

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 569 677**

51 Int. Cl.:

C07D 217/24 (2006.01)
C07D 405/14 (2006.01)
A61K 31/472 (2006.01)
A61K 31/4725 (2006.01)
A61P 29/00 (2006.01)
C07D 453/02 (2006.01)
C07D 413/04 (2006.01)
C07D 401/04 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.03.2007 E 07753335 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.03.2016 EP 2001474**

54 Título: **Compuestos bicicloheteroarilo como moduladores de P2X₇ y usos de los mismos**

30 Prioridad:

16.03.2006 US 783590 P
16.03.2006 US 783748 P
16.03.2006 US 783121 P
16.03.2006 US 782923 P
17.07.2006 US 831416 P
25.09.2006 US 846993 P
15.03.2007 US 918261 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
12.05.2016

73 Titular/es:

SECOND GENOME, INC. (100.0%)
341 Allerton Avenue
South San Francisco, CA 94080, US

72 Inventor/es:

KELLY, MICHAEL G.;
KINCAID, JOHN;
FANG, YUNFENG;
CAO, YEYU;
KAUB, CARL;
GOWLUGARI, SUMITHRA y
WANG, ZHAN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 569 677 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).

DESCRIPCION

Compuestos bicicloheteroarilo como moduladores de P2X₇ y usos de los mismos

Campo de la invención

La presente invención se refiere a nuevos compuestos de la clase bicicloheteroarilo que son capaces de modulación de la actividad del receptor P2X₇, y a composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos. La presente invención se refiere igualmente a procedimientos para la prevención y/o tratamiento de afecciones que están causalmente relacionadas con la actividad de P2X₇ aberrante, tal como afecciones relacionadas con inflamaciones en mamíferos, que comprenden (pero sin limitarse a ellas) artritis reumatoide, osteoartritis, enfermedad de Parkinson, uveítis, asma, afecciones cardiovasculares que incluyen infarto de miocardio, el tratamiento y profilaxis de síndromes de dolor (agudo y crónico o neuropático), lesión cerebral traumática, lesión aguda de la médula espinal, trastornos neurodegenerativos, enfermedad inflamatoria del intestino y trastornos autoinmunes, usando los compuestos y composiciones farmacéuticas de la invención.

Antecedentes de la invención

Los receptores de superficie de células para ATP pueden dividirse en las clases metabotrópica (P2Y/P2U) e ionotrópica (P2X). La clase metabotrópica pertenece a la superfamilia de receptores acoplados a la proteína G, con siete segmentos transmembrana. Los miembros de la clase ionotrópica (P2X₁- P2X₆) son canales de iones activados por ligando, de los cuales generalmente se piensa que son proteínas multisubunidad con dos dominios transmembrana por subunidad (Buell y otros, *Europ. J. Neurosci.*, vol. 8, pág. 2221, (1996)), Los receptores P2Z se han distinguido de otros receptores de P2 en tres caminos primarios (Buisman y otros, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, vol. 85, pág. 7988, (1988); Cockcroft y otros, *Nature*, vol. 279, pág. 541, (1979); Steinberg y otros, *J. Biol. Chem.*, vol. 263, pág. 3118, (1987). En primer lugar, la activación de los receptores P2Z conducen no solamente a una corriente iónica entrante, sino también a la permeabilización de la célula. En segundo lugar, el 3'-O-(4-benzoil)benzoil ATP (BZATP) es el agonista más eficaz, y el propio ATP es de potencia más bien baja. En tercer lugar, las respuestas están fuertemente inhibidas por iones magnesio extracelulares, lo cual ha sido interpretado como indicación de que el ATP⁴⁻ es el agonista activo (DiVirgilio, *Inmunol. Today*, vol. 16, pág. 524, (1995)).

A partir de una biblioteca de ADNc de rata, se ha aislado un séptimo miembro de la familia de receptores P2X y, cuando se ha expresado en células de riñón embrionario humano (HEK293), muestra las tres propiedades anteriores (Surprenant y otros, *Science*, vol. 272, pág. 735, (1996)). De acuerdo con ello, este receptor (rP2X₇) corresponde al receptor P2Z. El rP2X₇ está estructuralmente relacionado con los otros miembros de la familia P2X, pero tiene un dominio C-terminal citoplásmico más largo (tiene 35-40% de identidad aminoácida en la región correspondiente de homología, pero la C-terminal es 239 aminoácidos de longitud en el receptor rP2X₇ en comparación con los 27-20 aminoácidos en los otros). El receptor rP2X₇ funciona tanto como un canal permeable a pequeños cationes y como un poro citolítico. En resumen, las aplicaciones del ATP (1-2s) abren de manera transitoria el canal, tal como es el caso de otros receptores P2X. Las aplicaciones repetidas o prolongadas de agonista dan lugar a la permeabilización de la célula, reduciendo la concentración de magnesio extracelular que potencia este efecto. Para la permeabilización de la célula y las acciones líticas de ATP (Surprenant y otros, *Science*, vol. 272, pág. 735, (1996)), se requiere el dominio C-terminal único de rP2X₇.

Al receptor P2Z/rP2X₇ se le ha implicado en la lisis de células que presentan antígeno mediante linfocitos T citotóxicos, en la estimulación mitogénica de linfocitos T humanos, así como en la formación de células gigantes multinucleadas (Blanchard y otros, *Blood*, vol. 85, pág. 3173, (1995); Falzoni y otros, *J. Clin. Invest.*, vol. 95, pág. 1207, (1995); Baricordi y otros, *Blood*, vol. 87, pág. 682, (1996)). Entre roedores y seres humanos existen ciertas diferencias funcionales (Hickman y otros, *Blood*, vol. 84, pág. 2452, (1994)). El receptor P2X₇ (P2X₇) macrófago humano ha sido clonado ahora y se han determinado sus propiedades funcionales (Rassendren y otros, *J. Biol. Chem.*, vol. 272, pág. 5482, (1997). Cuando se comparó con el receptor P2X₇ de rata, las corrientes selectivas de los cationes causadas en el receptor P2X₇ humano requirieron concentraciones más altas de agonistas, estuvieron más potenciadas por la separación de iones de magnesio extracelulares, y corrigieron más rápidamente la separación del agonista. La expresión de moléculas quiméricas indicó que alguna de las diferencias entre los receptores P2X₇ de rata y de seres humanos podrían ser corregidas mediante el intercambio de los dominios C-terminales respectivos de las proteínas receptoras.

Se ha informado que ciertos compuestos actúan como antagonistas P2X₇. Por ejemplo, las Patentes WO 99/29660 y WO 99/29661 divulgan que ciertos derivados adamantano muestran actividad antagonista P2X₇ que tiene eficacia terapéutica en el tratamiento de artritis reumatoide y psoriasis. De manera similar, la Patente WO 99/29686 divulga que ciertos derivados heterocíclicos son antagonistas del receptor P2X₇ y son útiles como agentes inmunosupresores y en el tratamiento de artritis reumatoide, asma, choque séptico y aterosclerosis. Finalmente, la Patente WO 00/71529 divulga ciertos compuestos fenil substituidos que muestran actividad inmunosupresora. Todas las referencias descritas en la presente invención se incorporan en ella como referencia en su totalidad.

En consecuencia, existe una necesidad de agentes terapéuticos, y las correspondientes composiciones farmacéuticas y procedimientos de tratamiento relacionados, que se enfrenten a las afecciones causalmente relacionadas con

la actividad del P2X₇ aberrante y, es hacia el cumplimiento y satisfacción de dicha necesidad, a la que se dirige la presente invención.

Sumario de la invención

5 Los derivados bicicloarilo de fórmulas I-XIj, y sus composiciones farmacéuticas, se divulgan como agentes terapéuticos útiles en el tratamiento de afecciones en mamíferos asociadas con actividad anormal o aberrante del receptor P2X₇, que incluyen afecciones mediadas por inflamación tal como (pero sin limitarse a ellas) artritis, infarto de miocardio, el tratamiento y profilaxis de síndromes de dolor (agudo y crónico [neuropático]), lesión cerebral traumática, lesión aguda de la médula espinal, trastornos neurodegenerativos, enfermedad del intestino inflamatorio y disfunciones inmunes tal como trastornos autoinmunes,

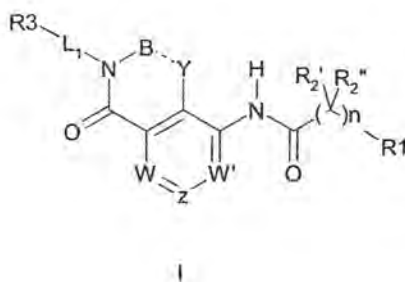
10 Se ha encontrado ahora, que los compuestos bicicloheteroarilo presentes son capaces de mediar en la actividad del receptor P2X₇. Este hallazgo conduce a nuevos compuestos que tienen valor terapéutico. Igualmente, conduce a composiciones farmacéuticas que tienen los compuestos de la presente invención como ingredientes activos y a su uso para tratar, prevenir o mejorar una diversidad de afecciones en los mamíferos, tales como, pero no limitados a ellas, la inflamación de diversas génesis o etilologías, por ejemplo artritis reumatoide, enfermedad cardiovascular, enfermedad del intestino inflamatorio, inflamación aguda, crónica y dolor neuropático, dolor dental y dolor de cabeza (tal como migraña, dolor de cabeza localizado y dolor de cabeza por tensión) y otras afecciones causalmente relacionadas con inflamación o disfunción inmune.

15 Los compuestos de la presente invención pueden ser igualmente útiles para el tratamiento de dolor inflamatorio e hiperalgesia y alodinia asociada. Igualmente, son útiles para el tratamiento de dolor neuropático e hiperalgesia y alodinia asociada (por ejemplo, neuralgia trigeminal o herpética, neuropatía diabética, causalgia, dolor mantenido simpáticamente y síndromes de desaferentación tal como avulsión del plexo braquial). Los compuestos de la presente invención son igualmente útiles como agentes antiinflamatorios para el tratamiento de artritis, y como agentes para tratar la enfermedad de Parkinson, uveítis, asma, infarto de miocardio, lesión cerebral traumática, lesión de la médula espinal, trastornos neurodegenerativos, enfermedad del intestino inflamatorio y trastornos autoinmunes, 25 trastornos renales, obesidad, trastornos de la alimentación, cáncer, esquizofrenia, epilepsia, trastornos del sueño, cognición, depresión, ansiedad, presión sanguínea, trastornos lípidos, y aterosclerosis.

30 En un aspecto, la presente invención proporciona compuestos bicicloheteroarilo que son capaces de modular la actividad del receptor P2X₇, *in vivo*. En un aspecto adicional, los compuestos de la presente invención son capaces de antagonizar (suprimir o inhibir) la actividad del receptor P2X₇, y, en consecuencia, tratar aquellas afecciones representativas, algunas de las cuales están causalmente relacionadas con la actividad P2X₇ aberrante.

Los compuestos de la presente invención pueden mostrar baja toxicidad, buena absorción, buena vida media, buena solubilidad, baja afinidad de unión a proteínas, baja interacción fármaco-fármaco, baja actividad inhibitoria al canal HERG, baja prolongación QT y buena estabilidad metabólica.

35 De acuerdo con ello, en un primer aspecto, se divulgan compuestos bicicloheteroarilo que son capaces de modulación de la actividad del receptor P2X₇ *in vivo*, que tienen una fórmula (I):



en la que

B e Y están independientemente seleccionados entre CR^{2a} y CR^{2a}R^{2b};

W y Z están seleccionados entre CH; W' es CR⁴;

40 L¹ es alquileo de C₁-C₅ sustituido o no sustituido;

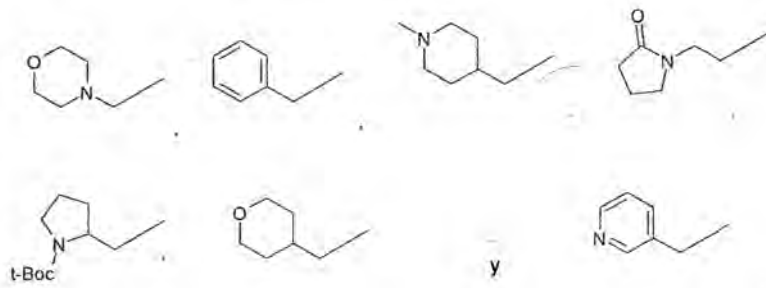
n es 1 ó 2;

R¹ está seleccionado entre un anillo arilo sustituido o no sustituido o heteroarilo sustituido o no sustituido;

cada uno de R^{2a}, R^{2b}, R^{2'} y R^{2''} está independientemente seleccionado entre hidrógeno, halo, y alquilo de C₁-C₆ sustituido o no sustituido; o cualquiera de R^{2'} y R^{2''} se unen conjuntamente para formar un anillo cicloalquilo o cicloheteroalquilo de 3-7 átomos;

5 R³ es hidrógeno o un grupo funcional seleccionado entre alquilo, dialquilamino, aciloxi, alcoxi, y -SO₂-alquilo; o

el grupo -L₁-R³ está seleccionado entre



10 R⁴ está independientemente seleccionado entre H, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido, acilamino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, alquiltio sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, alcoxycarbonilo sustituido, alquilarilamino sustituido o no sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, amino, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, sulfóxido sustituido o no sustituido, sulfona sustituida o no sustituida, sulfanilo sustituido o no sustituido, aminosulfonilo sustituido o no sustituido, arilsulfonilo sustituido o no sustituido, ácido sulfúrico, éster del ácido sulfúrico, dihidroxifosforilo sustituido o no sustituido, aminodihidroxifosforilo sustituido o no sustituido, azido, carboxi, carbamoilo sustituido o no sustituido, ciano, cicloalquilo sustituido o no sustituido, cicloheteroalquilo sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, halo, heteroariloxi, heteroarilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, hidroxilo, nitro, y tío;

y el enlace de puntos es un enlace sencillo o doble;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;

20 y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, n es 1.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, L¹ es un grupo alquileo de C₁-C₅ no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados entre alquilo, oxo, arilo, hidroxilo, o hidroxialquilo.

25 En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, B e Y están independientemente seleccionados entre CR^{2a} y CR^{2a}R^{2b}.

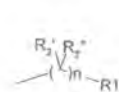
En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, B e Y están independientemente seleccionados entre CR^{2a}R^{2b} y el enlace de puntos es un enlace sencillo.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, B e Y todos ellos pueden representar CH₂ y el enlace de puntos es un enlace sencillo.

30 En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, B e Y están independientemente seleccionados entre CR^{2a} y el enlace de puntos es un enlace doble.

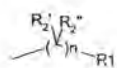
En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, B e Y todos ellos pueden representar CH y el enlace de puntos es un enlace doble.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmula I, cada R^{2'} y R^{2''} del grupo



35 es H o Me. En una realización particular, cada R^{2'} y R^{2''} es H.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, una de R^{2'} y R^{2''} del grupo



puede estar seleccionado entre Me, Et, halo y Cl, y el otro es H.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, R^1 es arilo sustituido o no sustituido. En una realización particular, R^1 es fenilo sustituido o no sustituido.

5 En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, cada uno de W, Z y W' es CH.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, cada uno de W y Z es CH, W' es CR^5 y R^5 es H, alquilo, cicloalquilo o halo. En una realización, R^5 es halo o alquilo. En una realización particular, R^5 es H o halo. En una realización particular adicional aún, R^5 es H, Cl, F, Me o ciclopropilo.

10 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto bicicloheteroarilo de la invención, y un vehículo, excipiente o diluyente farmacéutico. En este aspecto de la invención, la composición farmacéutica puede comprender uno o más de los compuestos descritos en la presente invención. Más aún, los compuestos de la presente invención útiles en las composiciones farmacéuticas y procedimientos de tratamiento divulgados en la presente invención, son todos ellos farmacéuticamente aceptables tal como se preparan y usan.

15 En un aspecto adicional de la invención, esta invención proporciona compuestos descritos en la presente invención para su uso en un procedimiento de tratamiento de un mamífero susceptible a o afligido por un estado entre los listados en la presente invención, y particularmente, un estado tal que pueda estar asociado con, por ejemplo, inflamación, tal como artritis reumatoide, osteoartritis, uveítis, asma, infarto de miocardio, lesión cerebral traumática, coque séptico, aterosclerosis, enfermedad obstructiva pulmonar crónica (COPD), lesión aguda de la médula espinal, enfermedad del intestino inflamatorio y disfunción inmune, incluyendo trastornos autoinmunes, cuyo procedimiento comprende la administración de una cantidad eficaz de una o más de las composiciones farmacéuticas justamente descritas.

