de metilo

Calentar una mezcla de 7,11-dicloro-2-metil-5H-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepina (10,0 g, 37,7 mmol), diclorhidrato de 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)-propionato de metilo (19,4 g, 71,0 mmol), diisopropilamina (22,9 g, 226 mmol), y acetonitrilo (80 g) a 80 °C a 85 °C durante 22 h a 26 h. Enfriar hasta 30 °C a 40 °C y añadir acetato de etilo (80 g). Añadir agua (80 g) gota a gota. Agitar 40 min. a 60 min. y separar las capas. Extraer la capa acuosa con acetato de etilo (60 g a 80 g). Lavar las capas orgánicas combinadas con cloruro de sodio acuoso al 25 % (2 X 40 g). Concentrar la capa orgánica hasta un total de 1,5 volúmenes y 3,5 volúmenes mientras se mantiene la temperatura por debajo de 50 °C. Añadir heptano (41 g a 55 g) a 40 °C a 50 °C) y agitar durante 2 h a 3 h Concentrar hasta un total de 1,5 volúmenes a 3,0 volúmenes mientras se mantiene la temperatura por debajo de 50 °C. Enfriar hasta 0 °C a 10 °C y agitar durante 2 h a 3 h. Filtrar, lavar la torta de filtración con heptano (3,0 g a 10,0 g), y secar a vacío, por debajo de 60 °C, para conseguir el compuesto del título (16,0 g, 94,7 % ensayo % p/p, 94 % de rendimiento) como un sólido amarillo claro.

Preparación 51

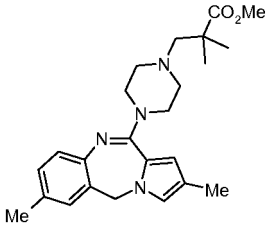
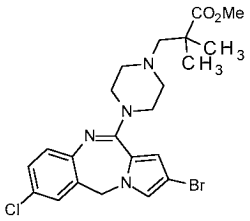
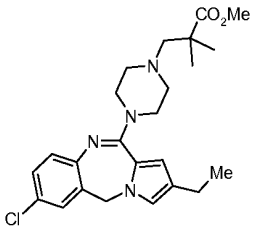
Síntesis de 3-[4-(2,7-dicloro-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo

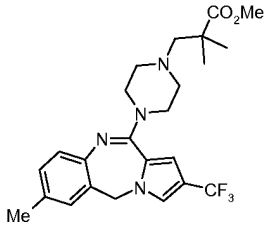


Añadir cloruro de fosforilo (5 equiv; 4,36 ml, 7,19 g, 46,89 mmoles) a 2,7-dicloro-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-ona (1 equiv; 2,505 g, 9,38 mmoles) en cloroformo (80 ml) y calentar y agitar a 50 °C durante la noche. Decantar la solución de reacción y evaporar al vacío hasta un aceite. Disolver el aceite en DCM, lavar con solución acuosa de hidrogenocarbonato de sodio saturada. Secar la solución de DCM sobre Na_2SO_4,

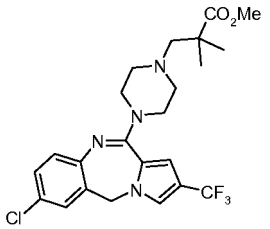
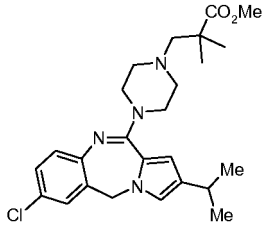
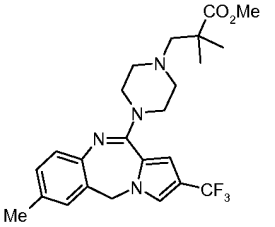
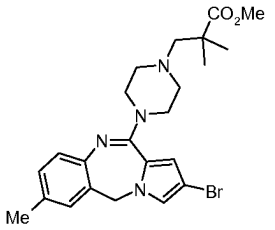
filtrar y concentrar hasta sequedad para dar 2,7,11-tricloro-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepina como un sólido de color crema. Paralelamente desalar clorhidrato de 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)propanoato de metilo (0,837 g, 3,54 mmoles) por disolución en metanol, añadir la solución metanólica a una columna SCX-2 (10 g), lavar con metanol y luego eluir con solución de amoniaco 2,5 M en metanol, evaporar la fracción de amoniaco en metanol para dar 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)propanoato de metilo (0,665 g) como un aceite. Mezclar este aceite con 2,7,11-tricloro-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepina (0,505 g 1,77 mmoles), carbonato de potasio (0,733 g, 5,31 mmoles) y acetonitrilo (20 ml) y calentar a reflujo durante la noche. Enfriar la mezcla de reacción hasta la temperatura ambiente y filtrar, lavando el sinterizado con EtOAc, luego evaporar el filtrado al vacío hasta un sólido Someter a cromatógrafía sobre sílice eluyendo con metanol/DCM (gradiente de elución 2:98 a 8:92). Evaporar las fracciones que contienen producto para dar 3-[4-(2,7-dicloro-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo (0,69 g). EM (m/z): 449,13/451,07 (M+1)

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento de la preparación 51.

Preparación n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
52	3-[4-(3,7-dimetil-5*H*-pirrolo[3,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo		409,23
53	3-[4-(2-bromo-7-cloro-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo		493,00/495,00
54	3-[4-(7-cloro-2-etil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo		443,18

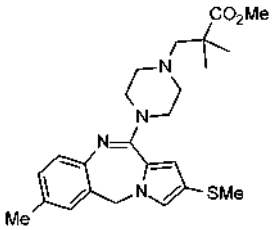
Preparación n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
55	3,3-dimetil-3-[4-(7-metil-3-(trifluorometil)-5*H*-pirrolo [2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il] propanoato de metilo		463,17

(continuación)

56	3-[4-(7-cloro-3-(trifluorometil)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo		483,17
57	3-[4-(7-cloro-2-(1-metiletil)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo		457,07/459,17
58	3,3-dimetil-3-[4-(7-metil-3-(trifluorometil)-5*H*-pirrolo[3,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]propanoato de metilo		463,17
59	3-[4-(3-bromo-7-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo		473,12/475,07

Preparación 60

Síntesis de
2,2-dimetil-3-[4-(7-metil-2-(metilsulfanil)-5H-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]propanoato de metilo

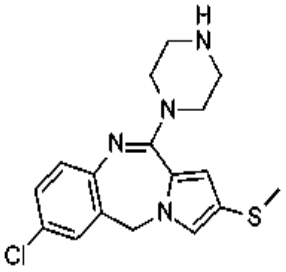


Tratar 1-(5-metil-2-nitrobencil)-4-(metilsulfanil)-1*H*-pirrol-2-carboxilato de metilo (3,49 mmoles; 1,12 g) con ácido acético (15 ml), luego tratar con hierro, polvo (10,5 mmoles; 585 mg), luego calentar lentamente en un baño de aceite a 80 °C. Después de unas pocas horas incrementar la temperatura del baño de aceite hasta 90 °C. Luego dejar la reacción a 60 °C durante 2 días. Luego concentrar hasta sequedad para eliminar ácido acético, luego tratar con EtOAc y lavar a través de un soporte de sílice con más EtOAc hasta que el color naranja cese de desaparecer. Concentrar el eluyente rojo hasta sequedad, luego tratar con metanol, luego re-concentrar y disolver en DCM (20 ml) y tratar con cloruro de fosforilo (1,0 ml). Calentar la reacción en un baño de aceite a 50 °C durante la noche. Luego enfriar la reacción hasta la TA y tratar con hielo, luego lavar dos veces con agua y luego $NaHCO_3$ (ac.). Secar la capa orgánica sobre $MgSO_4$, filtrar y concentrar hasta un alquitrán. Mientras tanto, disolver diclorhidrato de 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)propanoato de metilo (1,60 g, 5,86 mmoles) en agua, luego cargar sobre un cartucho SCX-2 (2 x 10 g) y lavar con metanol y luego eluir con amoniaco en metanol. Concentrar la solución básica hasta sequedad hasta un aceite. Luego disolver este aceite en acetonitrilo (50 ml) y añadir a una mezcla del alquitrán y carbonato de potasio (1,0 g), luego calentar a reflujo. Después de 2 horas, someter la reacción a microondas hasta

140 °C durante 2 horas. Luego filtrar la reacción y extraer con acetonitrilo y acetona. Combinar y concentrar los licores madre hasta sequedad sobre sílice, luego purificar mediante cromatografía ultrarrápida, sílice (40 g) (10-50 % EtOAc en hexano). Tomar las fracciones que contienen producto limpio, combinar y concentrar para producir 2,2-dimetil-3-[4-(7-metil-2-(metilsulfanil)-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]propanoato de metilo (418 mg; 27 % de rendimiento). EM (m/z): 441,18 (M+1).