25 En otro aspecto aún de procedimiento de tratamiento, esta invención proporciona compuestos descritos en la presente invención para su uso en un procedimiento de tratamiento de un mamífero susceptible a o afligido por un estado que está causalmente relacionado con la actividad del receptor $P2X_7$ aberrante, y que, por ejemplo, da lugar a la aparición de respuestas de dolor o que están relacionadas con desequilibrios en el mantenimiento de la actividad basal de nervios sensoriales. Los compuestos amina de la invención tienen uso como analgésicos para el tratamiento del dolor de diversas génesis o etiologías, por ejemplo dolor inflamatorio, agudo (tal como dolor asociado con osteoartritis y artritis reumatoide); diversos síndromes de dolor neuropático (tal como neuralgia post-herpética, neuralgia trigeminal, distrofia simpática réflex, neuropatía diabética, síndrome de Guillian Barre, fibromialgia, dolor del miembro fantasma, dolor post-masectomía, neuropatía periférica, neuropatía de VIH, y neuropatías inducidas por quimioterapia y otras neuropatías iatrogénicas); dolor visceral (tal como el asociado con la enfermedad réflex gastrointestinal, síndrome de intestino irritable, enfermedad de intestino inflamatorio, pancreatitis, y diversos trastornos ginecológicos y urológicos), dolor dental y dolor de cabeza (tal como migraña, dolor de cabeza localizado y dolor de cabeza por tensión).

35 En aspectos adicionales de procedimiento de tratamiento, esta invención proporciona compuestos descritos en la presente invención para su uso en procedimientos de tratamiento de un mamífero susceptible a o afligido por afecciones que están causalmente relacionadas con la actividad anormal del receptor $P2X_7$, tal como enfermedades neurodegenerativas incluyendo, por ejemplo, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple; enfermedades y trastornos que están mediados por o resultan de la neuroinflamación tal como, por ejemplo, lesión cerebral traumática y encefalitis; enfermedades y trastornos neuropsiquiátricos mediados centralmente tal como, por ejemplo, manía depresiva, enfermedad bipolar, ansiedad, esquizofrenia, trastornos de alimentación, trastornos del sueño y trastornos de cognición; epilepsia y trastornos de crisis; próstata, disfunción de vejiga e intestino tal como, por ejemplo, incontinencia urinaria, indecisión urinaria, hipersensibilidad rectal, incontinencia fecal, hipertrofia prostática benigna y enfermedad de intestino inflamatorio; enfermedad y trastornos respiratorios y vías respiratorias tal como, por ejemplo, rinitis alérgica, asma y enfermedad de las vías respiratorias reactiva y enfermedad pulmonar obstructiva crónica; enfermedades y trastornos que están mediados por o resultan de inflamación, tal como, por ejemplo, artritis reumatoide, y osteoartritis, infarto de miocardio, diversas enfermedades y trastornos autoinmunes uveítis y aterosclerosis; picazón/prurito tal como, por ejemplo, psoriasis, obesidad; trastornos de lípidos; cáncer; presión sanguínea; lesión de médula espinal; y trastornos cardiovascular y renal, comprendiendo el procedimiento la administración de una cantidad eficaz para el tratamiento del estado o prevención del estado de una o más de las composiciones farmacéuticas justamente descritas.

50 En aspectos adicionales, la presente invención proporciona procedimientos para la síntesis de los compuestos de la invención, con protocolos y vías de síntesis representativas divulgadas más adelante en la presente invención.

De acuerdo con ello, es un objeto principal de la presente invención el proporcionar una nueva serie de compuestos, los cuales pueden modificar la actividad del receptor P2X₇ y, de esta forma, asegurar o tratar cualquier enfermedad que pueda estar causalmente relacionada con él.

5 Es además un objeto de la presente invención el proporcionar una serie de compuestos que pueden tratar o aliviar enfermedades o síntomas del mismo, tal como dolor e inflamación, que pueda estar causalmente relacionado con la activación del receptor P2X₇.

10 Un objeto adicional aún de la presente invención es proporcionar composiciones farmacéuticas que sean eficaces en el tratamiento o prevención de una diversidad de estados de enfermedades, incluyendo las enfermedades asociadas con el sistema nervioso central, afecciones cardiovasculares, enfermedad obstructiva pulmonar crónica (EPOC), enfermedad del intestino inflamatorio, artritis reumatoide, osteoartritis, y otras enfermedades en las que esté presente un componente inflamatorio.

Otros objetos y ventajas resultarán evidentes para los expertos en la técnica a partir de la consideración de la descripción detallada que sigue a continuación.

Descripción detallada de la invención

15 Definiciones

20 Cuando se describen los compuestos, composiciones farmacéuticas que contienen dichos compuestos y procedimientos que usan dichos compuestos y composiciones, los términos siguientes tienen los significados siguientes, salvo que se indique lo contrario. Igualmente, debería darse por entendido que cualquiera de los restos definidos más adelante puede ser substituido por una diversidad de substituyentes, y que las respectivas definiciones están destinadas a incluir dichos restos substituidos dentro de su alcance. A modo de ejemplo no limitativo, dichos substituyentes pueden incluir, por ejemplo, halo (tal como fluoro, cloro, bromo), -CN, -CF₃, -OH, -OCF₃, alquenilo de C₂-C₆, alquinilo de C₃-C₆, alcoxi de C₁-C₆, arilo y di-alquilamino de C₁-C₆. Además, debe darse por entendido que los términos "grupos" y "radicales" pueden considerarse intercambiables cuando se usan en la presente invención.

25 "Acilo" se refiere a un radical -C(O)R²⁰, en el que R²⁰ es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo tal como se definen en la presente invención. Los ejemplos representativos incluyen, pero sin limitarse a ellos, formilo, acetilo, ciclohexilcarbonilo, ciclohexilmetilcarbonilo, benzoilo, bencilcarbonilo y similares.

30 "Acilamino" se refiere a un radical -NR²¹C(O)R²², en el que R²¹ es hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo, heteroarilalquilo y R²² es hidrógeno, alquilo, alcoxi, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilalquilo, heteroalquilo, heteroarilo o heteroarilalquilo, tal como se definen en la presente invención. Los ejemplos representativos incluyen, pero sin limitarse a ellos, formilamino, acetilamino, ciclohexilcarbonilamino, ciclohexilmetilcarbonilamino, benzoilamino, bencilcarbonilamino y similares.

"Aciloxi" se refiere al grupo -OC(O)R²⁰, en el que R²⁰ es hidrógeno, alquilo, arilo o cicloalquilo.

35 "Alquenilo substituido" incluye aquellos grupos mencionados en la definición de "substituido" en la presente invención, y particularmente se refiere a un grupo alquenilo que tiene 1 o más substituyentes, por ejemplo, desde 1 hasta 5 substituyentes, y particularmente desde 1 hasta 3 substituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi substituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino substituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo substituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi substituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂, y aril-S(O)₂-.

40 "Alcoxi" se refiere al grupo -OR²⁴, en el que R²⁴ es alquilo. Los grupos alcoxi particulares incluyen, a modo de ejemplo, metoxi, etoxi, n-propoxi, isopropoxi, n-butoxi, terc-butoxi, sec-butoxi, n-pentoxi, n-hexoxi, 1,2-dimetilbutoxi, y similares.

45 "Alcoxi substituido" incluye aquellos grupos mencionados en la definición de "substituido" en la presente invención, y particularmente se refiere a un grupo alcoxi que tiene 1 o más substituyentes, por ejemplo, desde 1 hasta 5 substituyentes, y particularmente desde 1 hasta 3 substituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi substituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino substituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo substituido, halógeno, heteroarilo, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi substituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂, y aril-S(O)₂-.

50 "Alcoxycarbonilamino" se refiere al grupo -NR²⁵C(O)R²⁶, en el que R²⁵ es hidrógeno, alquilo, arilo o cicloalquilo, y R²⁶ es alquilo o cicloalquilo,

"Alquilo" se refiere a grupos radicales alcano saturados monovalentes que tienen particularmente hasta aproximadamente 11 átomos de carbono, más particularmente como un alquilo inferior, desde 1 hasta 8 átomos de carbono y

aún más particularmente desde 1 hasta 6 átomos de carbono. La cadena de hidrocarburos puede ser de cadena recta o ramificada. Este término se ejemplifica mediante grupos tales como metilo, etilo, n-propilo, isopropilo, n-butilo, iso-butilo, terc-butilo, n-hexilo, n-octilo, y similares. El término "alquilo inferior" se refiere a grupos alquilo que tienen 1 a 6 átomos de carbono. El término "alquilo" incluye también "cicloalquilos", tal como se definen más adelante.

"Alquilo sustituido" incluye aquellos grupos mencionados en la definición de "sustituido" en la presente invención, y particularmente se refiere a un grupo alquilo que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo, desde 1 hasta 5 sustituyentes, y particularmente desde 1 hasta 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, heteroarilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂, y aril-S(O)₂-.

"Alquilenilo" se refiere a grupos radicales alqueno saturados divalentes que tienen 1 hasta 11 átomos de carbono, y más particularmente 1 hasta 6 átomos de carbono, los cuales pueden ser de cadena recta o ramificada. Este término se ejemplifica mediante grupos tales como metileno (-CH₂-), etileno (-CH₂CH₂-), los isómeros propileno (por ejemplo, -CH₂CH₂-CH₂- y CH(CH₃)CH₂-) y similares.

"Alquilenilo sustituido" incluye aquellos grupos mencionados en la definición de "sustituido" en la presente invención, y particularmente se refiere a un grupo alquilenilo que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo, desde 1 hasta 5 sustituyentes, y particularmente desde 1 hasta 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂, y aril-S(O)₂-.

"Alquenilo" se refiere a grupos hidrocarbilo olefínicamente insaturados monovalentes que preferiblemente tienen 2 hasta 11 átomos de carbono, particularmente, desde 2 hasta 8 átomos de carbono, y más particularmente, desde 2 hasta 6 átomos de carbono, los cuales pueden ser de cadena recta o ramificada y conteniendo al menos 1 y particularmente desde 1 hasta 3 sitios de insaturación olefínica. Los grupos alquenilo particulares incluyen etenilo (-CH=CH₂), n-propenilo (-CH₂CH=CH₂), isopropenilo (-C(CH₃)=CH₂), vinilo y vinilo sustituido y similares.

"Alquenileno" se refiere a grupos hidrocarbilo olefínicamente insaturados divalentes que tienen particularmente hasta aproximadamente 11 átomos de carbono y más particularmente 2 hasta 6 átomos de carbono, los cuales pueden ser de cadena recta o ramificada y conteniendo al menos 1 y particularmente desde 1 hasta 2 sitios de insaturación olefínica. Este término se ejemplifica mediante grupos tales como etenileno (-CH=CH-), los isómeros propenileno (por ejemplo, -CH=CHCH₂- y C(CH₃)=CH- y -CH=C(CH₃)-) y similares.

"Alquinilo" se refiere a grupos hidrocarbilo acetilénicamente o alquínicamente insaturados que particularmente tienen 2 hasta 11 átomos de carbono, y más particularmente 2 hasta 6 átomos de carbono, los cuales pueden ser de cadena recta o ramificada y conteniendo al menos 1 y particularmente desde 1 hasta 2 sitios de insaturación alquínica. Los ejemplos no limitativos particulares de grupos alquinilo incluyen acetilénico, etinilo (-CH≡CH), propargilo (-CH₂C≡CH), y similares.

"Alquinilo sustituido" incluye aquellos grupos mencionados en la definición de "sustituido" en la presente invención, y particularmente se refiere a un grupo alquinilo que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo, desde 1 hasta 5 sustituyentes, y particularmente desde 1 hasta 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂, y aril-S(O)₂-.

"Alcanoilo" o "acilo", tal como se usan en la presente invención, se refiere al grupo R²⁷-C(O)-, en el que R²⁷ es hidrógeno o alquilo tal como anteriormente se ha definido.

"Arilo" se refiere a un grupo hidrocarburo aromático monovalente obtenido de la separación de un átomo de hidrógeno a partir de un único átomo de carbono de un sistema de anillo aromático principal. Típicamente, los grupos arilo incluyen, pero sin limitarse a ellos, grupos obtenidos de aceantranileno, acenaftanileno, acefenantrileno, antraceno, azuleno, benceno, crisenno, coroneno, fluoranteno, fluoreno, hexaceno, hexafeno, hexaleno, as-indaceno, s-indaceno, indano, indeno, naftaleno, octaceno, octafeno, octaleno, ovaleno, penta-1,2-dieno, pentaceno, pentaleno, pentafeno, perileno, fenaleno, fenantreno, piceno, pleyadeno, pireno, pirantreno, rubiceno, trifenileno, trinaftaleno y similares. Particularmente, un grupo arilo comprende desde 6 hasta 14 átomos de carbono.

"Arilo sustituido" incluye aquellos grupos mencionados en la definición de "sustituido" en la presente invención, y particularmente se refiere a un grupo arilo que puede opcionalmente estar sustituido con 1 o más sustituyentes, por ejemplo, desde 1 hasta 5 sustituyentes, particularmente 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alquenilo, alquenilo sustituido, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxicarbonilo, alquilo, alquilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino,

aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂, y aril-S(O)₂-.

“Arilo fusionado” se refiere a un arilo que tiene dos de sus anillos de carbono en común con un segundo anillo arilo o con un anillo alifático.

5 “Alcarilo” se refiere a un grupo arilo, tal como se ha definido anteriormente, sustituido con uno o más grupos alquilo, tal como se ha definido anteriormente.

“Aralquilo” o “arilalquilo” se refieren a un grupo arilo, tal como se ha definido anteriormente, sustituido con uno o más grupos arilo, tal como se ha definido anteriormente.

“Ariloxi” se refiere a grupos -O-arilo, en los que “arilo” es tal como se ha definido anteriormente.

10 “Alquilamino” se refiere al grupo alquil-NR²⁸R²⁹, en el que cada R²⁸ y R²⁹ están independientemente seleccionados entre hidrógeno y alquilo.

“Arilamino” se refiere al grupo aril-NR³⁰R³¹, en el que cada R³⁰ y R³¹ están independientemente seleccionados entre hidrógeno, arilo y heteroarilo.

15 “Alcoxi-amino” se refiere a un radical -N(H)OR³², en el que R³² representa un grupo alquilo o cicloalquilo, tal como se define en la presente invención.

“Alcoxicarbonilo” se refiere a un radical -C(O)-alcoxi en el que alcoxi es tal como se define en la presente invención.

“Alquilarilamino” se refiere a un radical -NR³³R³⁴, en el que R³³ representa un grupo alquilo o cicloalquilo y R³⁴ es un arilo, tal como se definen en la presente invención.

20 “Alquilsulfonilo” se refiere a un radical -S(O)₂R³⁵, en el que R³⁵ es un grupo alquilo o cicloalquilo, tal como se definen en la presente invención. Los ejemplos representativos incluyen, pero sin limitarse a ellos, metilsulfonilo, etilsulfonilo, propilsulfonilo, butilsulfonilo y similares.

“Alquilsulfinito” se refiere a un radical -S(O)R³⁵, en el que R³⁵ es un grupo alquilo o cicloalquilo, tal como se definen en la presente invención. Los ejemplos representativos incluyen, pero sin limitarse a ellos, metilsulfinito, etilsulfinito, propilsulfinito, butilsulfinito y similares.

25 “Alquiltio” se refiere a un radical -SR³⁵, en el que R³⁵ es un grupo alquilo o cicloalquilo, tal como se definen en la presente invención, el cual puede estar opcionalmente sustituido tal como se define en la presente invención. Los ejemplos representativos incluyen, pero sin limitarse a ellos, metiltio, etiltio, propiltio, butiltio y similares.

“Amino” se refiere al radical -NH₂.

30 “Amino sustituido” incluye aquellos grupos mencionados en la definición de “sustituido” en la presente invención, y particularmente se refiere al grupo -N(R³⁶)₂ en el que cada R³⁶ está independientemente seleccionado entre el grupo que consiste en hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, alquenilo, alquenilo sustituido, alquinilo, alquinilo sustituido, arilo, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, y en el que ambos grupos R están unidos para formar un grupo alquileno. Cuando ambos grupos R son hidrógeno, -N(R³⁶)₂ es un grupo amino.

35 “Aminocarbonilo” se refiere al grupo -C(O)NR³⁷R³⁷ en el que cada R³⁷ es independientemente hidrógeno, arilo y cicloalquilo, o en el que los grupos R³⁷ están unidos para formar un grupo alquileno.

“Aminocarbonilamino” se refiere al grupo -NR³⁸C(O)NR³⁸R³⁸ en el que cada R³⁸ es independientemente hidrógeno, arilo o cicloalquilo, o en el que dos grupos R están unidos para formar un grupo alquileno.

“Aminocarboniloxi” se refiere al grupo -OC(O)NR³⁹R³⁹ en el que cada R³⁹ es independientemente hidrógeno, arilo o cicloalquilo, o en el que los grupos R están unidos para formar un grupo alquileno.

40 “Arilalquiloxi” se refiere a un radical -O-arilalquilo en el que arilalquilo es tal como se define en la presente invención.