Preparación 61

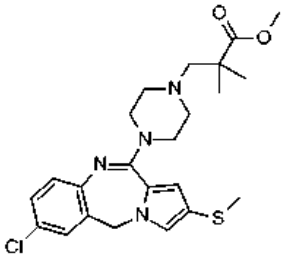
Síntesis de 7-cloro-2-(metilsulfanil)-11-(piperazin-1-il)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepina



Añadir cloruro de fosforilo (5 equiv; 2,21 ml, 3,64 g, 23,76 mmoles) a 7-cloro-2-(metilsulfanil)-5,10-dihidro-11*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-ona (1,38 g, 4,75 mmoles) en cloroformo (20 ml) y calentar y agitar a 45 °C durante 2 h. Elevar la temperatura de la reacción hasta 60 °C y agitar durante unas 2 h adicionales. Eliminar el cloroformo al vacío y disolver el residuo en DCM (100 ml) y lavar con solución de bicarbonato de sodio saturada (100 ml). Filtrar la capa de DCM a través de una frita de separación de fases y evaporar el disolvente al vacío para dar un aceite viscoso. Disolver el aceite en acetonitrilo (10 ml) y añadir carbonato de cesio (3 equiv; 4,65 g, 14,26 mmoles). Añadir a esta mezcla piperazina (10 equiv; 4,09 g, 47,52 mmoles) en acetonitrilo seco (10 ml) y calentar y agitar la mezcla en reflujo durante la noche. Enfriar la mezcla de reacción y añadir solución de cloruro de amonio saturada (100 ml) y extraer en EtOAc (2 x 50 ml). Combinar las capas orgánicas y lavar con agua (3 x 100 ml), secar sobre $MgSO_4$, filtrar y evaporar el disolvente al vacío para dar 7-cloro-2-(metilsulfanil)-11-(piperazin-1-il)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepina (1,0 g, 60 %). EM (m/z): 347,13 (M+1).

Preparación 62

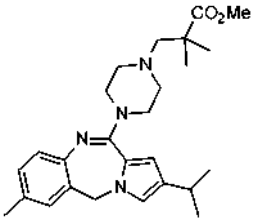
Síntesis de
3-[4-(7-cloro-2-(metilsulfanil)-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo



Añadir 2,2-dimetil-3-oxo-propanoato de metilo (0,928 g, 7,13 mmoles) en DCM (5 ml) a 7-cloro-2-(metilsulfanil)-11-(piperazin-1-il)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepina (1,0 g, 2,85 mmoles) en DCM (10 ml) y agitar en nitrógeno durante 30 minutos a temperatura ambiente. Añadir triacetoxiborohidruro de sodio (3 equiv; 1,89 g, 8,56 mmoles) a la mezcla de reacción y agitar en nitrógeno durante la noche a temperatura ambiente. Añadir metanol y aplicar a una columna SCX-2, lavar con metanol y eluir con amoniaco 2 M en metanol. Evaporar la solución de metanol para dar 3-[4-(7-cloro-2-(metilsulfanil)-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il] -2,2-dimetilpropanoato de metilo (1,23 g, 84 %). EM (m/z): 461,12 (M+1).

Preparación 63

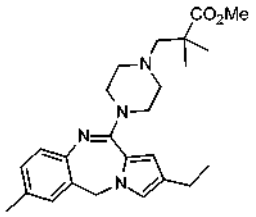
Síntesis de 2,2-dimetil-3-{4-[7-metil-2-(propan-2-il)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il]piperazin-1-il}propanoato de metilo



Mezclar 3-[4-(2-bromo-7-metil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo (1,00 equiv; 600,00 mg, 1,27 mmoles), 4,4,5,5-tetrametil-2-(prop-1-en-2-il)-1,3,2-dioxaborolano (3,00 equiv. 638,93 mg, 3,80 mmoles) en metanol (15 ml). Añadir una mezcla precombinada de tris(dibencilidenacetonilo)bis-paladio ($Pd_2(dba)_3$) al 1,09 % en peso,1,1'-bis(di-terc-butilfosfino)ferroceno (dtbpf) al 1,16 % en peso y fosfato tripotásico al 97,75 % en peso (1,06 g) y calentar a 140 °C durante 25 min en un microondas. Filtrar la mezcla de reacción a través de celite y diluir hasta un volumen de 25 ml con metanol. Hidrogenar la solución metanólica haciéndola pasar a 1ml/min a través de un hidrogenador de flujo H-Cube® usando un cartucho catalítico de Pd al 10 %/C a 50 °C. Evaporar el disolvente al vacío para dar metil 2,2-dimetil-3-{4-[7-metil-2-(propan-2-il)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il]piperazin-1-il}propanoato.EM (m/z): 437,28 (M+1).

Preparación 64

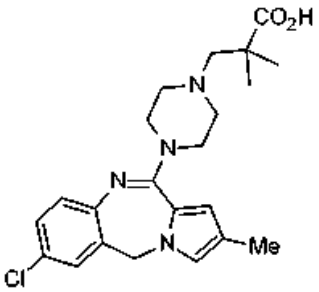
Síntesis de 3-[4-(2-etil-7-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo



Mezclar 3-[4-(2-bromo-7-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo (1,00 equiv; ; 620,00 mg, 1,31 mmoles), trietenilboroxin piridina (1,5 equiv; 472,79 mg, 1,96 mmoles;) en metanol (15 ml). Añadir una mezcla precombinada de tris(dibencilidenacetonilo)bis-paladio ($Pd_2(dba)_3$) al 1,09 % en peso, 1,1'-bis(di-terc-butilfosfino)ferroceno (dtbpf) al 1,16 % en peso y fosfato tripotásico al 97,75 % en peso (1,10 g) y calentar a 140 °C durante 25 min en un microondas. Filtrar la mezcla de reacción a través de celite y diluir hasta un volumen de 25 ml con metanol. Hidrogenar la solución metanólica haciéndola pasar a 1ml/min a través de un hidrogenador de flujo H-Cube® usando un cartucho catalítico de Pd al 10 %/C a 50 °C. Evaporar el disolvente al vacío para dar 3-[4-(2-etil-7-metil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo. EM (m/z): 423,18 (M+1).

Ejemplo 1

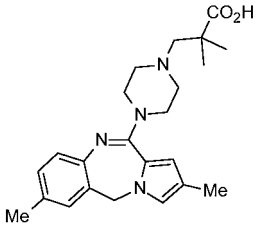
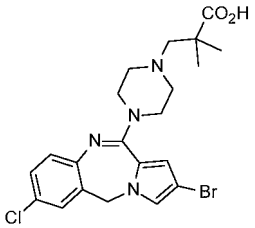
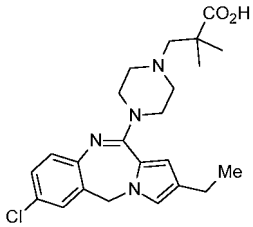
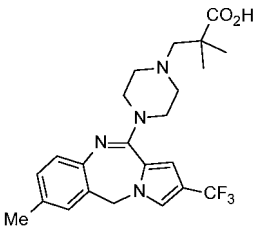
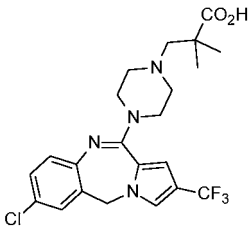
Síntesis del ácido 3-[4-(7-cloro-2-metil-5H-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico.



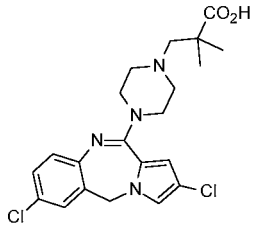
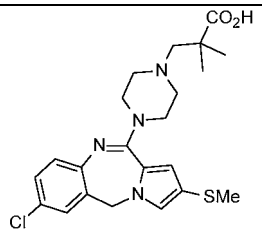
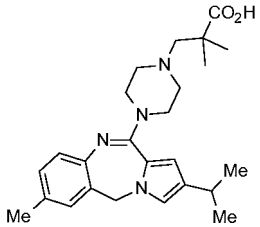
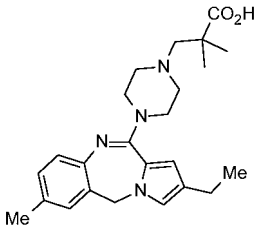
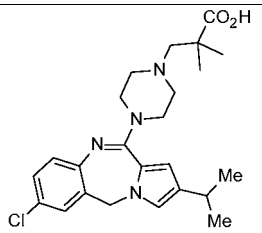
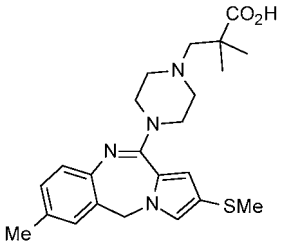
A una suspensión de 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de metilo (28,0 g, 65,27 mmoles) en una mezcla de alcohol isopropílico (150 ml) y agua (150 ml)

añadir hidróxido de sodio (3 equiv; 7,83 g, 195,82 mmoles) y calentar a 70 °C durante 4 h para dar una solución clara. Calentar a 70 °C durante 1 h adicional luego enfriar ligeramente. Añadir ácido clorhídrico 5 M para dar pH 8 y precipitar un sólido blanco. Añadir adicionalmente ácido clorhídrico 5 M para dar un pH entre 6,5 y 7. Reducir el volumen de disolvente hasta la mitad y luego refrigerar el matraz en un refrigerador durante 0,5 h. Recoger el sólido blanco resultante mediante filtración y secar durante la noche en un horno a vacío a 40 °C sobre pentóxido de fósforo para dar ácido 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico (26,5 g, 98 % de rendimiento). EM (m/z): 415,3 (M+1). Punto de fusión por CDB=246,5 °C (inicio).

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento del ejemplo 1.

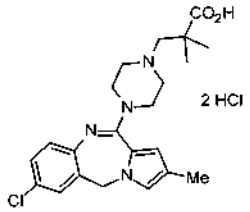
Ejemplo n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
2	ácido 3-[4-(3,7-dimetil-5*H*-pirrolo[3,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il) piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		395,28
3	ácido 3-[4-(2-bromo-7-cloro-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-1 1-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		480,97
4	ácido 3-[4-(7-cloro-2-etil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il) piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		429,18
5	ácido 2,2-dimetil-3-{4-[7-metil-2-(trifluorometil)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1, 4]benzodiazepin-11-il]piperazin-1-il}propanoico		449,18
6	ácido 3-[4-(7-cloro-3-(trifluorometil)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-3,3-dimetilpropanoico		468,62

(continuación)

Ejemplo n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
7	ácido 3-[4-(2,7-dicloro-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il) piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		435,18
8	ácido 3-[4-(7-cloro-2-(metilsulfanil)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-3,3-dimetilpropanoico		447,17
9	ácido 2,2-dimetil-3-{4-[7-metil-2-(propan-2-il)-5H-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il]piperazin-1-il}propanoico		423,17
10	ácido 3-[4-(2-etil-7-metil-5H-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il) piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		409,18
11	ácido 3-{4-[7-cloro-2-(propan-2-il)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-il]piperazin-1-il}-2,2-dimetilpropanoico		443,18
12	ácido 2,2-dimetil-3-{4-[7-metil-2-(metilsulfanil)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1, 4]benzodiazepin-11-il]piperazin-1-il}propanoico		427,18

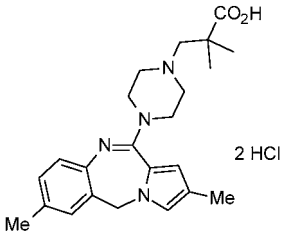
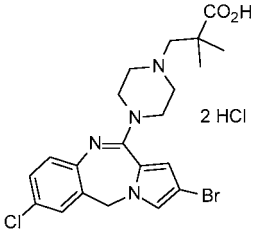
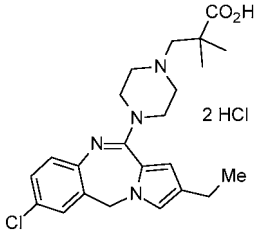
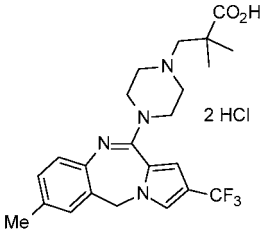
Ejemplo 13

Síntesis del diclorhidrato del ácido
3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico

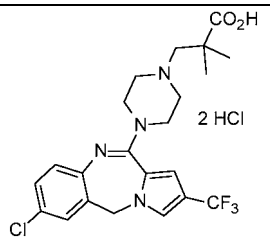
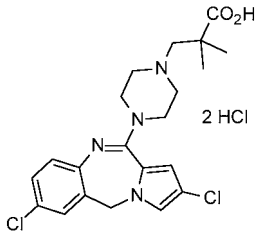
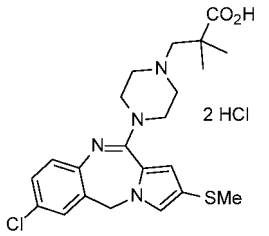
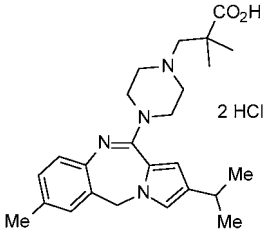
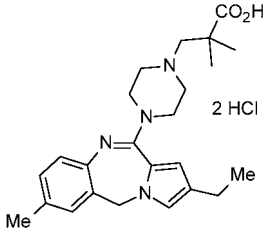
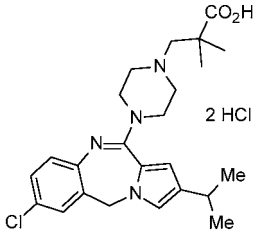


A una suspensión de ácido 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico (24,25 g, 58,44 mmoles) en alcohol isopropílico (250 ml) a 60 °C, añadir una solución de cloruro de hidrógeno en dioxano 4 M (2,4 equiv; 35,07 ml, 140,26 mmoles) durante 10 minutos para dar una solución clara. Dejar enfriar ligeramente, luego evaporar hasta un sólido blanquecino. Triturar con una cantidad pequeña de dietil éter y recoger el sólido pulverulento color crema mediante filtración. Secar en un horno a vacío a 40 °C durante la noche. Moler hasta un polvo fino y secar en un horno a vacío a 60 °C durante 6 h. Supervisar los niveles de alcohol isopropílico residual mediante RMN de ^{1}H. Disolver en etanol templado (350 ml) y evaporar hasta sequedad. Triturar con etanol (50 ml) y evaporar, de nuevo, hasta sequedad. Triturar con éter dietílico seco (200 ml) y recoger el sólido resultante mediante filtración. Secar durante 6 h en un horno a vacío a 50 °C para dar diclorhidrato del ácido 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico (26,9 g, 94 % de rendimiento) EM (m/z): 415,2 (M+1).

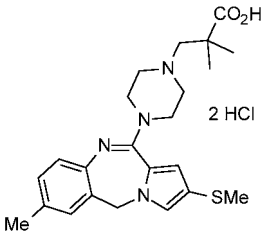
Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento del ejemplo 13.

Ejemplo n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
14	diclorhidrato del ácido 3-[4-(2,7-dimetil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il) piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		395,28
15	diclorhidrato del ácido 3-[4-(2-bromo-7-cloro-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		480,97
16	diclorhidrato del ácido 3-[4-(7-cloro-2-etil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		429,18
17	diclorhidrato del ácido 2,2-dimetil-3-{4-[7-metil-2-(trfluorometil)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il]piperazin-1-il}propanoico		449,18

(continuación)

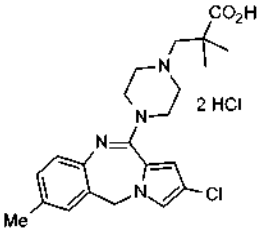
Ejemplo n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
18	diclorhidrato del ácido 3-{4-[7-cloro-2-(trifluorometil)-5H-pirrolo[3,1-c][1,4] benzodiazepin-11-il]piperazin-1-il}-2,2-dimetilpropanoico		469,07
19	diclorhidrato del ácido 3-[4-(2,7-dicloro-5H-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il) piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		434,68
20	clorhidrato del ácido 3-{4-[7-cloro-2-(metilsulfanil)-5H-pirrolo[2,1-c][1,4] benzodiazepin-11-il]piperazin-1-il}-2,2-dimetilpropanoico		446,98
21	diclorhidrato del ácido 2,2-dimetil-3-{4-[7-metil-2-(propan-2-il)-5H-pirrolo[2,1-c][[1, 4]benzodiazepin-11-il]piperazin-1-il}propanoico		423,18
22	diclorhidrato del ácido 3-[4-(2-etil-7-metil-5H-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		409,18
23	diclorhidrato del ácido 3-{4-[7-cloro-2-(propan-2-il)-5H-pirrolo[2,1-c][1,4] benzodiazepin-11-il]piperazin-1-il}-2,2-dimetilpropanoico		443,18

(continuación)

Ejemplo n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
24	diclorhidrato del ácido 2,2-dimetil-3-{4-[7-metil-2-(metilsulfanil)-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il]piperazin-1-il}propanoico		427,18

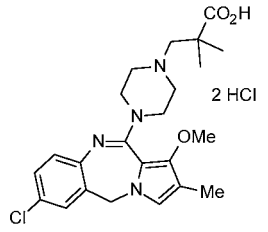
Ejemplo 25

Síntesis del diclorhidrato del ácido 3-[4-(2-cloro-7-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico

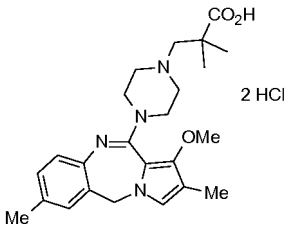
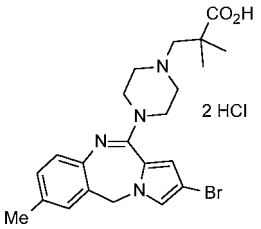


Disolver diclorhidrato de 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)propanoato de metilo (1,49 g, 5,47 mmoles) en agua y absorber sobre una columna SCX2. Lavar la columna con metanol y eluir el 2,2-dimetil-3-piperazin-1-il-propanoato de metilo con amoniaco 2 M en metanol. Eliminar el metanol al vacío y añadir el 2,2-dimetil-3-(piperazin-1-il)propanoato de metilo a acetonitrilo (12 ml). Añadir 2,11-dicloro-7-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepina (0,85 g, 3,22 mmoles) y bicarbonato de sodio (0,405 g, 4,83 mmoles) a la solución de acetonitrilo. Calentar y agitar en el microondas durante 30 minutos a 140 °C. Enfriar hasta la temperatura ambiente, absorber la mezcla de reacción sobre sílice y purificar mediante cromatografía (gradiente de elución con EtOAc/isohexano 0:100 % a 100:0 %). Recoger las fracciones que contienen producto y evaporar el disolvente al vacío y disolver el residuo en metanol (10 ml) y añadir hidróxido de litio (0,235 g, 9,65 mmoles). Calentar y agitar la solución metanólica en el microondas durante 12,5 minutos a 140 °C. Enfriar hasta la temperatura ambiente y acidificar con ácido acético y luego evaporar el disolvente a presión reducida. Disolver el residuo en exceso HCl 2 M (ac.) y luego se evapora hasta sequedad. Disolver el residuo en agua e inmovilizar sobre una resina macroporosa de poliestireno-hidrogenocarbonato (PL-HCO3) . Lavar la resina con agua y eluir de la resina con HCl 2 M (ac.). Evaporar la solución hasta sequedad para dar diclorhidrato del ácido 3-[4-(2-cloro-7-metil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico (0,177 g; 11,28 % de rendimiento). EM (m/z): 415,18 (M+1).