“Arilamino” significa un radical -NHR⁴⁰ en el que R⁴⁰ representa un grupo arilo tal como se define en la presente invención.

“Ariloxicarbonilo” significa un radical -C(O)-O-arilo en el que arilo tal como se define en la presente invención.

45 “Ariulfonilo” se refiere a un radical -S(O)₂R⁴¹ en el que R⁴¹ es un grupo arilo o heteroarilo tal como se definen en la presente invención.

“Azido” se refiere al radical -N₃.

“Bicicloarilo” se refiere a un grupo hidrocarburo aromático monovalente obtenido de la separación de un átomo de hidrógeno a partir de un único átomo de carbono de un sistema de anillo bicicloaromático principal. Típicamente, los grupos bicicloarilo incluyen, pero sin limitarse a ellos, grupos obtenidos de indano, indeno, naftaleno, tetrahidronaftaleno, y similares. Particularmente, un grupo arilo comprende desde 8 hasta 11 átomos de carbono.

5 “Bicicloheteroarilo” se refiere a un grupo bicicloheteroaromático obtenido de la separación de un átomo de hidrógeno a partir de un único átomo de carbono de un sistema de anillo bicicloheteroaromático principal. Típicamente, los grupos bicicloheteroarilo incluyen, pero sin limitarse a ellos, grupos obtenidos de benzofurano, benzimidazol, benzindazol, benzodioxano, cromeno, cromano, cinnolino, ftalazino, indol, indolino, indolizino, isobenzofurano, isocromeno, isoindol, isoindolino, isoquinolino, benzotiazol, benzoxazol, naftirino, benzoxadiazol, pteridino, purino, benzopirano, benzpirazino, piridopirimidino, quinazolino, quinolino, quinolizino, quinoxalino, benzomorfolo, tetrahidroisoquinolino, tetrahidroquinolino, y similares. Preferiblemente, el grupo bicicloheteroarilo tiene entre 9-11 partes bicicloheteroarilo, siendo particularmente preferido con 5-10 partes heteroarilo. Los grupos bicicloheteroarilo particulares son los obtenidos de benzotiofeno, benzofurano, benzotiazol, indol, quinolino, isoquinolino, benzimidazol, benzoxazol y benzodioxano.

15 “Carbamoilo” se refiere al radical $-C(O)N(R^{42})_2$ en el que cada grupo R^{42} es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo o arilo, tal como se definen en la presente invención, el cual puede estar opcionalmente substituido tal como se define en la presente invención.

“Carboxi” se refiere al radical $-C(O)OH$.

“Carboxiamino” se refiere al radical $-N(H)C(O)OH$.

20 “Cicloalquilo” se refiere a grupos hidrocarbilo cíclicos que tienen desde 3 hasta aproximadamente 10 átomos de carbono y que tienen un anillo cíclico único o anillos condensados múltiples, incluyendo sistemas de anillos fusionados o puenteados, los cuales opcionalmente pueden estar substituidos con desde 1 hasta 3 grupos alquilo. Dichos grupos cicloalquilo incluyen, a modo únicamente de ejemplo, estructuras de un anillo único, tal como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclooctilo, 1-metilciclopropilo, 2-metilciclopropilo, 2-metilciclooctilo, y similares, y estructuras de anillos múltiples, tal como adamantilo, y similares.

25 “Cicloalquilo substituido” incluye aquellos grupos mencionados en la definición de “substituido” en la presente invención, y particularmente se refiere a un grupo cicloalquilo que tiene 1 o más substituyentes, por ejemplo, desde 1 hasta 5 substituyentes, y particularmente 1 a 3 substituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi substituido, alcocarbonilo, alcocarbonilamino, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo substituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi substituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂, y aril-S(O)₂-.

30 “Cicloalcoxi” se refiere al grupo $-OR^{43}$ en el que R^{43} es cicloalquilo. Dichos grupos cicloalcoxi incluyen, a modo de ejemplo, ciclopentoxi, ciclohexoxi y similares.

35 “Cicloalquenilo” se refiere a grupos hidrocarbilo cíclicos que tienen desde 3 hasta 10 átomos de carbono y que tienen un anillo cíclico único o anillos condensados múltiples, incluyendo sistemas de anillos fusionados o puenteados que tienen al menos uno y particularmente desde 1 hasta 2 sitios de insaturación olefínica. Dichos grupos cicloalquenilo incluyen, a modo de ejemplo, estructuras de un anillo único, tal como ciclohexenilo, ciclopentenilo, ciclopropenilo, y similares.

40 “Cicloalquenilo substituido” incluye aquellos grupos mencionados en la definición de “substituido” en la presente invención, y particularmente se refiere a un grupo cicloalquenilo que tiene 1 o más substituyentes, por ejemplo, desde 1 hasta 5 substituyentes, y particularmente 1 a 3 substituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi substituido, alcocarbonilo, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo substituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi substituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂, y aril-S(O)₂-.

45 “Cicloalquenilo fusionado” se refiere a un cicloalquenilo que tiene dos de sus átomos de carbono del anillo en común con un segundo anillo alifático o aromático y que tienen su insaturación olefínica localizada para impartir aromaticidad al anillo cicloalquenilo.

“Cianato” se refiere al radical $-OCN$.

“Ciano” se refiere al radical $-CN$.

50 “Dialquilamino” se refiere al radical $-NR^{44}R^{45}$ en el que R^{44} y R^{45} representa independientemente un grupo alquilo, alquilo substituido, arilo, arilo substituido, cicloalquilo, cicloalquilo substituido, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilo substituido, heteroarilo o heteroarilo substituido, tal como se definen en la presente invención.

“Etenilo” se refiere a $-(C=C)-$ substituido o no substituido.

“Etileno” se refiere a $-(C-C)-$ substituido o no substituido.

“Etilino” se refiere a $-(C\equiv C)-$ sustituido o no sustituido.

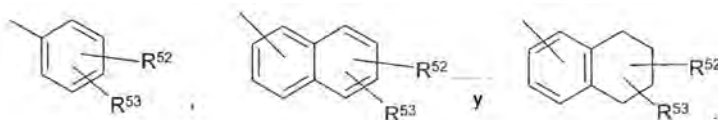
“Halo” o “halógeno” se refiere a fluoro, cloro, bromo y yodo. Los grupos halo preferidos son o bien fluoro o bien cloro.

“Hidroxi” se refiere al radical $-OH$.

“Nitro” se refiere al radical $-NO_2$.

- 5 “Sustituido” se refiere a un grupo en el cual uno o más átomos de hidrógeno están cada uno de ellos independientemente reemplazados con el mismo o diferente sustituyente(s). Los sustituyentes típicos incluyen, pero sin limitarse a ellos, a $-X$, $-R^{46}$, $-O$, $=O$, $-OR^{46}$, $-SR^{46}$, $-S^-$, $=S$, $-NR^{46}R^{47}$, $=NR^{46}$, $-CX_3$, $-CF_3$, $-CN$, $-SCN$, $-NO$, $=N_2$, $-S(O)_2OH$, $-S(O)_2R^{46}$, $-OS(O)_2O$, $-OS(O)_2R^{46}$, $-P(O)(OR^{46})(O^-)$, $-P(O)(OR^{46})(OR^{47})$, $-C(O)R^{46}$, $-C(S)R^{46}$, $-C(O)NR^{46}R^{47}$, $-C(O)O^-$, $-C(S)OR^{46}$, $-NR^{48}C(O)NR^{46}R^{47}$, $-NR^{48}C(S)NR^{46}R^{47}$, $-NR^{49}C(NR^{48})NR^{46}R^{47}$ y $-C(NR^{48})NR^{46}R^{47}$, en los que cada X es independientemente un halógeno; cada R^{46} , R^{47} , R^{48} y R^{49} son independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, alquilo sustituido, arilalquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, alquilo sustituido, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilo sustituido, heteroalquilo, heteroalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo, heteroarilalquilo sustituido, $-NR^{50}R^{51}$, $-C(O)R^{46}$ o $-S(O)_2R^{50}$ o opcionalmente R^{50} y R^{51} conjuntamente con el átomo al cual están ambos unidos forman un anillo cicloheteroalquilo o cicloheteroalquilo sustituido; y R^{50} y R^{51} son independientemente hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, arilo, alquilo sustituido, arilalquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, alquilo sustituido, cicloheteroalquilo, cicloheteroalquilo sustituido, heteroalquilo, heteroalquilo sustituido, heteroarilo, heteroarilo sustituido, heteroarilalquilo o heteroarilalquilo sustituido.
- 10
- 15

Los ejemplos de arilos sustituidos representativos incluyen los siguientes

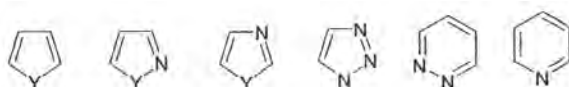


- 20 En estas fórmulas, uno de R^{52} y R^{53} puede ser hidrógeno y al menos uno de R^{52} y R^{53} está cada uno independientemente seleccionado entre alquilo, alqueno, alquino, cicloheteroalquilo, alcanoilo, alcoxi, ariloxi, heteroariloxi, alquilamino, arilamino, heteroarilamino, $NR^{54}COR^{55}$, $NR^{54}SOR^{55}$, $NR^{54}SO_2R^{57}$, COO -alquilo, COO -arilo, $CONR^{54}R^{55}$, $CONR^{54}OR^{55}$, $NR^{54}R^{55}$, $SO_2NR^{54}R^{55}$, S -alquilo, S -alquilo, SO_2 -alquilo, S -arilo, SO -arilo, SO_2 -arilo; o R^{52} y R^{53} pueden unirse para formar un anillo cíclico (saturado o insaturado) de desde 5 hasta 8 átomos, conteniendo opcionalmente uno o más heteroátomos seleccionados entre el grupo N, O o S. R^{54} , R^{55} y R^{56} son independientemente hidrógeno, alquilo, alqueno, alquino, perfluoroalquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, arilo sustituido, heteroarilo, sustituido o heteroalquilo o similares.
- 25

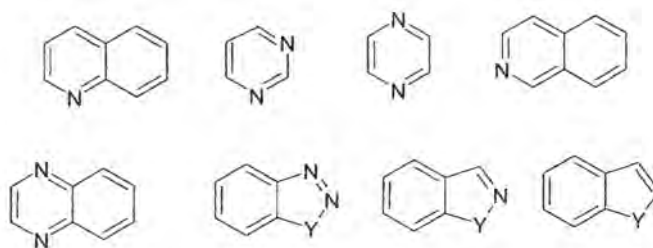
- 30 “Hetero” cuando se usa para describir un compuesto o un grupo presente sobre un compuesto, significa que uno o más átomos de carbono en el compuesto o grupo han sido reemplazados por un heteroátomo de nitrógeno, oxígeno, o azufre. Hetero puede aplicarse a cualquiera de los grupos hidrocarbilo descritos anteriormente, tal como alquilo, por ejemplo, heteroalquilo, cicloalquilo, por ejemplo cicloheteroalquilo, arilo, por ejemplo heteroarilo, cicloalqueno, por ejemplo cicloheteroalqueno, y similares, que tenga desde 1 hasta 5, y especialmente desde 1 hasta 3 heteroátomos.
- 35

- 35 “Heteroarilo” se refiere a un grupo heteroaromático monovalente obtenido de la separación de un átomo de hidrógeno procedente de un átomo sencillo de un sistema de anillo heteroaromático principal. Los grupos heteroarilo típicos incluyen, pero sin limitarse a ellos, grupos obtenidos a partir de acridina, arindol, carbazol, β -carbolina, cromano, cromeno, cinnolino, furano, imidazol, indazol, indol, indolino, indizolino, isobenzofurano, isocromeno, isoindol, isoindolino, isoquinolino, isotiazol, isoxazol, naftiridino, oxadiazol, oxazol, perimidino, fenantridino, fenantrolino, fenazino, ftalazino, pteridino, purino, piran, pirazino, pirazol, piridazino, piridino, pirimidino, pirrol, pirrolizino, quinazolino, quinolino, quinolizino, quinoxalino, tetrazol, tiadiazol, tiazol, tiofeno, triazol, xanteno, y similares. Preferiblemente, el grupo heteroarilo es entre heteroarilo de 5-15 átomos, siendo particularmente preferidos con heteroarilo de 5-10 átomos. Los grupos heteroarilo preferidos son los obtenidos a partir de tiofeno, pirrol, benzotiofeno, benzofurano, indol, piridino, quinolino, imidazol, oxazol y pirazino.
- 40

Los ejemplos de heteroarilos representativos incluyen los siguientes

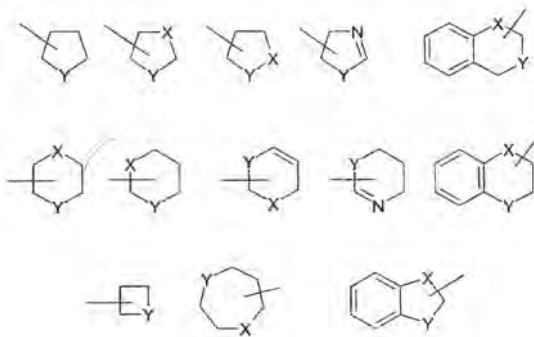


45



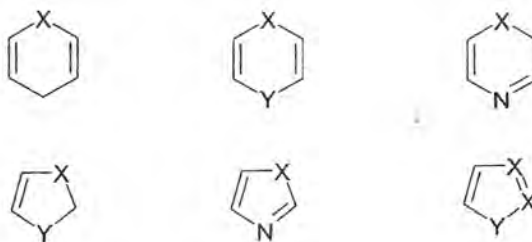
en los que cada Y está seleccionada entre carbonilo, N, NR⁵⁸, O, y S; y R⁵⁸ es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o similares.

- 5 Tal como se usa en la presente invención, el término "cicloheteroalquilo" se refiere a un anillo no aromático heterocíclico estable y anillos fusionados que contienen uno o más heteroátomos independientemente seleccionados entre N, O y S. Un sistema de anillo heterocíclico fusionado puede incluir anillos carbocíclicos y únicamente necesita incluir un anillo heterocíclico. Los ejemplos de anillos heterocíclicos incluyen, pero sin limitarse a ellos, piperazinilo, homopiperazinilo, piperidinilo y morfolinilo, y se muestran en los ejemplos representativos siguientes:



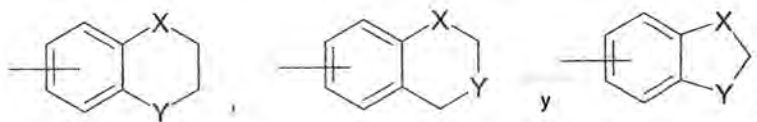
- 10 en los que cada X está seleccionada entre CR⁵⁸₂, NR⁵⁸, O, y S; y cada Y está seleccionada entre NR⁵⁸, O, y S; y R⁵⁸ es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o similares. Estos anillos cicloheteroalquilo pueden opcionalmente estar sustituidos con uno o más grupos seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxicarbonilo, alcoxicarbonilamina, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo,
- 15 ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido, halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂, y aril-S(O)₂-. Los grupos sustituyentes incluyen carbonilo o tiocarbonilo los cuales proporcionan, por ejemplo, derivados lactama y urea.

Los ejemplos de cicloheteroalquilenos representativos incluyen los siguientes



- 20 en los que cada X está seleccionada entre CR⁵⁸₂, NR⁵⁸, O, y S; y cada Y está seleccionada entre carbonilo, N, NR⁵⁸, O, y S; y R⁵⁸ es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o similares.

Los ejemplos de arilo representativos que tienen heteroátomos que contienen sustitución incluyen los siguientes



en los que cada X está seleccionada entre C-R⁵⁸, NR⁵⁸, O, y S; y cada Y está seleccionada entre carbonilo, NR⁵⁸, O, y S; y R⁵⁸ es independientemente hidrógeno, alquilo, cicloalquilo, cicloheteroalquilo, arilo, heteroarilo, heteroalquilo o similares.

- 5 “Hetero sustituyente” se refiere a un átomo halo, O, S o N que contiene funcionalidad, que puede estar presente como un R⁴ en un grupo R⁴C presente como sustituyentes directamente sobre A, B, W, Y o Z de los compuestos de la presente invención o puede estar presente como un sustituyente en el arilo “sustituido” y grupos alifáticos presentes en los compuestos.

Los ejemplos de hetero sustituyentes incluyen:

- halo
- 10 - NO₂, -NH₂, -NHR⁵⁹, -N(R⁵⁹)₂,
- NRCOR, -NR⁵⁹SOR⁵⁹, -NR⁵⁹SO₂R⁵⁹, OH, CN,
- CO₂H,
- R⁵⁹-OH, -O-R⁵⁹, -COOR⁵⁹,
- CO(R⁵⁹)₂, -CONROR⁵⁹,
- 15 - SO₃H, -R⁵⁹-S, -SO₂N(R⁵⁹)₂,
- S(O)R⁵⁹, -S(O)₂R⁵⁹

en el que cada R⁵⁹ es independientemente un arilo o alifático, opcionalmente con sustitución. Entre los hetero sustituyentes que contienen grupos R⁵⁹, se da preferencia a aquellos materiales que tienen grupos R⁵⁹ arilo y alquilo, tal como se definen en la presente invención. Los hetero sustituyentes preferidos son los listados anteriormente.

- 20 “Dihidroxifosforilo” se refiere al radical -PO(OH)₂.

“Dihidroxifosforilo sustituido” incluye aquellos grupos mencionados en la definición de “sustituido” en la presente invención, y particularmente se refiere a un radical dihidroxifosforilo en el que uno o ambos de los grupos hidroxilo están sustituidos. Los sustituyentes adecuados se describen en detalle más adelante.

“Aminohidroxifosforilo” se refiere al radical -PO(OH)NH₂.

- 25 “Aminohidroxifosforilo sustituido” incluye aquellos grupos mencionados en la definición de “sustituido” en la presente invención, y particularmente se refiere a un aminohidroxifosforilo en el que el grupo amino está sustituido con uno o dos sustituyentes. Los sustituyentes adecuados se describen en detalle más adelante. En ciertas realizaciones, el grupo hidroxilo puede estar también sustituido.

“Tioalcoxi” se refiere al grupo -SR⁶⁰ en el que R⁶⁰ es alquilo.

- 30 “Tioalcoxi sustituido” incluye aquellos grupos mencionados en la definición de “sustituido” en la presente invención, y particularmente se refiere a un grupo tioalcoxi que tiene 1 o más sustituyentes, por ejemplo, desde 1 hasta 5 sustituyentes, y particularmente 1 a 3 sustituyentes, seleccionados entre el grupo que consiste en acilo, acilamino, aciloxi, alcoxi, alcoxi sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilamino, amino, amino sustituido, aminocarbonilo, aminocarbonilamino, aminocarboniloxi, arilo, ariloxi, azido, carboxilo, ciano, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido,
- 35 halógeno, hidroxilo, ceto, nitro, tioalcoxi, tioalcoxi sustituido, tioariloxi, tioceto, tiol, alquil-S(O)-, aril-S(O)-, alquil-S(O)₂, y aril-S(O)₂.

“Sulfanilo” se refiere al radical HS-. “Sulfanilo sustituido” se refiere a un radical tal como RS- en el que R es cualquier sustituyente descrito en la presente invención.

- 40 “Sulfonilo” se refiere al radical divalente -S(O)₂-. “Sulfonilo sustituido” se refiere a un radical tal como R⁶¹-(O)₂S- en el que R⁶¹ es cualquier sustituyente descrito en la presente invención. “Aminosulfonilo” o “sulfonamida” se refieren al radical H₂N(O₂)S- y “aminosulfonilo sustituido” o “sulfanamida sustituida” se refiere a un radical tal como R⁶²N(O₂)S- en el que R⁶² es independientemente cualquier sustituyente descrito en la presente invención.

“Sulfona” se refiere al grupo -SO₂R⁶³. En realizaciones particulares, R⁶³ está seleccionado entre H, alquilo inferior, alquilo, arilo y heteroarilo.

- 45 “Tioariloxi” se refiere al grupo -SR⁶⁴ en el que R⁶⁴ es arilo.

“Tioceto” se refiere al grupo =S.

“Tiol” se refiere al grupo -SH.

Una persona que tenga experiencia normal en la técnica de síntesis orgánica admitirá que el número máximo de heteroátomos en un anillo químicamente factible, estable, tanto sea aromático como no aromático, está determinado por el tamaño del anillo, del grado de insaturación y la valencia de los heteroátomos. En general, un anillo heterocíclico puede tener uno a cuatro heteroátomos, siempre y cuando que el anillo heteroaromático sea químicamente factible y estable.

“Farmacéuticamente aceptable” significa aprobada por una agencia reguladora del gobierno Federal o un estado o listada en la U.S. Pharmacopoeia u otra farmacopea generalmente reconocida para su uso en animales, y más particularmente en seres humanos.

“Sal farmacéuticamente aceptable” se refiere a una sal de un compuesto de la invención que es farmacéuticamente aceptable y que posee la actividad farmacológica deseada del compuesto principal. Dichas sales incluyen: (1) sales de adición de ácido, formadas con ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido fosfórico y similares; o formadas con ácidos orgánicos tales como ácido acético, ácido propiónico, ácido hexanoico, ácido ciclopentanopropiónico, ácido glicólico, ácido pirúvico, ácido láctico, ácido malónico, ácido succínico, ácido málico, ácido maleico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido benzoico, ácido 3-(4-hidroxibenzoil) benzoico, ácido cinnámico, ácido mandélico, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido 1.2-etano-disulfónico, ácido 2-hidroxietanosulfónico, ácido bencenosulfónico, ácido 4-clorobencenosulfónico, ácido 2-naftalenosulfónico, ácido 4-toluenosulfónico, ácido alcanforsulfónico, ácido 4-metilbicyclo[2.2.2]-oct-2-eno-1-carboxílico, ácido glucoheptónico, ácido 3-fenilpropiónico, ácido trimetilacético, ácido butilacético terciario, ácido lauril sulfónico, ácido glucónico, ácido glutámico, ácido hidroxinaftóico, ácido salicílico, ácido esteárico, ácido mucónico, y similares; o (2) sales formadas cuando un protón ácido presente en el compuesto principal está o bien reemplazado por un ión metálico, por ejemplo un ión de metal alcalino, un ión de metal alcalinotérreo, o un ión aluminio; o o bien coordinado con una base orgánica tal como etanolamina, dietanolamina, trietanolamina, N-metilglucamina y similares. Las sales incluyen además, a modo únicamente de ejemplo, sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio, tetraalquilamonio, y similares; y cuando el compuesto contiene una funcionalidad básica, sales de ácidos orgánicos o inorgánicos no tóxicos, tal como hidrocioruro, hidrobromuro, tartrato, mesilato, acetato, maleato, oxalato y similares. El término “catión farmacéuticamente aceptable” se refiere a un contra-ión catiónico aceptable, no tóxico, de un grupo funcional ácido. Dichos cationes están ejemplificados por cationes sodio, potasio, calcio, magnesio, amonio, tetraalquilamonio, y similares.

“Vehículo farmacéuticamente aceptable” se refiere a un diluyente, adyuvante, excipiente o vehículo con el cual se administra un compuesto de la invención.

“Prevenir” o “prevención” se refiere a una reducción en el riesgo de adquirir una enfermedad o trastorno (es decir, causante de al menos uno de los síntomas clínicos de la enfermedad no desarrollada en un sujeto que puede estar expuesto o predispuesto a la enfermedad que todavía no experimenta o muestra síntomas de la enfermedad).

“Solvato” se refiere a formas del compuesto que están asociadas con un disolvente, usualmente mediante una reacción de solvolisis. Los disolventes convencionales incluyen agua, etanol, ácido acético y similares. Los compuestos de la invención pueden prepararse, por ejemplo, en forma cristalina y pueden estar solvatados o hidratados. Los solvatos adecuados incluyen solvatos aceptables farmacéuticamente, tales como hidratos, e incluyen además tanto solvatos estequiométricos como solvatos no estequiométricos.

“Sujeto” incluye seres humanos. Los términos “ser humano”, “paciente” y “sujeto” se usan de manera intercambiable en la presente invención.

“Cantidad terapéuticamente eficaz” significa la cantidad de un compuesto que, cuando se administra a un sujeto para el tratamiento de una enfermedad, es suficiente para efectuar dicho tratamiento para la enfermedad. La “cantidad terapéuticamente eficaz” puede variar, dependiendo del compuesto, la enfermedad y su severidad, y la edad, peso, etc., del sujeto a ser tratado.

“Tratar” o “tratamiento” de cualquier enfermedad o trastorno se refieren, en una realización, al mejoramiento de la enfermedad o trastorno (por ejemplo, detención o reducción del desarrollo de la enfermedad o al menos uno de los síntomas clínicos de la misma). En otra realización, “tratar” o “tratamiento” se refiere al mejoramiento de al menos un parámetro físico, el cual puede no ser discernible por el sujeto. En otra realización aún, “tratar” o “tratamiento” se refiere a la modulación de la enfermedad o trastorno, bien sea físicamente, (por ejemplo, estabilización de un síntoma discernible), o bien fisiológicamente (por ejemplo, estabilización de un parámetro físico), o ambos. En otra realización aún, “tratar” o “tratamiento” se refieren al retraso de la aparición de la enfermedad o trastorno.

Otros derivados de los compuestos de la presente invención tienen actividad tanto en sus formas ácidas como derivados ácidos, pero en la forma sensible ácida ofrecen frecuentemente ventajas de solubilidad, compatibilidad con los tejidos, o liberación retardada en el organismo mamífero (véase. Bundgart, H., Design of Prodrugs, págs. 7-9, 21-24, Elsevier, Amsterdam (1958)). Los pro-fármacos incluyen derivados ácidos bien conocidos para los practicantes de la técnica, tal como, por ejemplo, ésteres preparados mediante reacción del ácido principal con un alcohol adecuado, o amidas preparadas mediante reacción del compuesto ácido principal con una amina substituida o no substituida, o anhídridos de ácido, o anhídridos mezclados. Los ésteres, amidas y anhídridos alifáticos o aromáticos obtenidos de

grupos ácidos colgantes sobre los compuestos de la presente invención son pro-fármacos preferidos. En algunos casos, es deseable preparar pro-fármacos del tipo de éster doble tal como ésteres (aciloxi)alquilo o ésteres ((alcoxi-carbonil)oxi)alquilo). Los preferidos son los alquilo de C₁ a C₈, alqueno de C₂-C₈, arilo, arilo sustituido de C₇-C₁₂, y ésteres arilalquilo de C₇-C₁₂ de los compuestos de la invención.

5 Tal como se usa en la presente invención, el término "variante isotópica" se refiere a un compuesto que contiene proporciones no naturales de isótopos en uno o más de los átomos que constituyen dicho compuesto. Por ejemplo, una "variante isotópica" de un compuesto puede contener uno o más isótopos no radioactivos, tal como, por ejemplo, deuterio (²H o D), carbono-13 (¹³C), nitrógeno-15 (¹⁵N)), o similares. Se sobreentiende que, en un compuesto en el que se realiza dicha sustitución isotópica, los átomos siguientes, cuando están presentes, pueden variar, de mane-
10 ra tal que, por ejemplo, cualquier hidrógeno puede ser ²H/D, cualquier carbono puede ser ¹³C, o cualquier nitrógeno puede ser ¹⁵N, y que la presencia y colocación de dichos átomos puede ser determinada dentro de la experiencia en la técnica. Igualmente, la invención puede incluirla preparación de variantes isotópicas con radioisótopos, en el caso de que, por ejemplo, los compuestos resultantes pueden usarse para fármacos y/o estudios de distribución del tejido substrato. Los isótopos radioactivos tritio, es decir ³H, y carbono-14, es decir ¹⁴C, son particularmente útiles para
15 este fin, a la vista de su facilidad de incorporación y medios disponibles de detección. Además, pueden prepararse compuestos que estén sustituidos con isótopos que emitan positrones, tales como ¹¹C, ¹⁸F, ¹⁵O y ¹³N, y serían útiles en estudios Tomografía de Emisión de Positrones (PET) para el examen de ocupación de receptores de subs-
tratos.

20 Todas las variantes isotópicas de los compuestos proporcionados en la presente invención, sean radioactivos o no, están destinadas a ser abarcadas dentro del ámbito de la invención.

Igualmente, se sobreentiende que los compuestos que tienen la misma fórmula molecular pero que difieren en la naturaleza o secuencia de unión de sus átomos o la disposición de sus átomos en el espacio, se denominan "isómeros". Los isómeros que difieren en la disposición de sus átomos en el espacio se denominan "estereoisómeros".

25 Los estereoisómeros que no son imágenes especulares de otro se denominan "diastereómeros" y aquellos que son imágenes especulares no superponibles unos de otros se denominan "enantiómeros". Cuando un compuesto tiene un centro asimétrico, por ejemplo, está unido a cuatro grupos diferentes, es posible un par de enantiómeros. Un enantiómero puede caracterizarse mediante la configuración absoluta de su centro asimétrico y se describe mediante las reglas de secuenciación R y S de Cahn y Prelog, o por la manera en la cual la molécula rota el plano de luz polarizada y se designa como dextrorrotatoria o levorotatoria (es decir, como isómeros (+) o (-), respectivamente). Puede existir un compuesto quiral bien sea como enantiómero individual o bien como una mezcla de los mismos. Una mezcla que contiene proporciones iguales de los enantiómeros se denomina una "mezcla racémica".

30

"Tautómeros" se refiere a compuestos que son formas intercambiables de una estructura de un compuesto particular, y que varía en el desplazamiento de los átomos de hidrógeno y electrones. De acuerdo con ello, dos estructuras pueden estar en equilibrio durante el movimiento de electrones π y un átomo (usualmente H). Por ejemplo, los eno-
35 les y cetonas son tautómeros dado que son rápidamente interconvertidos mediante tratamiento bien con ácido o bien con base. Otro ejemplo de tautomerismo es las formas ácido y nitro del fenilnitrometano, las cuales se forman igualmente mediante tratamiento con ácido o base.

Las formas tautoméricas pueden ser relevantes para lograr la reactividad química y actividad biológica óptimas de un compuesto de interés.

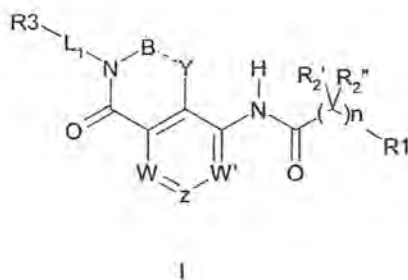
40 Los compuestos de la invención pueden poseer uno o más centros asimétricos; por ello, dichos compuestos pueden producirse como estereoisómeros (R) o (S) individuales o como mezclas de los mismos. Salvo que se indique lo contrario, la descripción o denominación de un compuesto particular en la memoria descriptiva y reivindicaciones, está destinada a incluir tanto los enantiómeros individuales como las mezclas, racémicos, o cualquier otra forma, de los mismos. Los procedimientos para la determinación de la estereoquímica y la separación de estereoisómeros es bien conocida en la técnica.

45

Los compuestos

La presente invención proporciona compuestos bicicloheteroarilo útiles en la prevención y/o tratamiento de un amplia gama de afecciones, asociadas con anomalías en la actividad del receptor P2X₇, entre ellas, artritis reumatoide, enfermedad de Parkinson, uveítis, asma, afecciones cardiovasculares tal como infarto de miocardio, el tratamiento y
50 profilaxis de síndromes de dolor (agudo y crónico o neuropático), lesión cerebral traumática, lesión aguda de la médula espinal, trastornos neurodegenerativos, enfermedad del intestino inflamatorio y disfunciones inmunes tales como trastornos o afecciones autoinmunes, en mamíferos.

En un primer aspecto de la invención, se divulgan compuestos bicicloheteroarilo que son capaces de modulación de la actividad del receptor P2X₇ *in vivo*, que tienen una fórmula (I):



en la que

B e Y están independientemente seleccionados entre CR^{2a} y $CR^{2a}R^{2b}$;

W y Z están seleccionados entre CH; W' es CR^4 ;

5 L^1 es alquileo de C_1 - C_5 sustituido o no sustituido;

n es 1 ó 2;

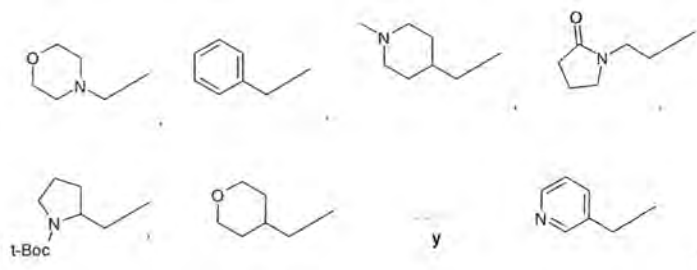
R^1 está seleccionado entre un anillo arilo sustituido o no sustituido o heteroarilo sustituido o no sustituido;

10 cada uno de R^{2a} , R^{2b} , R_2' y R_2'' está independientemente seleccionado entre hidrógeno, halo, y alquilo de C_1 - C_6 sustituido o no sustituido; o cualquiera de R_2' y R_2'' se unen conjuntamente para formar un anillo cicloalquilo o cicloheteroalquilo de 3-7 átomos;

R^3 es hidrógeno o un grupo funcional seleccionado entre

alquilo, dialquilamino, aciloxi, alcoxi, y $-SO_2$ -alquilo; o

el grupo $-L_1-R^3$ está seleccionado entre



15 R^4 está independientemente seleccionado entre H, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido, acilamino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, alquiltio sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, alcocarbonilo sustituido, alcoxycarbonilo sustituido, alquilarilamino sustituido o no sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, amino, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, sulfóxido sustituido o no sustituido, sulfona sustituida o no sustituida, sulfanilo sustituido o no sustituido, aminosulfonilo sustituido o no sustituido, arilsulfonilo sustituido o no sustituido, ácido sulfúrico, éster del ácido sulfúrico, dihidroxifosforilo sustituido o no sustituido, aminodihidroxifosforilo sustituido o no sustituido, azido, carboxi, carbamoilo sustituido o no sustituido, ciano, cicloalquilo sustituido o no sustituido, cicloheteroalquilo sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, halo, heteroariloxi, heteroarilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, hidroxilo, nitro, y tio;

y el enlace de puntos es un enlace sencillo o doble;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;

y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, n es 1.