Los siguientes compuestos se preparan esencialmente mediante el procedimiento del ejemplo 25.

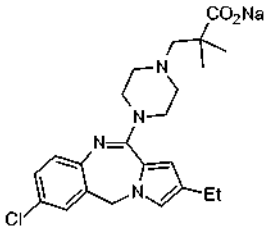
Ejemplo n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
26	diclorhidrato del ácido 3-[4-(7-cloro-1-metoxi-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		445,18

(continuación)

Ejemplo n.º	Nombre	Estructura	EM (m/z): (M+1)
27	diclorhidrato del ácido 3-[4-(1-metoxi-3,7-dimetil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		425,18
28	diclorhidrato del ácido 3-[4-(2-bromo-7-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico		459,07, 461,07

Ejemplo 29

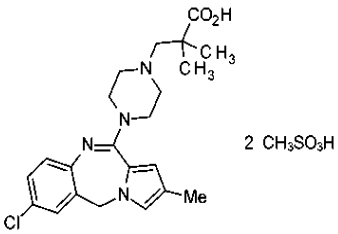
Síntesis de 3-[4-(7-cloro-2-etil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de sodio



Disolver diclorhidrato del ácido 3-[4-(7-cloro-2-etil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il) piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico (201 mg, 400 µmoles en agua y metanol (5 ml), luego cargar sobre un cartucho SCX-2 (2 g). Lavar con metanol y luego eluir con amoniaco en metanol. Concentrar la solución básica hasta sequedad para dar ácido 3-[4-(7-cloro-2-etil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico (160 mg, 373 µmoles). Luego tratar con hidróxido de sodio 2 N (187 ml, (373 mmoles) y agua (3 ml) para generar una solución. Luego secar por congelación para producir 3-[4-(7-cloro-2-etil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoato de sodio (164 mg, 98 % de rendimiento). EM (m/z): 429,18 (M+1).

Ejemplo 30

Síntesis de di-metanosulfonato del ácido 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il] -2,2-dimetilpropanoico



Añadir acetonitrilo (5 ml) a ácido 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-*c*][1,4] benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico (0,106 g, 0,255 mmol) para crear una suspensión densa. Añadir ácido metanosulfónico (0,050 ml, 0,075 g, 0,76 mmol) a la suspensión densa en agitación (1000 rpm) y agitar la solución resultante a 60 °C hasta que precipite un sólido blanco. Enfriar esta suspensión densa, y aislar el sólido mediante filtración para obtener di-metanosulfonato del ácido 3-[4-(7-cloro-2-metil-5H-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il) piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico (0,15 g).

Los datos bibliográficos (Morairty SR, Hedley L, Flores J, Martin R, Kilduff TS. (2008) Selective 5-HT2A and 5-HT6 receptor, antagonists promote sleep in rats. Sleep 31, 34-44.; and Barbier, A.J., and Bradbury, M.J., Histaminergic Control of Sleep- Wake Cycles: Recent Therapeutic Advances for Sleep and Wake Disorders, CNS & Neurological Disorders-Drug Targets, vol 6, pp. 31-43 (2007)) y los datos generados en estudios con animales no clínicos abogan por un papel de agonistas inversos de H1/antagonistas de 5-HT_{2A} con actividad dual en el tratamiento del insomnio y en el tratamiento sintomático del insomnio asociado con otros trastornos, tales como trastornos depresivos, trastornos de ansiedad, dolor, alergias, trastornos de pulmón o vías respiratorias, trastornos psiquiátricos, demencia, y/o enfermedades neurodegenerativas, y/o trastornos del ritmo circadiano del sueño Específicamente se ha encontrado que ciertos agonistas inversos de H1/antagonistas de 5-HT_{2A} con actividad dual son eficaces en incrementar el tiempo de sueño total usando roedores supervisados por EEG sin hipoactividad, disminución en el sueño MOR o hipersomnolencia desproporcionadas o clínicamente relevantes.

Para demostrar adicionalmente las características de los presentes compuestos, los compuestos se pueden emplear en los siguientes ensayos *in vitro* e *in vivo*:

Ensayos de unión y actividad *in vitro:*

Ensayo de unión a H1 por competición

Los experimentos de unión con [^{3}H]-pirilamina se llevan a cabo en formato de 96 pocillos de SPA (ensayo de proximidad de centelleo). Las membranas usadas en este ensayo se preparan a partir de células HEK-293 que expresan de forma estable el receptor H1 recombinante (humano). La incubación se inicia por la adición de una mezcla de perlas para SPA de WGA PVT (1mg/pocillo, Perkin Elmer (MA, EE. UU.) RPNQ0001) y 3 µg de membranas al tampón de ensayo (Tris 67 mM; pH 7,6) que contiene [^{3}H]-pirilamina 3,5 nM y variando las concentraciones del compuesto de prueba (curvas de respuesta a la concentración de 10 puntos). No se determina unión específica en presencia de triprolidina 10 µM. Las muestras se incuban durante cuatro horas a temperatura ambiente (22° C) y luego se leen en un Microbeta Trilux.

Ensayo de unión a 5-HT_{2A} por competición

Los experimentos de unión con [^{3}H]-ketanserina se llevan a cabo en formato de 96 pocillos de SPA. Las membranas usadas en este ensayo se preparan a partir de células AV-12 que expresan de forma estable el receptor 5-HT_{2A} recombinante (humano). La incubación se inicia por la adición de una mezcla de perlas para SPA de WGA YSi (1mg/pocillo, Perkin Elmer (MA, EE. UU.), RPNQ0011) y 2 mg de membranas al tampón de ensayo (Tris 67 mM, EDTA 0,5 mM; pH 7,6) que contiene [^{3}H]-ketanserina 3,1 nM y variando las concentraciones del compuesto de prueba (curvas de respuesta a la concentración de 10 puntos). No se determina unión específica en presencia de 1-(1-naftil)piperazina 20 mM. Las muestras se incubaron durante cuatro horas a temperatura ambiente (22° C) y luego se leyeron en un Microbeta Trilux.

Ensayo de unión a 5-HT_{2C} por competición

Los experimentos de unión con [^{125}I]-(±)DOI se llevan a cabo en formato de 96 pocillos de SPA. Las membranas usadas en este ensayo se preparan a partir de células AV-12 que expresan de forma estable el receptor 5-HT_{2C} recombinante (humano). La incubación se inicia por la adición de una mezcla de perlas para SPA de WGA PVT (0,5 mg/pocillo, Perkin Elmer (MA, EE. UU.), RPNQ0001) y 2,5 µg de membranas al tampón de ensayo (Tris-HCl 50 mM, $MgCl_2$ 10 mM, EDTA 0,5 mM, pargilina 10 µM, ácido ascórbico al 0,1 %, pH 7,4) que contiene [^{125}I]-(±)DOI 0,2 nM y variando las concentraciones del compuesto de prueba (curvas de respuesta a la concentración de 10 puntos). No se determina unión específica en presencia de 1-(1-naftil)piperazina 20 µM. Las muestras se incuban durante cuatro horas a temperatura ambiente (22° C) y luego se leen en un Microbeta Trilux.

Análisis de datos de unión

Las curvas se evalúan usando una ecuación logística no lineal de 4 parámetros para obtener la concentración de competidor que genera el 50 % de la inhibición de unión de radioligando (CI_{50}). Las constantes de disociación en equilibrio (K_i) se calculan de acuerdo con la ecuación $K_i=CI_{50}/(1+L/K_d)$, donde L equivale a la concentración de radioligando usada en el experimento y K_d equivale a la constante de disociación en equilibrio del radioligando para el receptor, determinada a partir del análisis de saturación estándar o experimentos de competición homólogos. Los valores evidenciados para K_i, donde se indican n valores, se muestran como la media geométrica ± el error estándar de la media (EEM), con el número de determinaciones repetidas indicadas mediante n. Las medias geométricas se calculan mediante la ecuación MediaGeo=10^(promedio (log K_i 1 + log K_i 2 +...log K_i n)/raíz cuadrada n).

Antagonismo sobre $GABA_A$ usando receptores naturales en cultivos neuronales primarios

La actividad de los compuestos en recetores $GABA_A$ naturales se evalúa mediante supervisión de los flujos de calcio usando un sistema FLIPR® en formato de 96 pocillos (lector de placas por formación de imagen fluorométrica (FLIPR®, Molecular Devices). De manera concisa, las neuronas corticales embrionarias se disocian a partir de embriones de rata E18 y se disponen a una densidad óptima en palcas de FLIPR® de 96 pocillos revestidas de poli-D-lisina con paredes negras de fondo transparente. Después de cargar las células con una tinción sensible a calcio (Fluo4-AM, Molecular Devices), las células se someten a un baño en una solución que contiene nivel bajo de cloruro (cloruro se reemplaza por gluconato). En estas condiciones, la activación de los receptores $GABA_A$ genera una efluencia de iones cloruro (en la dirección del gradiente químico), que da como resultado una despolarización de la membrana y, por consiguiente, la activación canales de calcio estimulados por voltaje (VGCC). Se registra el aflujo de calcio a través de los VGCC y se analiza fuera de línea usando el sistema FLIPR®. Para una validación farmacológica del ensayo, se registran las curvas de respuesta a la concentración (CRC) para el agonista estándar (GABA) y antagonista estándar (gabazina). Se determinan cualesquiera efectos en el modo de CRC frente a una concentración fija de agonista GABA de 10 μM (equivalente a una respuesta de GABA de CE_{90}).

Procedimientos:

Los efectos antagonistas de compuestos se cuantifican usando curvas de respuesta a la dosis de 10 puntos mediante comparación de las respuestas fluorescentes de pico frente al agonista GABA en presencia y ausencia de compuesto. El margen de ensayo se define como la respuesta máxima obtenida por GABA a su concentración CE_{90} predeterminada menos la respuesta obtenida mediante una concentración completamente inhibitoria de concentración gabazina (50 μM). Los efectos antagonistas se calculan como un porcentaje del margen de ensayo. Todos los datos se calculan como valores CI_{50} relativos usando un programa logístico de ajuste de curvas de cuatro parámetros (Prism Graphpad® 3.01). Se comparan las potencias antagonistas para todos los compuestos frente a gabazina con tres repeticiones en cada ejecución del ensayo.

Los compuestos ejemplificados o sales ejemplificadas de los mismos se someten a prueba esencialmente como se describe anteriormente y se encuentra que tienen afinidad alta por los receptores H1 y $5\text{-}HT_{2A}$ y selectividad sobre el receptor $5\text{-}HT_{2C}$. Se encuentra que las K_i para los receptores H1 y $5\text{-}HT_{2A}$ para los compuestos ejemplificados son menos de 100 nM y 200 nM, respectivamente, mientras que se encuentra que las K_i para el receptor $5\text{-}HT_{2C}$ son mayores de 1000 nM.

Además, los compuestos de la invención se pueden someter a prueba en ensayos de unión y ensayos de actividad funcional mediante procedimientos bien conocidos para otros receptores fisiológicamente importantes, tales como, pero que no están limitados al canal hERG, otros receptores de serotonina (específicamente los receptores $5\text{-}HT_{1A}$, $5\text{-}HT_{1B}$, $5\text{-}HT_{1D}$, $5\text{-}HT_{1E}$, $5\text{-}HT_{1F}$, receptores con carencia de actividad agonista en $5\text{-}HT_{2B}$, receptores $5\text{-}HT_{2C}$, $5\text{-}HT_4$, $5\text{-}HT_5$, $5\text{-}HT_6$, y $5\text{-}HT_7$), receptores muscarínicos, receptores dopaminérgicos (específicamente D1, D2, y D3), receptores $GABA_A$, receptores adrenérgicos y transportadores de monoaminas. Ciertos compuestos ejemplificados se someten a prueba sobre estos recetores y muestran carácter de actividad significativa.

Los compuestos de los ejemplos 1 y 13 se someten a prueba esencialmente como se describe anteriormente y se encuentra que tienen perfiles de actividad como se muestra en la tabla 1.

Tabla 1. Datos sobre selectividad

	Ejemplo 1	Ejemplo 13
K_i de H1 (nM)	27,3	16,8
K_i de $5\text{-}HT_{2A}$ (nM)	57,5	63,2
CE_{50} de agonista de $5\text{-}HT_{2B}$ (nM)	> 10000	> 10000
K_i de $5\text{-}HT_{2C}$ (nM)	3810	2370
CI_{50} de $GABA_A$ (mM)	-----	> 50
Canal hERG (mM)	> 100	> 100
K_i de Dopamina D_1 (nM)	3790	1860
K_i de Dopamina D_2 (nM)	> 4500	3420
K_i de Dopamina D_3 (nM)	> 5680	> 4110
K_i de $5\text{-}HT_{1A}$ (nM)	> 6940	-----
K_i de $5\text{-}HT_{1B}$ (nM)	> 5580	> 5580

(continuación)

K_i de 5-HT_{1D} (nM)	> 3980	> 8550
	Ejemplo 1	Ejemplo 13
Ki de 5-HT1E (nM)	-----	> 5370
Ki de 5-HT1F (nM)	-----	> 8250
Ki de 5-HT5 (nM)	> 8830	> 9090
Ki de 5-HT6 (nM)	2690	> 5830
Ki de 5-HT7 (nM)	> 2060	> 3970
Ki de adrenérgico alfa1A (nM)	> 8910	> 8910
Ki de adrenérgico alfa1B (nM)	> 10900	> 10900
Ki de adrenérgico alfa2A (nM)	> 9030	> 8470
Ki de adrenérgico alfa2B (nM)	> 4980	> 4800
Ki de adrenérgico alfa2C (nM)	> 4020	> 5330
Transportador de serotonina	> 641	> 515
Transportador de norepinefrina	> 682	> 526
Transportador de dopamina	> 879	> 880

Por lo tanto, se espera que las dosis fisiológicamente pertinentes de los compuestos de la invención proporcionen inhibición sustancial de los receptores H1 y 5-HT_{2A} *in vivo*, mientras no interaccionan sustancialmente con otros receptores fisiológicamente pertinentes, y, de esta manera, se espera que proporcionen la farmacología deseada mientras se evitan los efectos no deseados asociados con la actividad colateral. Tales efectos no deseados incluyen, pero no están limitados a, los siguientes: actividad antagonista sobre 5-HT_{2C} asociada con el aumento de peso durante el tratamiento, actividad agonista sobre 5-HT_{2B} asociada con valvulopatía, modulación del canal hERG asociada con prolongación de QT, y actividad de $GABA_A$ asociada con actividad convulsiva. Lo que es más, se evita la interferencia con la fisiología del sueño/ vigilia mediante la selectividad sobre los receptores de dopamina, otros receptores de serotonina, receptores adrenérgicos, y transportadores de monoaminas.

Ocupación del receptor 5-HT_{2A}: Se somete a ensayo la ocupación del receptor para demostrar el grado de interacción con el receptor 5-HT_{2A} *in vivo*. De manera concisa, las ratas Sprague-Dawley macho (Harlan Sprague-Dawley, Indianápolis, IN), que pesan aproximadamente 230-280 gramos, tienen acceso libre a alimento y agua hasta el comienzo del protocolo experimental de 3 horas. Se usa 1 mg/kg de ketanserina (antagonista de 5-HT_{2A} no selectivo) como control positivo para establecer la validez del ensayo. Los compuestos de prueba o control se administran mediante sonda oral en un vehículo que comprende hidroxipropil-beta-ciclodextrina al 20 %. Como marcador se usa MDL 100907 ((R)-(+)-α-(2,3-dimetoxifenil)-1-[2-(4-fluorofenil)etil]-4-piperidinmetanol), un antagonista de 5-HT_{2A} selectivo. Se suspende MDL 100907 en agua con 5 µl de ácido láctico diluido (mg/ml), se diluye hasta 6 µg/ml con solución salina, y se administra en un volumen de 1 ml/kg por vía intravenosa a través de la vena lateral de la cola para producir una dosis de marcador de 3 µg/kg. Se administra el compuesto de prueba a las ratas, ketanserina, o vehículo (N=4), seguido una hora más tarde de dosis intravenosa de marcador de MDL 100907 de 3 µg/kg. Es en el momento de la administración del marcador cuando se considera que se ha de medir la ocupación del receptor (OR). Quince minutos después de la administración del marcador, se sacrifican las ratas mediante dislocación cervical. Se recogen las muestras de plasma y se eliminan las muestras de córtex frontal y cerebelo. El nivel de marcador de MDL 100907 se mide en cada muestra cortical y cerebelosa. La OR se calcula usando el bien establecido procedimiento de relación que emplea una región de densidad de receptor alta representativa de la unión total (córtex frontal) normalizada por un área sin o con niveles muy bajos de receptor (cerebelo). Esta región, denominada región cero, representa la unión no específica de la sonda de ligando. La relación de vehículo de los niveles de marcador en el córtex relativa a al cerebelo representa el 0 % de ocupación. Una relación del 1 representa el 100 % de ocupación y se logra cuando se bloquea toda la unión específica al receptor 5-HT_{2A} del marcador MDL 100907. Las relaciones de intermedio de marcador cortical a cerebeloso a partir del grupo pretratado con el compuesto de prueba se interpolan linealmente entre la relación de los niveles de marcador en los animales tratados con el vehículo (0 % de ocupación) y una relación de 1 (100 % de ocupación) a fin de determinar el porcentaje de OR de 5-HT_{2A}.