30 En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, L^1 es un grupo alquileo de C_1 - C_5 no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados entre alquilo, oxo, arilo, hidroxilo, o hidroxialquilo.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, B e Y están independientemente seleccionados entre CR^{2a} y $CR^{2a}R^{2b}$.

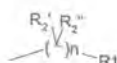
En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, B e Y están independientemente seleccionados entre CR^{2a}R^{2b} y el enlace de puntos es un enlace sencillo.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, B e Y todos ellos pueden representar CH₂ y el enlace de puntos es un enlace sencillo.

- 5 En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, B e Y están independientemente seleccionados entre CR^{2a} y el enlace de puntos es un enlace doble.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, B e Y todos ellos pueden representar CH y el enlace de puntos es un enlace doble.

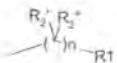
En otra realización, con respecto a compuestos de fórmula I, cada R^{2'} y R^{2''} del grupo



10

es H o Me. En una realización particular, cada R^{2'} y R^{2''} es H.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, uno de R^{2'} y R^{2''} del grupo



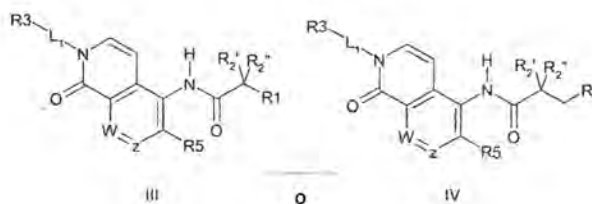
puede estar seleccionado entre Me, Et, halo y Cl, y el otro es H.

- 15 En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, R¹ es arilo sustituido o no sustituido. En una realización particular, R¹ es fenilo sustituido o no sustituido.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, cada uno de W, Z y W' es CH.

- 20 En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmula I, cada uno de W y Z es CH, W' es CR⁵ y R⁵ está seleccionado entre alquilo, alquilo sustituido, cicloalquilo, cicloalquilo sustituido y halo. En una realización, R⁵ está seleccionado entre Me, ciclopropilo, Cl, F y CF₃.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmula I, el compuesto está de acuerdo con la fórmula III o IV:



en las que

W, Z, L¹, R¹, R^{2'}, R^{2''} y R³ son tal como se han descrito para la fórmula I;

- 25 y R⁵ está seleccionado entre H, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido, acilamino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, alquiltio sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, alcocarbonilo, alcocarbonilo sustituido, alquilarilamino sustituido o no sustituido, arilalquiloxi, arilalquiloxi sustituido, amino, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, sulfóxido sustituido o no sustituido, sulfona sustituida o no sustituida, sulfanilo sustituido o no sustituido, aminosulfonilo sustituido o no sustituido, arilsulfonilo sustituido o no sustituido, ácido sulfúrico, éster del ácido sulfúrico, dihidroxifosforilo sustituido o no sustituido, aminodihidroxifosforilo sustituido o no sustituido, azido, carboxi, carbamoilo sustituido o no sustituido, ciano, cicloalquilo sustituido o no sustituido, cicloheteroalquilo sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, halo, heteroariloxi, heteroarilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, hidroxí, nitro, y tio;

- 35 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;

y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, cada $R^{2'}$ y $R^{2''}$ es H.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, $R^{2'}$ es halo; y $R^{2''}$ es H.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, $R^{2'}$ es Cl o F; y $R^{2''}$ es H.

5 En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, $R^{2'}$ es Me o Et; y $R^{2''}$ es H.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, cada uno de $R^{2'}$ y $R^{2''}$ es Me.

En una realización más particular, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, $R^{2'}$ es Me; y $R^{2''}$ es H.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, cada R^1 es arilo sustituido o no sustituido.

10 En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, cada R^1 es fenilo o naftaleno sustituido o no sustituido.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, cada R^1 es naftaleno sustituido o no sustituido.

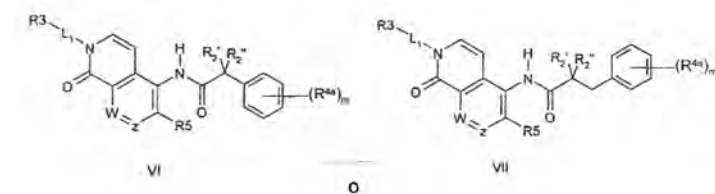
En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, cada R^1 es naftaleno no sustituido.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, cada R^1 es fenilo sustituido o no sustituido.

15 En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, cada R^1 es heteroarilo sustituido o no sustituido.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-IV, cada R^1 es piridilo, quinolino, benzodioxolo, benzodioxano, benzofurano, benzotiofeno, y benzodioxepino sustituido o no sustituido.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas I, el compuesto está de acuerdo con la fórmula VI o VII:



20 en las que

W, Z, L^1 , $R^{2'}$, $R^{2''}$ y R^3 son tal como se han descrito para la fórmula I; R^5 es tal como se ha descrito para las fórmulas III-IV;

25 R^{4a} está seleccionado entre H, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido, acilamino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, alquiltio sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, ariloxi, alcocarbonilo, alcocarbonilo sustituido, alquilarilamino sustituido o no sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, amino, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, sulfóxido sustituido o no sustituido, sulfona sustituida o no sustituida, sulfanilo sustituido o no sustituido, aminosulfonilo sustituido o no sustituido, arilsulfonilo sustituido o no sustituido, ácido sulfúrico, éster del ácido sulfúrico, dihidroxifosforilo sustituido o no sustituido, aminodihidroxifosforilo sustituido o no sustituido, azido, carboxi, carbamoilo sustituido o no sustituido, ciano, cicloalquilo sustituido o no sustituido, cicloheteroalquilo sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, halo, heteroariloxi, heteroarilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, hidroxilo, nitro, y tio; y m está seleccionado desde 0-5;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;

35 y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

Con respecto a los compuestos de la invención en los que m es 0-5 tal como se ha establecido anteriormente, y en cualquiera y todos los lugares en la presente invención, se sobreentiende que cuando $m=0$, el anillo está no sustituido.

En una realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-VII, cada $R^{2'}$ y $R^{2''}$ es H.

40 En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-VII, $R^{2'}$ es halo; y $R^{2''}$ es H.

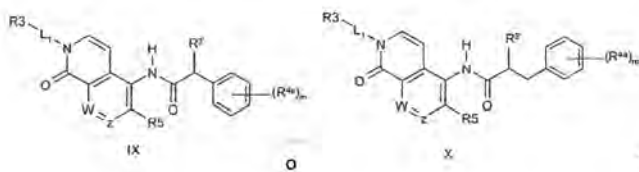
En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-VII, $R^{2'}$ es Cl o F; y $R^{2''}$ es H.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-VII, $R^{2'}$ es Me o Et; y $R^{2''}$ es H.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-VII, cada uno de $R^{2'}$ y $R^{2''}$ es Me.

En una realización más particular, con respecto a compuestos de fórmulas VI-VII, $R^{2'}$ es Me; y $R^{2''}$ es H.

- 5 En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas I, el compuesto está de acuerdo con la fórmula IX o X:



en las que

- 10 W, Z, L^1 y R^3 son tal como se han descrito para la fórmula I; R^5 es tal como se ha descrito para las fórmulas III-IV; m y R^{4a} son tal como se han descrito para las fórmulas VI-VII; $R^{2'}$ es H o Me; o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;

y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

En una realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-X, $R^{2'}$ es H o Me. En otra realización, $R^{2''}$ es Me. En una realización particular, $R^{2''}$ es H.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-X, m es 1, 2 ó 3.

- 15 En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-X, m es 1 ó 2. En una realización particular m es 1.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-X, cada R^{4a} está independientemente seleccionada entre Me, Et, Ph, Cl, F, Br, CN, OH, OMe, OEt, OPh, COPh, CF_3 , CHF_2 , OCF_3 , i-Pr, i-Bu, t-Bu, SMe, $CH=CH-CO_2H$, SMe, SO_2Me , SO_3H , SO_3Me , y piridilo.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas I-X, L^1 es un grupo alquileo de C_1-C_5 .

- 20 En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas I-X, L^1 es un grupo alquileo de C_1-C_5 no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados entre alquilo, hidroxilo, oxo e hidroxialquilo.

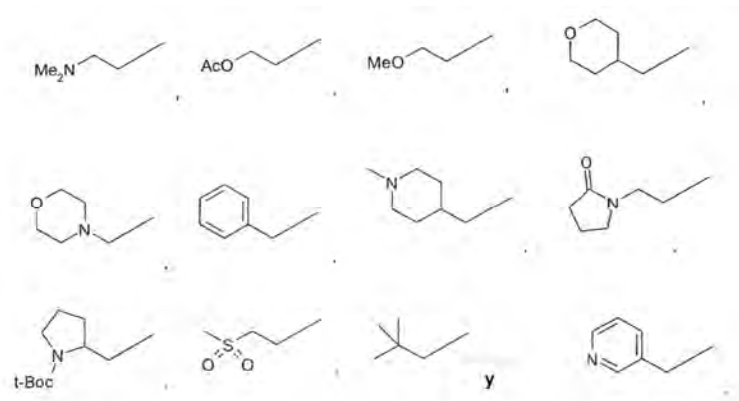
En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas I-X, L^1 es un grupo etileno no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados entre Me, Et, i-Pr, hidroxilo, e hidroximetilo.

- 25 En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas I-X, L^1 es un grupo metileno no sustituido o sustituido por uno o más sustituyentes seleccionados entre Me, Et, i-Pr, hidroxilo, e hidroximetilo.

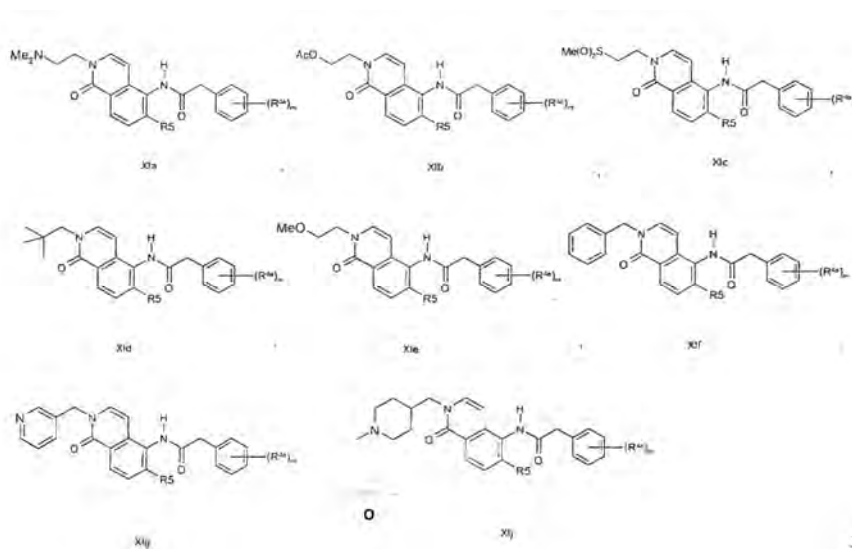
En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas I-X, R^3 está seleccionado entre alquilo, dialquilamino, aciloxi, alcoxi, y $-SO_2$ -alquilo.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas I-X, R^3 está seleccionado entre t-Bu, NMe_2 , SO_2Me , OMe, y OCOMe.

- 30 En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas I-X, el grupo $-L_1-R^3$ está seleccionado entre



En otra realización, con respecto a compuestos de fórmula I. el compuesto está de acuerdo con las fórmulas XIa, XIb, XIc, XIe, XIg, XIh o XIj:



5 en las que m y R^{4a} son tal como se han descrito para las fórmulas VI-VII; y R⁵ está seleccionado entre H, alquilo, o halo.

En una realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-XIj, m es 1, 2 ó 3.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-XIj, m es 1 ó 2. En una realización particular m es 2.

10 En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-XIj, cada R^{4a} está independientemente seleccionada entre Me, Et, Ph, Cl, F, Br, CN, OH, OMe, OEt, OPh, CPh, CF₃, CHF₂, OCF₃, i-Pr, i-Bu, t-Bu, SMe, CH=CH-CO₂H, SMe, SO₂Me, SO₃H, SO₃Me, y piridilo.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-XIj, m es 1 y R^{4a} es CF₃.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-XIj, m es 2 y R^{4a} es F y CF₃.

En otra realización, con respecto a compuestos de fórmulas VI-XIj, m es 2 y R^{4a} es F y Cl.

15 En una realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-XIj, R⁵ es H.

En una realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-XIj, R⁵ está seleccionada entre alquilo, cicloalquilo, alquilo sustituido y halo. En una realización particular, R⁵ está seleccionada entre Me, ciclopropilo, Cl, F y CF₃.

En una realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-XIj, R⁵ es Me.

En una realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-XIj, R⁵ es CF₃.

20 En una realización, con respecto a compuestos de fórmulas III-XIj, R⁵ es F.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmulas III-XIj, R⁵ es Cl.

En una realización adicional, con respecto a compuestos de fórmulas III-XId, R⁵ es ciclopropilo.

Composiciones farmacéuticas

5 Cuando se usan como compuestos farmacéuticos, los compuestos de la presente invención se administran típicamente en la forma de una composición farmacéutica. Dichas composiciones pueden prepararse de una manera bien conocida en la técnica farmacéutica y comprenden al menos un compuesto activo.

Generalmente, los compuestos de la presente invención se administran en una cantidad farmacéuticamente eficaz. La cantidad del compuesto realmente administrado será típicamente determinada por un médico, a la vista de las circunstancias relevantes, incluyendo el estado a tratar, la vía de administración elegida, el compuesto real administrado, la edad, peso, y respuesta del paciente individual, la severidad de los síntomas del paciente, y similares.

10 Las composiciones farmacéuticas de la presente invención pueden administrarse mediante una diversidad de vías incluyendo la oral, rectal, transdérmica, subcutánea, intravenosa, intramuscular, e intranasal. Dependiendo de la vía destinada de suministro, los compuestos de la presente invención se formulan preferentemente o bien como composiciones inyectables u orales o bien como pomadas, como lociones o como parches, todas ellas para administración transdérmica.

15 Las composiciones para administración oral pueden adoptar la forma de soluciones o suspensiones líquidas a granel, o polvos a granel. No obstante, más comúnmente, las composiciones se presentan en formas de dosificación unitarias para facilitar una dosificación precisa. El término "formas de dosificación unitarias" se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para sujetos humanos y otros mamíferos, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo calculado para producir el efecto terapéutico deseado, en asociación con un excipiente farmacéuticamente adecuado. Las formas de dosificación unitaria típicas incluyen jeringuillas o ampollas, premedidas, prellenadas, de las composiciones líquidas o píldoras, comprimidos, cápsulas o similares en el caso de composiciones sólidas. En dichas composiciones, el compuesto de ácido furanosulfónico es usualmente un componente menor (desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 50% en peso o preferiblemente desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 40% en peso), siendo el resto diversos vehículos o soportes y adyuvantes de procesamiento útiles para la formación de la forma de dosificación deseada.

20 Las formas líquidas adecuadas para administración oral pueden incluir un vehículo acuoso o no acuoso adecuado con tampones, agentes de suspensión y dispensación, colorantes, aromas y similares. Las formas sólidas pueden incluir, por ejemplo, cualquiera de los ingredientes siguientes, o compuestos de una naturaleza similar: un aglomerante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina; un excipiente tal como almidón o lactosa, un agente desintegrante tal como ácido alginico, Primogel, o almidón de maíz; un lubricante tal como estearato magnésico; un deslizante tal como tal como dióxido de silicio coloidal; un agente edulcorante tal como sacarosa o sacarina; o un agente aromatizante tal como menta piperita, salicilato de metilo, o aromatizante de naranja.