Análisis con MDL 100907: Se pesan las muestras cerebelosas y de córtex y se colocan en tubos de centrífuga cónicos en hielo. A cada tubo se añaden cuatro volúmenes (p/v) de acetonitrilo que contiene ácido fórmico al 0,1%. Las muestras se homogeneizan luego y se centrifugan a 14 000 rpm (21,920 x g) durante 16 minutos. Se diluye el sobrenadante añadiendo 100-900 µl de agua estéril en viales de inyección para HPLC para análisis de CL/EM/EM. Se lleva a cabo el análisis de MDL 100907 usando un HPLC Agilent modelo 1200 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA) y un espectrómetro de masas API 4000. La separación cromatográfica es en una columna C18 de 2,1 x 50 mm (número

de pieza de Agilent 971700-907) y una fase móvil que consiste en acetonitrilo al 60 % en agua con un contenido en ácido fórmico al 0,1 % global. La detección de MDL 100907 se consigue mediante supervisión del precursor del producto de la transición iónica con una relación de masa frente a carga (m/z) de 374,2 frente a 123,0. Los estándares se preparan mediante adición de cantidades conocidas de analito a muestras de tejido cerebral a partir de ratas no tratadas y mediante procesamiento como se describe anteriormente.

Procedimientos estadísticos: Las curvas para cada estudio se ajustan a una función logística de 4 parámetros con el fondo ajustado en 0 % usando JMP® versión 8.0 (SAS Institute Inc, Cary NC) y la DE_{50} absoluta se calcula mediante el software. Los valores se dan como medias, errores estándar y el 95 % de intervalos de confianza. El compuesto del ejemplo 13 se somete a prueba esencialmente como se describe y se encuentra que se logra alta ocupación del receptor 5-HT_{2A} con una CE_{50} de 0,27 mg/kg (EE=0,069, 95 % de IC=0,16-0,48 mg/kg).

Ocupación del receptor H1 para histamina: La OR H1 se somete a ensayo para demostrar el grado de interacción con el receptor H1 *in vivo.* De manera concisa, las ratas Sprague-Dawley macho (Harlan Sprague-Dawley, Indianápolis, IN), que pesan aproximadamente 230-280 gramos, tienen acceso libre a alimento y agua hasta el comienzo del protocolo experimental de 3 horas. Se usa diclorhidrato del ácido 3-[4-(8-fluorodibenzo[b,f][1,4]oxazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico como control positivo y se usa doxepina como marcador. Los compuestos de prueba y control se administran mediante sonda oral en un vehículo que comprende hidroxipropil-beta-ciclodextrina al 20 %. Se disuelve doxepina en agua estéril (100 µg/ml), se diluye hasta 2 mg/ml con solución salina, y se administra en un volumen de 0,5 ml/kg por vía intravenosa a través de la vena lateral de la cola para producir una dosis de marcador de 1 µg/kg. Se administra el compuesto de prueba a las ratas, 15 mg/kg de control positivo o vehículo, seguido una hora más tarde de dosis intravenosa de "marcador" de doxepina (N=4). Es en el momento de la administración del marcador cuando se considera que se ha de medir la OR. 40 min después de la administración del marcador, se sacrifican las ratas mediante dislocación cervical. Se recogen las muestras de plasma y se elimina el córtex frontal. El nivel de marcador de doxepina se mide en cada muestra cortical. La OR se calcula usando una comparación en tejido de niveles de marcador en condiciones de vehículo (0 % de ocupación) y condiciones de control positivo (100 % de ocupación). Se predetermina que 15 mg/kg de control positivo administrado por vía intravenosa con un pretratamiento de 30 minutos represente el bloqueo completo de unión específica del marcador a los receptores H1. Los grupos de tratamiento adicional con dosis de compuesto de prueba se interpolan linealmente entre los grupos de vehículo y control positivo para calcular el porcentaje de OR H1.

Análisis con doxepina: Se pesan las muestras corticales y se colocan en tubos de centrífuga cónicos en hielo. A cada tubo se añaden cuatro volúmenes (p/v) de acetonitrilo que contiene ácido fórmico al 0,1 %. Las muestras se homogeneizan y se centrifugan usando un a 14 000 rpm (21,920 x g) durante 16 minutos. Se diluye el sobrenadante con 100-900 µl de agua estéril en viales de inyección para HPLC para análisis de CL/EM/EM. Se lleva a cabo el análisis de CL/EM/EM de doxepina usando un HPLC Agilent modelo 1200 (Agilent Technologies, Palo Alto, CA) y un espectrómetro de masas API 4000. La separación cromatográfica empleó una columna C18 de 2,1 x 50 mm (número de pieza de Agilent 971700-907) y una fase móvil que usa un procedimiento de gradiente que consiste en condiciones iniciales de acetonitrilo al 10 % (ACN) en agua con un contenido en ácido fórmico al 0,1 % global, después de 1 min, ACN al 10 %; 2 min, ACN al 90 %; 2,9 min, ACN al 90 %; 3,1 min, ACN al -10 %; 5,5 min, cese. La detección de doxepina se consiguió mediante supervisión del precursor del producto de la transición iónica con una relación de masa frente a carga (m/z) de 280 a 107,1. Los estándares se preparan mediante adición de cantidades conocidas de analito a muestras de tejido cerebral a partir de ratas no tratadas y mediante procesamiento como se describe anteriormente.

Procedimientos estadísticos: Las curvas a una logística de 4 parámetros (ninguna se mantiene constante) usando Prism® versión 3.02 (GraphPad Software, San Diego, CA) y la DE_{50} relativa se calcula mediante el software. Los valores se dan como medias ± el error estándar de la media. El compuesto del ejemplo 13 se somete a prueba esencialmente como se describe y se encuentra que se logra alta OR H1 con una CE_{50} de 0,3 mg/kg.

Agonismo inverso sobre H1: Para determinar la naturaleza de agonista inverso de los compuestos de la presente invención, se miden sus efectos sobre los niveles de 1-fosfato de mioinositol (IP1) en células HEK293 transfectadas con el receptor H1 recombinante humano (clon R-40 de HEK293/H1 hm). De manera concisa, las células HEK293/H1 hm (clon R-40) se cultivan hasta una confluencia del ~90 % (3:1 DMEM/F12, FBS al 5 %, HEPES al 20 mM, G418 500 mg/ml, pen/estrep/glutamina al 1 %) y se recogieron en el día del ensayo usando 1x tripsina/EDTA (PAA Pasching, Austria L11-003). Se cultivan 35 ml de células (300K) en placas de fondo blanco con mitad de área blanca de 96 pocillos (Corning, UK 3688) en tampón de estimulación (NaCl 146 mM, $CaCl_2$ 1 mM, KCl 4,2 mM, $MgCl_2$ 0,5 mM, glucosa 5,5 mM, HEPES 10 mM y LiCl 50 mM). Los compuestos de prueba se disuelven inicialmente en DMSO al 100 % a 1 mM, y se diluyen en serie (medio log) en DMSO al 100 % para dar curvas de respuesta a la dosis de 10 puntos (Biomek 2000, Beckman Coulter UK). Estos se diluyen adicionalmente hasta x2 de la concentración del ensayo final en tampón de estimulación usando el Cybiwell (CiBio Jena, Germany) y añadiendo 35 ml a las células en la placa de ensayo (concentración final máxima de 10 µM). Las células más el compuesto se incuban durante 1 hora y 30 min a 37 °C/CO_2 al 5 % antes de la adición de 15 µl de cada uno de los reactivos del kit de detención HTRF IP1 (CisBio 62P1APEC). La placa con células se incuba durante una hora adicional a temperatura ambiente antes de medir la acumulación de IP1 (Envision plate reader, Perkin Elmer). La acumulación de IP1 (nM) se calcula extrapolando a partir de la ejecución de la curva de IP1 estándar en el día del ensayo. Los valores de CE_{50} se calculan usando un ajuste de curvas de cuatro parámetros (Graph Pad Prism v3.02). Los valores de eficacia negativa se expresan en relación con el

control positivo tripelennamina (10 μM, Sigma, UK P5514). Los compuestos representativos de la presente invención se someten a ensayo esencialmente como se describe y se encuentra que son agonistas inversos en el receptor H1. El compuesto 13 se somete a prueba esencialmente como se describe y se encuentra que suprime completamente la actividad constitutiva (126 ± 6 %) con una CI_{50} de 53,9 ± 37 nM.

Inhibición de la actividad de temblor de cabeza inducida por DOI La actividad antagonista *in vivo* sobre el receptor 5-HT_{2A} de los compuestos de la presente invención se demuestra mediante su habilidad para bloquear la actividad de temblor de cabeza inducida por el agonista del receptor 5-HT_{2A} 2,5-dimetoxi-4-iodoanfetamina (DOI). (Véase, por ejemplo, Bartoszyk GD, van Amsterdam C, Böttcher H, Seyfried CA. EMD 281014, a new selective serotonin 5-HT2A receptor antagonist. Eur J Pharmacol. 2003 473: 229-230.) De manera concisa, los ratones macho C57BL/6J (20-25 g, Charles River) se alojan en condiciones de alojamiento estándar (32 ratones en una jaula IVC grande, fase de luz de 07.00 a 19.00, temperatura (19-23 °C) y humedad (50 % +/-10) constantes, acceso libre a alimento y agua). Los ratones bien recibieron vehículo (metilcelulosa al 0,25 %), DOI (3 mg/kg en solución salina) o compuesto de prueba a 10mg/kg de PO más DOI (3 mg/kg en solución salina). Los compuestos de prueba se evalúan individualmente en grupos de cuatro por experimento n=4 para cada compuesto junto con vehículo y DOI+vehículo (n=8). Después de un tiempo de pretratamiento con compuesto de prueba de 60 minutos los ratones bien reciben el vehículo (solución salina) o 3 mg/kg de DOI dosificado de manera subcutánea, y luego se colocan en cámaras de observación de perspex transparentes. Cinco minutos después de la administración con DOI o vehículo el número de temblores de cabeza registrados visualmente presentados por cada ratón individual se contó durante 15 minutos. Se analizan los datos usando una prueba de ANOVA y Dunnet a posteriori. Los compuestos ejemplificados se someten a prueba esencialmente como se describe y se encuentra que inhiben la respuesta de temblor de cabeza inducida por DOI en más del 90 % a 10 mg/kg. El compuesto del ejemplo 13 se somete a prueba esencialmente como se describe y se encuentra que inhibe la respuesta de temblor de cabeza inducida por DOI en más del 1000 % a 10 mg/kg.

Supervisión del sueño y conducta en ratas: Los compuestos representativos de la presente invención se someten a pruebas en ratas frente a su habilidad para incrementar la cantidad del sueño o disminuir la interrupción del sueño, o ambos, sin efectos no deseados, tales como inhibición de sueño MOR, disfunción motora de vigilia, y/o insomnio de rebote. Los animales de prueba se supervisan continuamente mediante electroencefalogramas (EEG), electromiogramas (EMG), y movimiento para medir el sueño no MOR acumulativo, sueño total acumulativo, duración de episodios de sueño promedio, duración de episodios de sueño más larga, insomnio de rebote, inhibición de sueño MOR e intensidad de la actividad locomotora durante la vigilia. Los procedimientos para tales estudios son conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, los procedimientos descritos en Edgar DM, Seidel WF. Modafinil induces wakefulness without intensifying motor activity or subsequent rebound hypersomnolence in the rat. J Pharmacology & Experimental Therapeutics 1997; 283: 757-769; van Gelder RN, Edgar DM, Dement WC. Real-time automated sleep scoring: validation of a microcomputer-based system for mice. Sleep 1991, 14: 48-55; and Gross BA, Walsh CM, Turakhia AA, Booth V, Mashour GA, Poe GR. Open-source logic-based automated sleep scoring software using electrophysiological recordings in rats. J Neurosci Methods. 2009; 184(1):10-8.) Los estudios se realizan como sigue:

Preparación de los animales. Las ratas Wistar macho adultas (aproximadamente 270-300 g en el momento de la cirugía) se equipan quirúrgicamente para el registro crónico de EEG, EMG, y movimiento según sigue: Las ratas están quirúrgicamente preparadas con un implante craneal que consiste en cuatro tornillos de acero inoxidable para el registro de EEG (dos frontales [3,9 mm anterior del bregma, y 62,0 mm mediolateralmente] y dos occipitales [6,4 mm posterior del bregma, 65,5 mm mediolateralmente]), y con dos hilos metálicos de acero inoxidable revestidos de teflón para el registro de EMG (situados debajo de los músculos trapecios de la nuca). Todos los conductores se sueldan a un conector en miniatura (Microtech, Boothwyn, PA) antes de la cirugía. El conjunto de implante se fija al cráneo mediante la combinación de los tonillos de registro de EEG de acero inoxidable, cianoacrilato aplicado entre el conector del implante y cráneo, y acrílico dental. La actividad locomotora se supervisa a través de un transmisor en miniatura (Minimitter PDT4000G, Philips Respironics, Bend, OR) colocado quirúrgicamente en el abdomen. Se permiten al menos 3 semanas para la recuperación.

Entorno de registro. Cada rata se aloja individualmente dentro de una jaula microaislante modificada con una tapa con filtro superior de policarbonato insertada para permitir más espacio vertical para la cabeza. Un cable flexible que restringe mínimamente el movimiento se conecta en un extremo a un conmutador fijado a la parte superior de la jaula y en el otro extremo al implante craneal del animal. Cada jaula está localizada dentro de compartimentos ventilados separados de una cámara de acero inoxidable para el registro del sueño-vigilia. El alimento y agua son de acceso libre y la temperatura ambiente se mantiene aproximadamente en 23±1 °C. Se mantiene un ciclo de luz-oscuridad de 24 h (LO 12:12) usando luz fluorescente a lo largo del estudio. La humedad relativa oscila en promedio en aproximadamente el 50 %. Los animales no se perturban durante al menos 30 h antes y después de cada tratamiento.

Diseño y dosificación del estudio. El vehículo (placebo, metilcelulosa, 15 centipoise, 0,25 % en agua) o uno de los niveles de dosis del compuesto de prueba se administra oralmente a 1 ml/kg pseudoaleatoriamente de tal modo que ninguna rata recibe el mismo tratamiento dos veces, y ninguna rata recibe más de dos de los 8 tratamientos en ninguno cualquiera de los estudios. Cada rata se retira de su jaula durante aproximadamente un minuto para pesarla y tratarla. Al menos un periodo de "reposo farmacológico" de 6 días precede y sigue a cada tratamiento. *Recopilación de datos.* Se puede automatizar la discriminación de sueño y vigilia (por ejemplo, Van Gelder et ál. 1991 (anteriormente); Edgar et al. 1997 (anteriormente); Winrow CJ, et al., Neuropharmacology 2010; 58(1):185-94.; and Gross et al., 2009 (anteriormente). El EEG se amplifica y filtra (X10,000, paso de banda de 1-30 Hz), el EMG se amplifica e integra (paso

de banda de 10-100 Hz, integración RMS), y no se supervisa actividad locomotora (ALM) específica simultáneamente. Los estados de alerta se clasifican en épocas de 10 segundos como sueño no MOR, sueño MOR, vigilia, o vigilia dominada por zeta. Se registra la actividad locomotora (ALM) como recuentos por minuto y se detecta mediante receptores de telemetría disponibles comercialmente (ER4000, Minimitter, Bend, OR).

Análisis estadístico. Se incluyen en los resultados del resumen todos los animales que tienen al menos una respuesta (por ejemplo, se incluyen datos apropiados de un tratamiento animal para el que se pueden usar datos de telemetría, pero no datos de EEG). El periodo de observación de postratamiento se divide en intervalos de postdosificación apropiados a cada respuesta, donde el tiempo de dosificación se define como el comienzo de hora=0, y las respuestas se resumen en el periodo de observación, bien computerizando la media por horas o el valor acumulativo a lo largo de cada periodo (véase la leyenda de la tabla 1 para una definición precisa de cada respuesta). Se analizan los episodios de sueño en la escala logarítmica para estabilizar la variación, todas las demás variables se analizan en una escala lineal. Se analiza cada respuesta en cada periodo mediante análisis de covarianza usando el grupo de tratamiento y fecha de tratamiento como factores y el intervalo de pretratamiento correspondiente, 24 h antes, como covariable . Se resumen para cada grupo de tratamiento las medias ajustadas y el cambio de medias de vehículo y sus correspondientes errores estándar. Las respuestas analizadas en la escala logarítmica se reconvierten para evidenciar medias geométricas y resultados de relación-vehículo medios.

Los compuestos de los ejemplos 13-28 se someten a prueba esencialmente como se describe. Se encuentra que los compuestos de los ejemplos 13, 15, 16, 18 y 19 incrementan significativamente el tiempo de sueño nMOR acumulativo y el tiempo de sueño total acumulativo sin insomnio de rebote, inhibición de sueño MOR o inhibición de la intensidad locomotora (ILM) significativos a 3 mg/kg. El compuesto del ejemplo 13 se somete a prueba esencialmente como se describe y se encuentra que tiene un perfil de sueño e intensidad de actividad locomotora como se muestran en la tabla 2.