30 Las composiciones inyectables están típicamente basadas en solución salina estéril inyectable o solución salina tamponada con fosfato u otros vehículos inyectables conocidos en la técnica. Al igual que anteriormente, el compuesto activo en dichas composiciones es típicamente un componente menor, siendo frecuentemente de desde aproximadamente 0,05 hasta 10% en peso, siendo el resto el vehículo inyectable y similares.

35 Las composiciones transdérmicas están típicamente formuladas como un ungüento o crema tópica que contiene el ingrediente(s) activo, generalmente en una cantidad que varía desde aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 20% en peso, preferiblemente desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 20% en peso, preferiblemente desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 10% en peso, y más preferiblemente desde aproximadamente 0,5 hasta aproximadamente 15% en peso. Cuando se formulan como un ungüento, los ingredientes activos estarán típicamente combinados o bien una base de ungüento parafínica o bien miscible con agua. Como alternativa, los ingredientes activos pueden formularse en una crema con, por ejemplo, una base de crema de aceite en agua. Dichas formulaciones transdérmicas son bien conocidas en la técnica y, generalmente, incluyen ingredientes adicionales para potenciar la penetración dérmica de estabilidad de los ingredientes activos o la formulación. Todas dichas formulaciones transdérmicas e ingredientes se incluyen dentro del alcance de la presente invención.

Los compuestos de la presente invención pueden igualmente administrarse mediante un dispositivo transdérmico. De acuerdo con ello, la administración transdérmica puede llevarse a cabo usando un parche, tanto del tipo depósito comp de membrana porosa, o de una variedad de matriz sólida.

50 Los componentes anteriormente descritos para composiciones administrables oralmente, inyectables o composiciones administrables tópicamente, son únicamente representativos. Otros materiales, así como técnicas de transformación y similares, se establecen en la Parte 8 del Remington's Pharmaceutical Sciences 17th edition, (1985), Marck Publishing Company Easton, Pennsylvania, el cual se incorpora en la presente invención como referencia.

55 Las compuestos de la presente invención pueden administrarse, igualmente, en formas de liberación sostenida o a partir de sistemas de de suministro de fármacos de liberación sostenida. En el Remington's Pharmaceutical Sciences puede encontrarse una descripción de materiales representativos de liberación sostenida.

Los ejemplos de formulaciones siguientes ilustran composiciones farmacéuticas representativas de la presente invención. No obstante, la presente invención no está limitada a las composiciones farmacéuticas siguientes.

Formulación 1 – Comprimidos

5 Se mezcla un compuesto de la invención como un polvo seco con un aglomerante de gelatina seco, en una relación en peso aproximada de 1:2. Como un lubricante, se agrega una cantidad menor de estearato magnésico. La mezcla se conforma en comprimidos de 240-270 mg (80-90 mg de compuesto amida activo por comprimido) en una prensa para comprimidos.

Formulación 2 – Cápsulas

10 Se mezcla un compuesto de la invención como un polvo seco con diluyente de almidón, en una relación en peso aproximada de 1:1. La mezcla se usa para rellenar cápsulas de 250 mg (125 mg de compuesto amida activo por cápsula).

Formulación 3 – Líquido

15 Se combinan un compuesto de la invención (125 mg), sacarosa (1,75 g) y goma xantano (4 mg), se pasan a través de un tamiz de malla U.S. N° 10 y, a continuación, se mezclan con una solución previamente formada de celulosa microcristalina y carboximetil celulosa sódica (11:89, 50 mg) en agua. Se diluyen benzoato sódico (10 mg), aroma y color con agua y se agregan con agitación. A continuación, se agrega suficiente agua para producir un volumen total de 5 ml.

Formulación 4 – Comprimidos

20 Se mezcla un compuesto de la invención como un polvo seco con un aglomerante de gelatina seco, en una relación en peso aproximada de 1:2. Como un lubricante, se agrega una cantidad menor de estearato magnésico. La mezcla se conforma en comprimidos de 450-900 mg (150-300 mg de compuesto amida activo por comprimido) en una prensa para comprimidos.

Formulación 5 – Inyección

25 Se disuelve o suspende un compuesto de la invención en un medio acuoso inyectable de solución salina estéril tamponada hasta una concentración de aproximadamente 5 mg/ml.

Formulación 6 – Tópica

30 Se funden alcohol estearílico (250 g) y vaselina (250 g) a aproximadamente 75°C y, a continuación, se agrega una mezcla de un compuesto de la invención (50 mg), metilparabeno (0,25 g), propilparabeno (0,15 g), lauril sulfato sódico (10 g) y propileno glicol (120 g) disueltos en agua (aproximadamente 370 g) y la mezcla resultante se agita hasta que se congela.

Procedimientos de tratamiento

35 Los presentes compuestos se usan como agentes terapéuticos para el tratamiento de afecciones en mamíferos que están causalmente relacionadas o atribuibles a actividad aberrante del receptor P2X₇. De acuerdo con ello, los compuestos y composiciones farmacéuticas de la presente invención encuentran uso como compuestos farmacéuticos para la prevención y/o tratamiento de afecciones autoinmunes. Inflamatorias y cardiovasculares en mamíferos, incluyendo seres humanos.

40 En un aspecto del procedimiento de tratamiento, la presente invención proporciona compuestos descritos en la presente invención para su uso en un procedimiento de tratamiento de un mamífero susceptible a o afligido por un estado asociado con artritis, uveítis, asma, infarto de miocardio, lesión cerebral traumática, lesión aguda de la médula espinal, enfermedad del intestino inflamatorio y trastornos autoinmunes, cuyo procedimiento comprende la administración de una cantidad eficaz de uno o más de las composiciones farmacéuticas justamente descritas.

45 En otro aspecto aún de procedimiento de tratamiento, esta invención proporciona compuestos descritos en la presente invención para su uso en un procedimiento de tratamiento de un mamífero susceptible a o afligido por un estado que da lugar a la aparición de respuestas de dolor o que están relacionadas con desequilibrios en el mantenimiento de la actividad basal de nervios sensoriales. Las presentes aminas tienen uso como analgésicos para el tratamiento del dolor de diversas génesis o etiologías, por ejemplo dolor inflamatorio, agudo (tal como dolor asociado con osteoartritis y artritis reumatoide); diversos síndromes de dolor neuropático (tal como neuralgia post-herpética, neuralgia trigeminal, distrofia simpática réflex, neuropatía diabética, síndrome de Guillian Barre, fibromialgia, dolor del miembro fantasma, dolor post-masectomía, neuropatía periférica, neuropatía de VIH, y neuropatía inducida por quimioterapia y otras neuropatías iatrogénicas); dolor visceral (tal como el asociado con enfermedad réflex gastrointestinal, síndrome de intestino irritable, enfermedad de intestino inflamatorio, pancreatitis, y diversos trastornos ginecológicos y urológicos), dolor dental y dolor de cabeza (tal como migraña, dolor de cabeza localizado y dolor de cabeza por tensión).

En aspectos adicionales de procedimiento de tratamiento, esta invención proporciona compuestos descritos en la presente invención para su uso en procedimientos de tratamiento de un mamífero susceptible a o afligido con enfermedades y trastornos neurodegenerativas, tales como, por ejemplo, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple; enfermedades y trastornos que están mediados por o resultan de neuroinflamación tal como, por ejemplo, lesión cerebral traumática y encefalitis; enfermedades y trastornos neuropsiquiátricos mediados centralmente tal como, por ejemplo, manía depresiva, enfermedad bipolar, ansiedad, esquizofrenia, trastornos de la alimentación, trastornos del sueño y trastornos de cognición; epilepsia y trastornos de crisis; próstata, disfunción de vejiga e intestino tal como, por ejemplo, incontinencia urinaria, indecisión urinaria, hipersensibilidad rectal, incontinencia fecal, hipertrofia prostática benigna y enfermedad de intestino inflamatorio; enfermedad y trastornos respiratorios y vías respiratorias tal como, por ejemplo, rinitis alérgica, asma y enfermedad de las vías respiratorias reactiva y enfermedad pulmonar obstructiva crónica; enfermedades y trastornos que están mediados por o resultan de inflamación, tal como, por ejemplo, artritis reumatoide, y osteoartritis, infarto de miocardio, diversas enfermedades y trastornos autoinmunes, uveítis y aterosclerosis; picazón/prurito tal como, por ejemplo, psoriasis; obesidad; trastornos de lípidos; cáncer; presión sanguínea; lesión de médula espinal; y trastornos renal, comprendiendo el procedimiento la administración de una cantidad eficaz para el tratamiento del estado o prevención del estado de una o más de las composiciones farmacéuticas justamente descritas.

Como un aspecto adicional de la invención, se proporciona los presentes compuestos para su uso como un producto farmacéutico, especialmente en un procedimiento para el tratamiento o prevención de las afecciones y enfermedades anteriormente mencionadas. Igualmente, en la presente invención se proporciona el uso de los presente compuestos en la fabricación de un medicamento para el tratamiento o prevención de uno de las afecciones y enfermedades anteriormente mencionadas.

Los niveles de dosis de inyección varían desde aproximadamente 0,1 mg/kg/hora hasta al menos 10 mg/kg/hora, todas ellas durante desde aproximadamente 1 hasta aproximadamente 120 horas y especialmente 24 a 96 horas. Igualmente, puede administrarse un bolo de precarga de desde aproximadamente 0,1 mg/kg hasta aproximadamente 10 mg/kg o más, para lograr niveles de régimen uniforme adecuados. La dosis total máxima no se espera que exceda de aproximadamente 2 g/día para un paciente humano de 40 a 80 kg.

Para la prevención y/o tratamiento de afecciones a largo plazo, tales como afecciones neurodegenerativas y autoinmunes, el régimen para tratamiento se alarga usualmente a lo largo de muchos meses o años, por lo cual la dosificación oral es la preferida para conveniencia y tolerancia del paciente. Con la dosificación oral, uno a cinco y especialmente dos a cuatro y típicamente tres dosis orales por día, son regímenes representativos. Usando estos patrones de dosificación, cada dosis proporciona desde aproximadamente 0,01 hasta aproximadamente 20 mg/kg del compuesto de la invención, proporcionado con las dosis preferidas cada una de ellas desde aproximadamente 0,1 hasta aproximadamente 10 mg/kg y especialmente aproximadamente 1 hasta aproximadamente 5 mg/kg.

Las dosis transdérmicas son generalmente seleccionadas para proporcionar niveles en sangre similares o inferiores de las que se logran usando dosis de inyección.

Cuando se usan para prevenir la aparición de un estado neurodegenerativo, autoinmune o inflamatorio, los compuestos de esta invención se administrarán a un paciente en riesgo de desarrollar el estado, típicamente bajo la indicación y supervisión de un médico, a los niveles de dosificación descritos anteriormente. Los pacientes en riesgo de desarrollar un estado particular, generalmente incluyen aquellos que tienen una historia familiar del estado, o aquellos que han sido identificados mediante ensayo o cribado genético de ser particularmente susceptibles a desarrollar el estado.

Los compuestos de esta invención pueden administrarse como el único ingrediente activo o pueden administrarse en combinación con otros agentes, incluyendo otros compuestos que han demostrado la misma o similar actividad terapéutica, y que se ha determinado que son seguros y eficaces para dicha administración combinada.

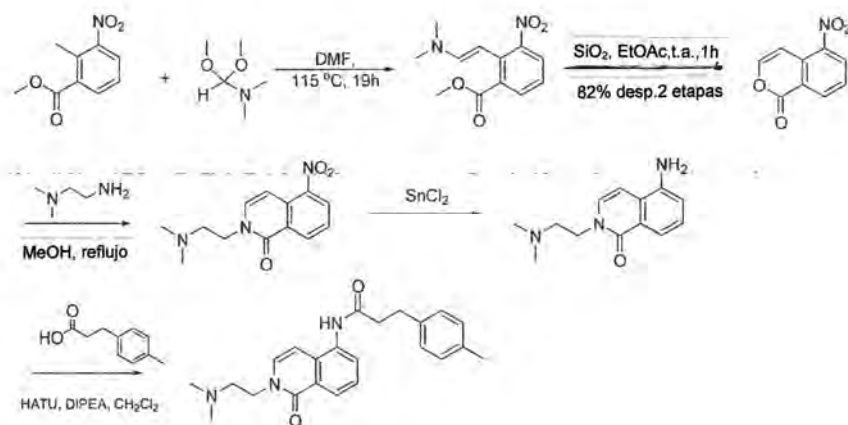
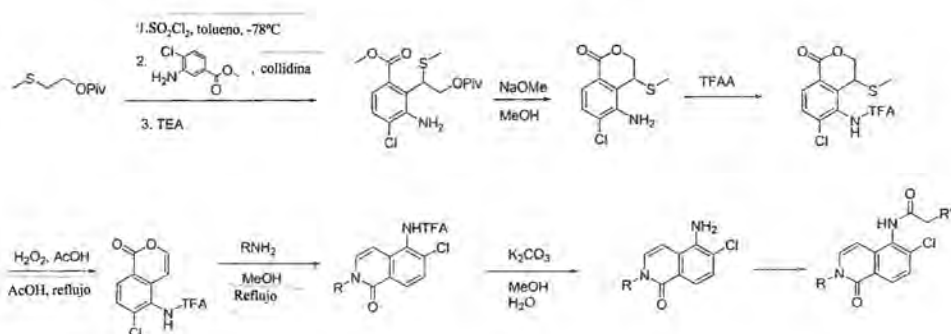
Procedimientos de síntesis generales

Los compuestos bicicloheteroarilo de esta invención pueden prepararse a partir de materiales de partida fácilmente disponibles, usando los métodos y procedimientos generales siguientes. Es de señalar que, cuando se dan condiciones de procedimiento típicas o preferidas (es decir, temperaturas de reacción, tiempos, relaciones molares, disolventes, presiones, etc.), igualmente pueden usarse otras condiciones de procedimiento, salvo que se establezca lo contrario. Las condiciones de reacción óptimas pueden variar con los reactantes o disolventes particulares usados, pero dichas condiciones pueden ser determinadas por un experto en la técnica mediante procedimientos de optimización rutinarios.

Adicionalmente, tal como resultará obvio para los expertos en la técnica, pueden ser necesarios grupos de protección convencionales para prevenir que ciertos grupos funcionales den lugar a reacciones no deseadas. La elección de un grupo de protección adecuado para un grupo funcional particular, así como las condiciones adecuadas para la protección y desprotección, son bien conocidas en la técnica. Por ejemplo, numerosos grupos de protección, y su introducción y eliminación, se describen en T.W. Greene and P.G.M. Wuts, *Protecting Groups in Organic Synthesis*, Second Edition, Wiley, New York, (1991), y referencias en él citadas.

Los esquemas siguientes se presentan con detalles para la preparación de bicicloheteroarilos representativos que han sido listados anteriormente en la presente invención. Los compuestos de la invención pueden prepararse a partir de materiales de partida y reactivos conocidos o comercialmente disponibles por un experto en la técnica de síntesis orgánica.

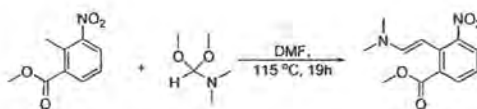
5

Esquema representativo 1**Esquema representativo 2**

en el que $R' = R^1$ y $R = -L^1-R^3$.

10 SÍNTESIS DE PRODUCTOS INTERMEDIOS**Producto intermedio 1**

Preparación de 2-(2-(dimetilamino)-vinil)-3-nitrobenzoato de (E)-metilo:

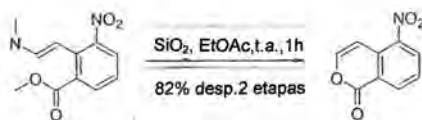


15 Se agitó una mezcla de 2-metil-3-nitrobenzoato de metilo (5,0 g, 25,6 mmol) y *N,N*-dimetilformamido dimetil acetal (9,18 g, 77 mmol) en DMF (30 ml) a 115°C, durante 17 horas. Los volátiles se eliminaron bajo presión reducida, proporcionando 2-(2-(dimetilamino)-vinil)-3-nitrobenzoato de (E)-metilo en forma de aceite de color pardo.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,68 (m, 2H), 7,07 (t, J = 7,5 Hz, 1H), 6,32 (d, J = 13,5 Hz, 1H), 5,65 (d, J = 13,5 Hz, 1H), 73,85 (s, 3H), 2,82 (s, 6H).

Producto intermedio 2

20 **Preparación de 5-nitro-1H-isocromen-1-ona:**



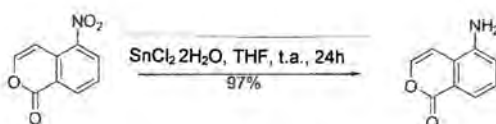
- 5 Se re-disolvió 2-(2-(dimetilamino)-vinil)-3-nitrobenzoato de (E)-metilo en EtOAc (200 ml), y se agregó gel de sílice (200 g). La suspensión resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La solución de EtOAc se separó por filtración. El gel de sílice se lavó con EtOAc (2x150 ml) y los compuestos orgánicos combinaron se evaporaron y secaron bajo presión reducida, proporcionando 5-nitro-1H-isocromen-1-ona (4,0 g, 21,0 mmol, 82% después de dos etapas), en forma de un sólido de color pardo.

RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 8,62 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 8,47 (d, J = 8,1 Hz, 1H), 7,65 (m, 1H), 7,42 (d, J = 6,3 Hz, 1H), 7,36 (d, J = 6,3 Hz, 1H). HPLC, tiempo de retención 1,72 min, gradiente de 10-100% CH₃CN, 3,5 min; ESI-MS m/z 192,1 (M+H)⁺.

- 10 Puede encontrarse información adicional en McDonald, M. C. y otros, J. Pharmacol., vol. 130, pág. 843, (2000), incorporada en la presente invención como referencia.

Producto intermedio 3

Preparación de 5-amino-1H-isocromen-1-ona

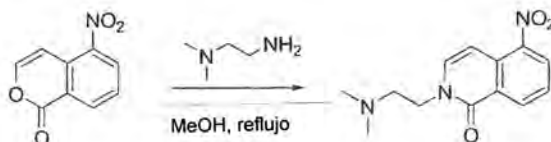


- 15 Se agregó cloruro de estaño(II) dihidrato (41,9 g, 185,7 mmol) a una solución agitada de 5-nitro-1H-isocromen-1-ona (7,1 g, 37,1 mmol) en THF anhidro (120 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla resultante se diluyó con EtOAc (400 ml) y se trató con bicarbonato sódico acuoso saturado hasta pH = 10. Se agregó agua (100 ml) y las capas se separaron. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (2x150 ml) y las fracciones orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄, se filtraron y evaporaron, proporcionando 5-amino-1H-isocromen-1-ona (5,8 g, 36,0 mmol, 97%), en forma de un sólido de color amarillo.

20 RMN-¹H (300 MHz, CDCl₃) δ 7,52 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,32 (d, J = 5,7 Hz, 1H), 7,27 (t, 7,8 Hz, 1H), 7,07 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,80 (d, J = 5,7 Hz, 1H). HPLC, tiempo de retención 1,16 min, gradiente de 10-100% CH₃CN, 3,5 min; ESI-MS m/z 162,3 (M+H)⁺. Puede encontrarse información adicional en Lee, B. S. y otros, J. Org. Chem., vol. 69, pág. 3319, (2004), incorporada en la presente invención como referencia.

- 25 **Producto intermedio 4**

Preparación de 2-(2-dimetilaminoetil)-5-nitro-2H-isoquinolin-1-ona



- 30 Se mantuvieron a reflujo 5-nitro-isocromen-1-ona (1,0 g, 5,2 mmol) y N,N-dimetil-1,2-etanodiamina (4 g, 40 mmol) en metanol (40 ml) durante 1,5 horas. Los volátiles se eliminaron mediante rotavapor y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, gradiente de 0-70% de EtOAc/CH₂Cl₂), proporcionando 2-(2-dimetilaminoetil)-5-nitro-2H-isoquinolin-1-ona en forma de un sólido de color amarillo (1,4 g, 2,4 mmol, 46%).

LC/MS (modificador de ácido fórmico al 0,1%): calculado (M+1)⁺ 261,28, observado 262,2.

RMN-¹H (CDCl₃) δ 8,77 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 8,40 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,55 (t, 8,0 Hz, 1H), 7,34-7,28 (m, 2H), 4,12 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,68 (t, J = 6,4 Hz, 2H), 2,30 (s, 6H).

- 35

Producto intermedio 5

Preparación de 5-amino-2-(2-dimetilaminoetil)-2H-isoquinolin-1-ona

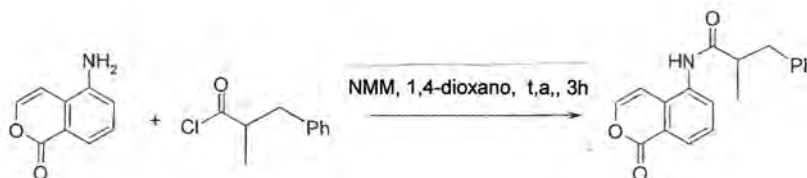


5 Se agitaron 2-(2-dimetilaminoetil)-5-nitro-2H-isoquinolin-1-ona (0,67 g, 2,6 mmol) y dicloruro de estaño dihidrato (2 g, 10 ml) en THF (10 ml) a temperatura ambiente durante 24 horas. Los volátiles se eliminaron mediante rotavapor, y el residuo se disolvió en CH₂Cl₂ (1 litro), se lavó con solución de NaHCO₃ saturada acuosa (30 ml x 3). La capa orgánica se secó sobre Na₂SO₄, se filtró y se concentró hasta sequedad, proporcionando 5-amino-2-(2-dimetilaminoetil)-2H-isoquinolin-1-ona, en forma de un sólido de color amarillo. El compuesto se usó para las etapas siguientes sin purificación adicional.

RMN-¹H (CDCl₃) δ 7,88 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,27 (t, J = 7,9, Hz, 1H), 7,08 (d, 7,6 Hz, 1H), 6,93 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 6,41 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 4,08 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,66 (t, J = 6,7 Hz, 2H), 2,29 (s, 6H).

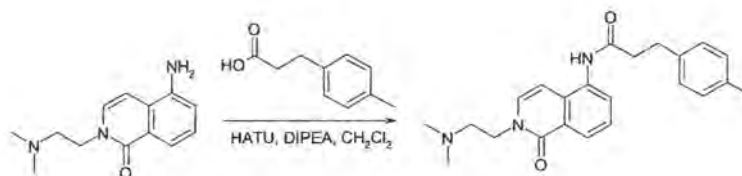
10 Producto intermedio 6

Preparación de 2-adamantan-1-il-N-(1-oxo-1H-isocromen-5-il)-acetamida:



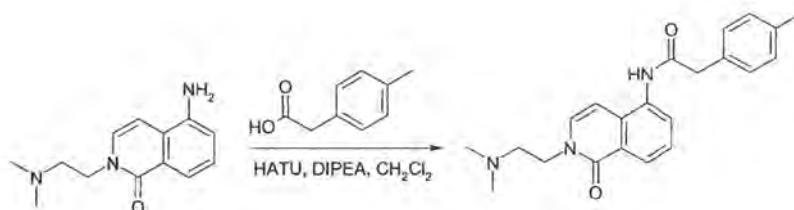
15 A una solución de 5-amino-1H-isocromen-1-ona (2,95 g, 18,3 mmol) y NMM (2,02 ml, 18,3 mmol) en 1,4-dioxano (55 ml), se agregó gota a gota a temperatura ambiente una solución de cloruro de ácido 1-metilfenilo (18,3 mmol) en 1,4-dioxano (40 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas y, a continuación, se repartió entre DCM (400 ml) y agua (200 ml). Las capas se separaron. La fase acuosa se lavó con DCM (100 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y evaporaron, proporcionando el derivado N-(1-oxo-1H-isocromen-5-il)-acetamida bruto.

Preparación de N-[2-(2-dimetilaminoetil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-3-p-tolil-propionamida:



20 Se agitaron 5-amino-2-(2-dimetilaminoetil)-2H-isoquinolin-1-ona (50 mg, 0,2 mmol), HATU (99 mg, 0,26 mmol), ácido 3-(4-metilfenil)propiónico (42 mg, 0,26 mmol) y DIPEA (110 mg, 0,86 mmol), en cloruro de metileno (3 ml) a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, gradiente 0-10% de MeOH/CH₂Cl₂), proporcionando N-[2-(2-dimetilaminoetil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-3-p-tolil-propionamida, en forma de un sólido de color blanco (31 mg, 0,08 mmol, 40%). LC/MS (modificador de ácido fórmico al 0,1%): calculado (M+)⁺ 377,48, observado 378,2. RMN-¹H (CDCl₃) δ 8,27 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,84 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,43 (t, 7,9 Hz, 1H), 7,20-7,13 (m, 4H), 7,02 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,97 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,07 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 3,07 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,77 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 2,64 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,35 (s, 3H), 2,30 (s, 6H).

Preparación de N-[2-(2-dimetilaminoetil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-p-tolil-acetamida



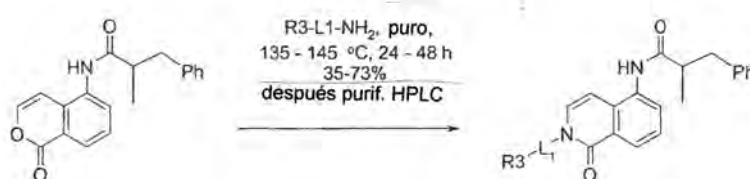
30

Se agitaron 5-amino-2-(2-dimetilaminoetil)-2H-isoquinolin-1-ona (50 mg, 0,2 mmol), HATU (99 mg, 0,26 mmol), ácido *p*-tolilacético (39 mg, 0,26 mmol) y DIPEA (110 mg, 0,86 mmol), en cloruro de metileno (3 ml) a temperatura ambiente durante 18 horas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, gradiente 0-10% de MeOH/CH₂Cl₂), proporcionando N-[2-(2-dimetilaminoetil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-2-*p*-tolil-acetamida, en forma de un sólido de color blanco (20 mg, 0,055 mmol, 27%).

LC/MS (modificador de ácido fórmico al 0,1%): calculado (M+1)⁺ 363,45, observado 364,5.

RMN-¹H (CDCl₃) δ 8,24 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,01 (d, J = 7,4 Hz, 1H), 7,46 (t, 7,9 Hz, 1H), 7,31-7,26 (m, 4H), 7,04 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,93 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,05 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 3,81 (s, 2H), 2,63 (t, J = 6,5 Hz, 2H), 2,40 (s, 3H), 2,28 (s, 6H).

10 Procedimiento representativo alternativo para la preparación de derivados N-substituidos-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-ilo



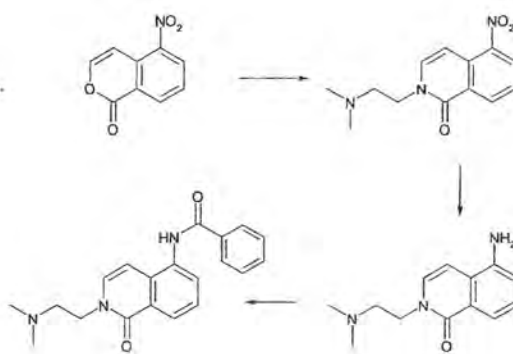
Las reacciones se llevaron a cabo usando 0,089 mmoles de la pirona un exceso de 6 veces de la amina. Todas las reacciones se monitorizaron mediante LC/MS para su terminación y, tras su terminación, se purificaron mediante HPLC preparativa usando tampón de ácido fórmico al 0,1%. Los compuestos N-L¹-R³ substituidos de esta invención, en los que L¹-R³ es tal como se ha descrito para la fórmula I, son o pueden prepararse de una manera análoga a la descrita en el Procedimiento B1, o alguna modificación del mismo, salvo que se describa de otra forma.

PROCEDIMIENTOS DE SINTESIS REPRESENTATIVOS

Procedimiento A

20 (Compuesto 1006)

N-[2-(2-dimetilamino-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-benzamida



a. 2-(2-dimetilamino-etil)-5-nitro-2H-isoquinolin-1-ona

25 Se mantuvieron a reflujo 5-nitro-isocromen-1-ona (1,83 g, 0,00957 mol) y N,N-dimetil-1,2-etanodiamina (3 g, 0,03 mol) en metanol (20 ml, 0,5 mol), durante 1 hora. Los volátiles se eliminaron mediante rotovapor. El residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, 50% de EtOAc/CH₂Cl₂), proporcionando un sólido de color amarillo claro.

MS m/z (M+ H) 262,3.

b. 5-amino-2-(2-dimetilamino-etil)-2H-isoquinolin-1-ona

30 Se disolvió 2-(2-dimetilamino-etil)-5-nitro-2H-isoquinolin-1-ona (1,10 g, 0,00358 mol) en MeOH (30 ml), se agregó Pd/C (10%) y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se filtró a través de Celite, y el disolvente se eliminó al vacío, proporcionando el producto del epígrafe, en forma de un sólido de color amarillo claro (0,82 g). MS m/z (M+H) 232,4.

c. N-[2-(2-dimetilamino-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-benzamida

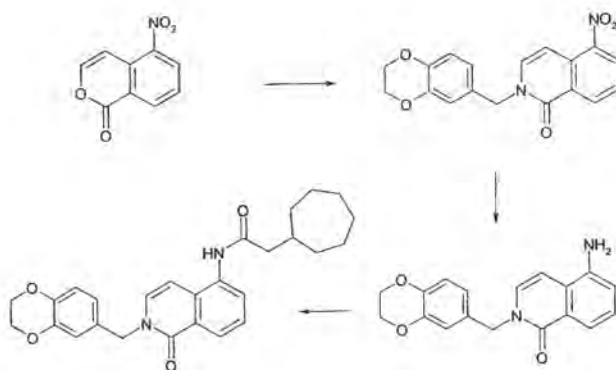
Se agitaron 5-amino-2-(2-dimetilamino-etil)-2H-isoquinolin-1-ona (50 mg, 0,0002 mol), cloruro de benzoilo (36 mg, 0,00026 mol) y N,N-diisopropiletilamina (110 mg, 0,00086 mol), en cloruro de metileno (3 ml, 0,05 mol) a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se diluyó con CH₂Cl₂ (20 ml) y la capa orgánica se separó y se lavó con NaHCO₃ (10 ml), se secó sobre Na₂SO₄, y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, 10% de MeOH/CH₂Cl₂), proporcionando el producto en forma de un sólido de color amarillo claro.

RMN-¹H (CDCl₃) δ 8,34 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 8,08 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,96-7,92 (m, 3H), 7,66-7,52 (m, 5H), 6,53 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 4,26-4,17 (m, 2H), 3,09-3,07 (m, 2H), 2,46 (s, 6H). MS m/z (M+H) 336,4.

Procedimiento B

(Compuesto 1013, no de la invención)

10 2-cicloheptil-N-[2-(2,3-dihidro-benzo[1.4]dioxin-6-ilmetil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



a. 2-(2,3-dihidro-benzo[1.4]dioxin-6-ilmetil)-5-nitro-2H-isoquinolin-1-ona

Se mantuvieron a reflujo 5-nitro-isocromen-1-ona (1,0 g, 0,0052 mol) y C-(2,3-dihidrobenczo[1.4]dioxin-6-il)metilamina (1,0 g, 0,0060 mol) en metanol (40 ml, 1 mol), durante 2 hora. El disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, 0-30% de EtOAc/hexanos), proporcionando un sólido de color amarillo.

MS m/z (M+H) 339,5.

b. 5-amino-(2,3-dihidro-benzo[1.4]dioxin-6-ilmetil)-2H-isoquinolin-1-ona

Se agitaron 2-(2,3-dihidro-benzo[1.4]dioxin-6-ilmetil)-5-nitro-2H-isoquinolin-1-ona (0,9 g, 0,002 mol) y dicloruro de estaño dihidrato (2 g, 0,009 mol) en tetrahidrofurano (10 ml, 0,1 mol), a temperatura ambiente durante 20 hora. Los volátiles se eliminaron y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, 50% de EtOAc/hexanos), proporcionando un aceite de color rojo. MS m/z (M+H) 309,4.

c. 2-cicloheptil-N-[2-(2,3-dihidro-benzo[1.4]dioxin-6-ilmetil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida

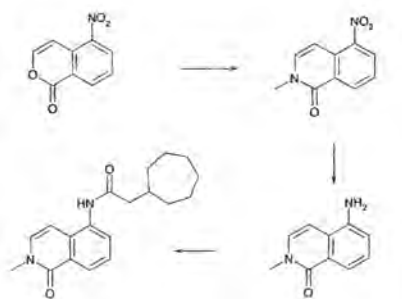
Se agitaron 5-amino-(2,3-dihidro-benzo[1.4]dioxin-6-ilmetil)-2H-isoquinolin-1-ona (50 mg, 0,0002 mol), ácido 2-cicloheptilacético (63 mg, 0,00041 mol), hexafluorofosfato de fluoro-N,N,N',N'-tetrametilformamidinio (110 mg, 0,00041 mol) y N,N-disisopropiletilamina (100 mg, 0,0008 mol), en cloruro de metileno (3 ml, 0,05 mol) a temperatura ambiente durante 72 horas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, 50% de EtOAc/hexano), proporcionando un sólido de color amarillo claro.

RMN-¹H (CDCl₃) δ 8,33 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,94 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 7,47 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,19 (br, 1H), 7,10 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,82-6,78 (m, 3H), 6,42 (d, J = 11,2 Hz, 1H), 5,09 (s, 2H), 4,14 (s, 4H), 2,35 (d, J = 7,2 Hz, 2H), 2,20-2,13 (m, 1H), 1,85-1,26 (m, 12 H).

Procedimiento C

(Compuesto 1024, no de la invención)

2-cicloheptil-N-(2-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il)-acetamida



a. 2-metil-5-nitro-2H-isoquinolin-1-ona

5 Se mantuvieron a reflujo 5-nitro-isocromen-1-ona (1,2 g, 0,0063 mol) y metilamina acuosa al 40% (10 ml, 0,09 mol) en metanol (40 ml, 1 mol), durante 1 hora. Los disolventes se eliminaron y el residuo se diluyó con CH₂Cl₂/MeOH 95:5, v/v, 100 ml), se lavó con salmuera (20 ml x 2). La capa de CH₂Cl₂ se secó sobre Na₂SO₄ y se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, 0-50% de EtOAc/hexanos), proporcionando un sólido de color amarillo. MS m/z (M+H) 204,8.

b. 5-amino-2-metil-2H-isoquinolin-1-ona

10 Se agitaron 2-metil-5-nitro-2H-isoquinolin-1-ona (0,69 g, 0,0032 mol) y dicloruro de estaño dihidrato (2 g, 0,01 mol) en tetrahidrofurano (10 ml, 0,1 mol), a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, 50% de EtOAc/hexanos), proporcionando un sólido de color pardo. MS m/z (M+H) 174,9.

c. 2-cicloheptil-N-(2-metil-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il)-acetamida

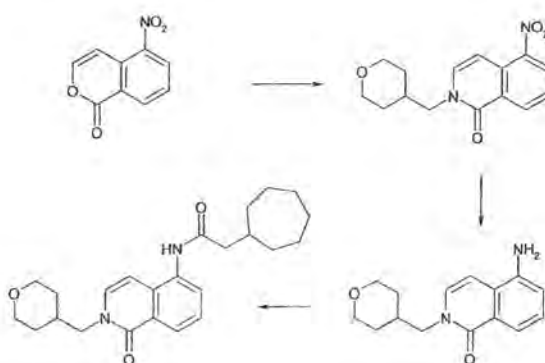
15 Se agitaron 5-amino-2-metil-2H-isoquinolin-1-ona (50 mg, 0,0003 mol), ácido 2-cicloheptilacético (90 mg, 0,0006 mol), hexafluorofosfato de fluoro-N,N,N',N'-tetrametilformamidinio (200 mg, 0,0006 mol) y N,N-disisopropiletilamina (100 mg, 0,0009 mol) en cloruro de metileno (2 ml, 0,03 mol) a temperatura ambiente durante 72 horas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, 0-50% de EtOAc/hexano), proporcionando un sólido de color amarillo.

20 RMN-¹H (CDCl₃) δ 8,31 (d, J = 7,9 Hz, 1H), 7,9-7,92 (m, 1H), 7,47 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,20 (br, 1H), 7,11 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 6,41 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 3,60 (s, 3H), 2,37 (d, J = 7,3 Hz, 2H), 2,17 (br, 1H), 1,86-1,25 (12 H).

Procedimiento D

(Compuesto 1373, no de la invención)

2-cicloheptil-N-[1-oxo-2-(tetrahidro-piran-4-ilmetil)-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



25 a. 5-nitro-2-(tetrahidro-piran-4-ilmetil)-2H-isoquinolin-1-ona

30 Se agitaron 5-nitro-isocromen-1-ona (1,0 g, 0,0052 mol) y C-(tetrahidro-piran-4-il)-metilamina (0,72 g, 0,063 mol) en 1,4-dioxano (3 ml, 0,04 mol) a 120°C, durante 18 horas. La mezcla se diluyó con EtOAc (200 ml), se lavó con HCl 1 N (30 ml x 2), salmuera (30 ml) y se secó sobre Na₂SO₄. Después de la filtración, el disolvente se eliminó y el residuo se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, 40% de EtOAc/hexanos), proporcionando un aceite de color amarillo. MS m/z (M+H) 289,1.

b. 5-amino-2-(tetrahidro-piran-4-ilmetil)-2H-isoquinolin-1-ona

Se agitaron 5-nitro-2-(tetrahidro-piran-4-ilmetil)-2H-isoquinolin-1-ona (0,78 g, 0,0027 mol) y dicloruro de estaño dihidrato (2 g, 0,01 mol) en tetrahidrofurano (10 ml, 0,1 mol) a temperatura ambiente, durante 24 horas. La mezcla se repartió entre EtOAc (100 ml) y solución de NaHCO₃ acuosa saturada, y se separó. La capa acuosa se extrajo con EtOAc (50 ml x 3). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre Na₂SO₄ y se purificaron mediante cromatografía ultrarrápida (40 g de gel de sílice, 0-100% de EtOAc/hexanos), proporcionando un aceite de color amarillo. MS m/z (M+H) 259,2.

c. 2-cicloheptil-N-[1-oxo-2-(tetrahidro-piran-4-ilmetil)-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida

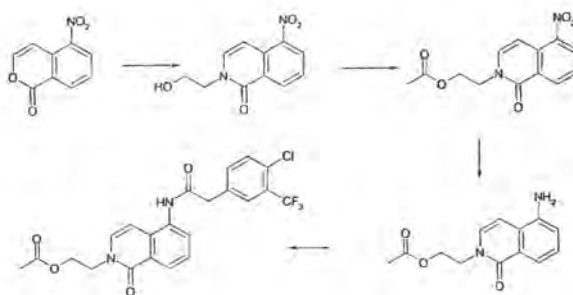
Se agitaron 5-amino-2-(tetrahidro-piran-4-ilmetil)-2H-isoquinolin-1-ona (40 mg, 0,0002 mol), ácido 2-cicloheptilacético (60 mg, 0,00041 mol), hexafluorofosfato de fluoro-N,N,N',N'-tetrametilformamidinio (110 mg, 0,00041 mol) y N,N-disisopropiletilamina (100 mg, 0,0008 mol), en cloruro de metileno (3 ml, 0,05 mol) a temperatura ambiente durante 72 horas. La mezcla se purificó mediante cromatografía ultrarrápida (12 g de gel de sílice, 0-50% de EtOAc/hexano), proporcionando un sólido de color amarillo claro.

RMN-¹H (CDCl₃) δ 8,31 (d, J = 6,9 Hz, 1H), 7,94 (d, J = 8,2 Hz, 1H), 7,49 (t, J = 8,1 Hz, 1H), 7,14 (br, 1H), 7,06 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 6,41 (d, J = 7,1 Hz, 2H), 3,99-3,95 (m, 2H), 3,87 (d, J = 7,3 Hz, 2H), 3,37-3,92 (m, 2H), 2,98-2,92 (m, 2H), 2,39-2,37 (m, 2H), 1,98-1,15 (m, 16H).

Procedimiento E

(Compuesto 1380)

Ester 2-(5-[2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il)etilico del ácido acético



20

a. 2-(2-hidroxietil)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona

Se suspendió 5-nitro-isocromen-1-ona (3,60 g, 0,0170 mol) en metanol (40 ml), se agregó etanolamina (3,11 g, 0,0508 mol) y la mezcla de reacción se agitó a 70°C durante 2 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se agregó trietilamina (5 ml). La mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante un fin de semana (2 días). El sólido así formado se separó por filtración (se obtuvo sólido de color amarillo como el producto deseado, 0,9 g). El filtrado se concentró y el residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua y salmuera, se secó sobre sulfato sódico y el disolvente se eliminó, proporcionando el producto en forma de un sólido de color amarillo (1,13 g).

25

b. Acetato de 2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilo

Se disolvió 2-(2-hidroxietil)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (2,2 g, 0,0089 mol) en la mezcla de diclorometano (20 ml) y dimetilformamida (10 ml), se agregaron N,N-disisopropiletilamina (2,33 ml, 0,0134 mol) y cloruro de acetilo (1,06 g, 0,0134 mol) y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Los volátiles se eliminaron, el residuo se lavó con agua y, a continuación, con éter dietílico, proporcionando un sólido de color amarillo claro (2,45 g). MS m/z = 276,5 (M+H).

30

c. Acetato de 2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)etil)eto

Se agitó una mezcla de acetato de 2-(5-nitro-1-oxoisoquinolin-2(1H)-il)etilo (2,45 g, 0,00842 mol) en metanol (100 ml), se agitó paladio sobre carbón vegetal (10%) bajo atmósfera de hidrógeno durante 1 hora. La mezcla se filtró a través de Celite y el disolvente se eliminó, proporcionando el producto en forma de un sólido de color amarillo claro (1,98 g). MS m/z = 248,0 (M+H).

35

d. Ester 2-(5-[2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-acetilamino]-1-oxo-1H-isoquinolin-2-il)etilico del ácido acético

Se agitó una solución de ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (131 mg, 0,000548 mol) en cloruro de tionilo a 60°C durante 1 hora. El cloruro de tionilo se eliminó y el residuo se disolvió en tetrahidrofurano (5 ml). Se agregaron

40

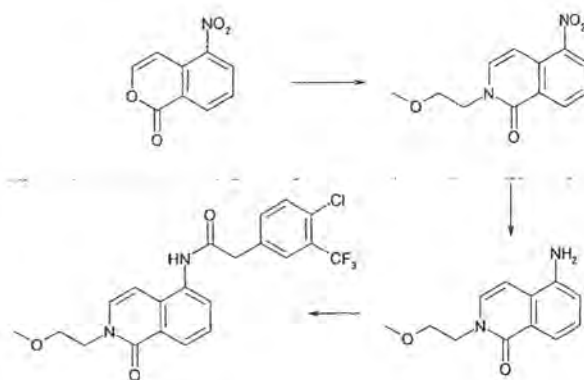
acetato de 2-(5-amino-1-oxoisoquinolin-2(1H)etil) (100,0 mg, 0,0003655 mol) y N,N-diisopropiletilamina (95,5 ul, 0,000548 mol) a las solución de THF y la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. Los volátiles se eliminaron, el residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua, HCl 2 N y salmuera. Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato sódico y se eliminó el disolvente. El residuo se purificó mediante columna, proporcionando el producto en forma de un sólido de color beige (65 mg). MS m/z = 467,0 (M+H).

RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,11 (s, 1H), 8,07 (d, J = 7,71 Hz, 1H), 7,89 (s, 1H), 7,84 (d, J = 7,71 Hz, 1H), 7,73-7,68 (m, 2H), 7,51-7,45 (m, 2H), 6,68 (d, J = 7,71 Hz, 1H), 4,33 (t, J = 5,46 Hz, 2H), 4,20 (t, J = 5,46 Hz, 2H), 3,92 (s, 2 H), 1,95 (s, 3H).

Procedimiento F

10 (Compuesto 1623)

2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-metoxi-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



a. 2-(2-metoxietil)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona

En un matraz de fondo redondo se combinaron 5-nitro-isocromen-1-ona (5,00 g, 0,0235 mol), 2-metoxietilamina (6,14 ml, 0,0706 mol) y metanol (150 ml, 3,7 mol). La mezcla se calentó a reflujo durante 1,5 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se agregó trietilamina (6,56 ml, 0,0471 mol). La mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La LC/MS mostró que el material de partida se había consumido completamente. Se agregó exceso de trietilamina y acetato de etilo y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. Se formó un precipitado de color amarillo, el cual se filtró y el filtrado se concentró, proporcionando un sólido de color amarillo. Los sólidos combinados se usaron en la etapa siguiente sin purificación adicional.

b. 5-amino-2-(2-metoxietil)isoquinolin-1(2H)-ona

En un matraz de fondo redondo de 250 ml se combinaron 2-(2-metoxietil)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (1,23 g, 0,00495 mol), paladio/C (0,05 g, 0,0005 mol) y metanol (50 ml, 1 mol). El matraz se purgó y lavó con hidrógeno dos veces y la mezcla se dejó en agitación bajo una atmósfera de hidrógeno (98 kPa) durante 2 horas. La mezcla se filtró sobre Celite y el filtrado se redujo en vacío, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un sólido de color pardo claro.

c. 2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-(1,2-dihidro-2-(2-metoxi-etil)-1-oxo-1,2-isoquinolin-5-il)-acetamida

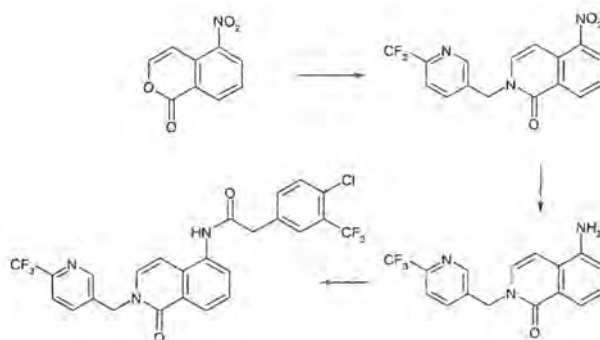
En un vial de reacción de 20 ml se combinaron 5-amino-2-(2-metoxietil)isoquinolin-1(2H)-ona (0,020 g, 0,000087 mol), ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (31 mg, 0,00013 mol), hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (81,66 mg, 0,0002148 mol), N,N-diisopropiletilamina (69,2 ul, 0,000397 mol) y N,N-dimetilformamida (1 ml, 0,02 mol). La mezcla se calentó a 40°C durante 12 horas. La reacción se dejó enfriar y se vertió en bicarbonato sódico saturado (200 ml). La mezcla se extrajo con acetato de etilo (3 x 100 ml). Los extractos combinados se secaron sobre sulfato sódico y se redujeron en vacío. El residuo remanente se purificó mediante HPLC preparativa de fase inversa, usando gradiente de acetonitrilo:agua a pH 10. Las fracciones puras combinadas se redujeron en vacío, proporcionando el compuesto en forma de un sólido de color blanquecino. LC.MS (M+H) = 439,2.

Procedimiento G

(Compuesto 1623, no de la invención)

2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-[1-oxo-2-(6-trifluorometil-piridin-3-ilmetil)-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida

40



a. 2-((6-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona

5 Se suspendieron C-(6-trifluorometil-piridin-3-il)-metilamina (1,00 g, 0,00568 mol) y 5-nitro-isocromen-1-ona (1,14 g, 0,005668 mol) en metanol (10 ml) y la suspensión se agitó a 60°C durante 3 horas. A continuación, la reacción se calentó en microondas a 100 watos a 100°C durante 60 minutos y, a continuación, a 120°C durante 30 minutos. El sólido así formado se separó por filtración, proporcionando el producto en forma de un sólido de color amarillo (1,2 g). MS m/z = 350,4 (M+H).

b. 5-amino-2-((6-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)isoquinolin-1(2H)-ona

10 Se agregó paladio sobre carbón vegetal (10%) a la solución de 2-((6-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (1,16 g, 0,00315 mol) en metanol (10 ml) y la mezcla se agitó bajo una atmósfera de hidrógeno durante 40 minutos. La mezcla se filtró a través de Celite. El filtrado se concentró y el residuo se purificó mediante columna, proporcionando el producto en forma de un sólido de color beige (0,83 g). MS m/z = 320,3 (M+H).

c. 2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-(2-((6-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)-1,2-dihidro-1-oxoisoquinolin-5-il)-acetamida

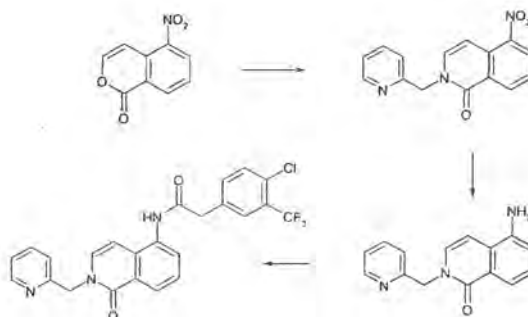
15 Se disolvió ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (142 mg, 0,000595 mol) en cloruro de tionilo (10 ml) y la mezcla se agitó a 60°C durante 3 horas. Los volátiles se eliminaron y el residuo se disolvió en tetrahidrofurano. Se agregaron 5-amino-2-((6-(trifluorometil)piridin-3-il)metil)isoquinolin-1(2H)-ona (100,0 mg, 0,0002975 mol) y N,N-diisopropiletilamina (0,104 ml, 0,000595 mol) y la mezcla se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. Se agregó metanol para interrumpir la reacción y los volátiles se eliminaron. El residuo se disolvió en acetato de etilo, se lavó con agua, solución de carbonato sódico y salmuera y se purificó mediante columna, proporcionando el producto en forma de un sólido de color beige (120 mg). MS m/z = 540,4 (M+H).

20 RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d₆) δ 10,14 (s, 1H), 8,81 (s, 1H), 8,08 (d, J = 7,89 Hz, 1H), 7,96 (d, J = 8,11 Hz, 1H), 7,89-7,85 (m, 2H), 7,76 (d, J = 7,57 Hz, 1H), 7,71 