Tabla 2. Compuesto del ejemplo 13

	Variables de eficacia-sueño nMOR acumulativo			Variables de efecto no deseado-insomnio de rebote		
Dosis (mg/kg de PO)	N	Media ajus.	EE	N	Media ajus.	LCI
10	10	51,8	6,5	10	3,1	-6,1
3	14	39,5	5,5	14	-7,8	-15,8
1	14	28,0	5,5	14	-9,7	-17,7
0,50	15	22,2	5,3	15	-7,2	-15,1
0,25	15	15,2	5,4	15	-1,9	-9,7
0,10	5	5,9	8,1	5	-5,4	-17,2
0,03	9	5,1	6,4	9	-0,7	-10,1

	Sueño total acumulativo			Inhibición MOR		
Dosis (mg/kg de PO)	N	Media Ajus.	EE	N	Media ajus.	LCI
10	10	52,8	7,3	10	2,9	-4,6
3	14	42,3	6,2	14	7,0	0,7
1	14	30,6	6,1	14	2,6	-3,7
0,50	15	25,1	6,0	15	5,8	-0,5
0,25	15	17,7	6,1	15	4,7	-1,7
0,10	5	5,9	9,0	5	1,0	-8,0
0,03	9	7,3	7,2	9	1,8	-5,8

	Episodio de sueño promedio			Intensidad de actividad locomotora		
Dosis (mg/kg de PO)	N	Media ajus.	EE	N	Media ajus.	LCI
10	10	2,3	0,3	10	-0,11	-3,09
3	14	1,8	0,2	13	-1,49	-4,19
1	14	1,6	0,2	10	-2,94	-5,87
0,50	15	1,4	0,1	14	-0,14	-2,75
0,25	15	1,2	0,1	12	-0,58	-3,30
0,10	5	1,1	0,2	5	-0,35	-4,29
0,03	9	1,1	0,1	9	-0,97	-4,07

Episodio de sueño más largo			
Dosis (mg/kg de PO)	N	Media ajus.	EE
10	10	3,1	0,4
3	14	2,7	0,3
1	14	2,5	0,3
0,50	15	1,8	0,2
0,25	15	1,7	0,2
0,10	5	1,7	0,3
0,03	9	1,3	0,2

Tabla 2. Estadística de las respuestas: Abreviaturas: N=tamaño de muestra; Media ajus.=valor medio ajustado de grupo relativo a controles de vehículo; EE=error estándar de la media; LCI=límite de confianza inferior del 95 %, nMOR=no MOR, es decir, todo el sueño distinto al sueño MOR. Definiciones y unidades: las medias son diferencias ajustadas de controles de vehículo:

Sueño acumulativo: a lo largo de las primeras 6 horas de postratamiento, en minutos ('sueño total' denota sueño nMOR + sueño MOR).

Episodio de sueño promedio: promedio de episodios de sueño promedio por hora, a lo largo de las primeras 6 horas de postratamiento, expresado como el incremento de n veces frente a los controles de vehículo.

Episodio de sueño más largo: el episodio de sueño más largo en las primeras 6 horas de postratamiento, expresado como el incremento de n veces frente a los controles de vehículo.

Insomnio de rebote: minutos acumulativos de sueño nMOR+MOR durante las primeras 3 horas de luz en un periodo, es decir, las 7.º, 8.º y 9.º horas de postratamiento.

Inhibición MOR: minutos acumulativos de sueño MOR durante las primeras 12 horas de postratamiento.

Intesidad de actividad locomotora (ALM): expresada como recuentos de ALM por minuto de vigilia definida por EEG, en promedio a lo largo de las primeras 6 horas de postratamiento.

Determinación de la eficacia. La eficacia umbral para cada una de las cuatro variables de eficacia se calcula representando el incremento en cada variable relativo a los controles de vehículo durante el periodo de 6 horas después del tratamiento frente a log(dosis). La eficacia umbral para cada variable es la dosis que da el valor umbral de eficacia definida para cada variable; +30 min de sueño no MOR acumulado adicional, +25 min sueño total acumulado adicional, 1,75 de incremento en la duración de episodios de sueño promedio, y 1,5 de incremento en la duración de episodios de sueño más larga. Se encuentra que el compuesto del ejemplo 13 tiene dosis umbrales eficaces como se muestra en la tabla 3.

Tabla 3	Dosis eficaz estimada (mg/kg)	95 % de intervalo de confianza (mg/kg)
Acumulación nMOR=30 min	1,2	0,89-1,6
Acumulación de sueño total=25 min	0,58	0,40-0,86
Episodio de sueño más largo (incremento de 1,75 veces)	0,21	0,098-0,44
Episodio de sueño promedio (incremento de 1,5 veces)	0,77	0,44-1,4

Determinación de los efectos no deseados. Cada variable de respuesta de 'efecto no deseado' (véase la leyenda de la tabla para las definiciones), se representa frente a log(dosis).

El valor umbral para inhibición MOR se define como la reducción acumulativa de sueño MOR de -10 min. El valor umbral para el insomnio de rebote se define como -20 min. El valor umbral para la ILM reducida se define como -5 recuentos de actividad locomotora por minuto de vigilia definida por EEG . Se define un efecto no deseado significativo que aparece cuando el límite de confianza inferior está por debajo del valor umbral para todas las dosis en o por encima de las dosis eficaces promedio. Para los compuestos ejemplificados, no se observan apariciones no desadas

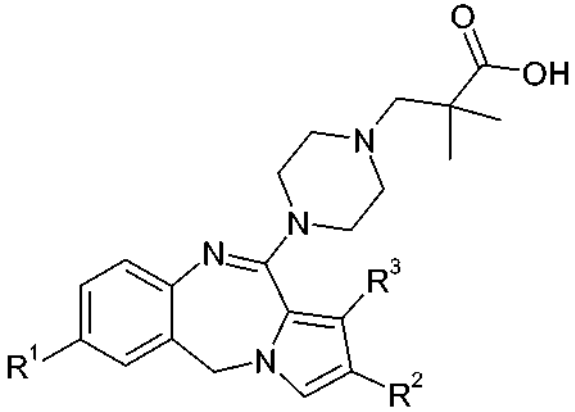
de inhibición MOR, insomnio de rebote, o reducción en la ILM en dosis hasta al menos de 10 mg/Kg. (Un valor negativo indica inhibición MOR, insomnio de rebote y ILM reducida, respectivamente). Aunque es posible administrar compuestos empleados en los procedimientos de la presente invención directamente sin ninguna formulación, los compuestos se administran normalmente en forma de composiciones farmacéuticas que comprenden al menos un compuesto de Fórmula I, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, como un ingrediente activo y al menos un vehículo, diluyente y/o excipiente farmacéuticamente aceptable. Estas composiciones se pueden administrar por una diversidad de vías incluyendo oral, sublingual, nasal, subcutánea, intravenosa e intramuscular. Tales composiciones farmacéuticas y procedimientos para prepararlas son bien conocidos en la técnica. Véase, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy (University of the Sciences in Philadelphia, ed., 21.º ed., Lippincott Williams & Wilkins Co., 2005).

Las composiciones están formuladas preferentemente en una forma de dosificación unitaria, conteniendo cada dosificación desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 60 mg, más normalmente aproximadamente 1 hasta aproximadamente 30 mg, como, por ejemplo, entre aproximadamente 2 y aproximadamente 10 mg del ingrediente activo. El término "forma de dosificación unitaria" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y para otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con al menos un vehículo, diluyente y/o excipiente adecuado farmacéuticamente aceptable.

En general, los compuestos de Fórmula I son eficaces en un intervalo de dosificación amplio. Por ejemplo, las dosificaciones por día caen dentro del intervalo de aproximadamente 0,002 hasta aproximadamente 1,0 mg/kg, más normalmente desde aproximadamente 0,015 hasta 0,5 mg/kg y, como, por ejemplo, entre 0,03 y 0,15 mg/kg de peso corporal. En algunas ocasiones, los niveles de dosificación por debajo del límite inferior del intervalo mencionado con anterioridad pueden ser más que adecuados, mientras que en otros casos incluso se pueden emplear dosis más grandes sin causar efecto secundario dañino alguno y, por lo tanto, los intervalos de dosificación anteriores no están destinados a limitar el alcance de la invención en modo alguno. Se entenderá que la cantidad del compuesto administrada realmente será determinada por un médico, en vista de las circunstancias pertinentes, incluyendo la afección que se va a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto o compuestos reales administrados, la edad, el peso y la respuesta del paciente individual, y la gravedad de los síntomas del paciente.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de la fórmula



en la que R^1 es cloro o metilo;

R^2 es metilo, etilo, isopropilo, cloro, bromo, trifluorometilo, o metiltio; y

R^3 es hidrógeno o metoxi;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que R^3 es hidrógeno, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

3. Un compuesto de acuerdo con bien la reivindicación 1 o la reivindicación 2 , en el que R^1 es cloro, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

4. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es ácido 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, que es diclorhidrato del ácido 3-[4-(7-cloro-2-metil-5*H*-pirrolo[2,1-c][1,4]benzodiazepin-11-il)piperazin-1-il]-2,2-dimetilpropanoico.

6. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con al menos un vehículo, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en terapia.

8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento del insomnio.

9. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, para su uso en el tratamiento del insomnio, donde el insomnio está **caracterizado por** dificultades en el inicio del sueño o mantenimiento del sueño o ambos.

10. Un compuesto para su uso de acuerdo con bien la reivindicación 8 o 9 en un ser humano.

11. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en combinación con al menos un vehículo, excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable, y un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina.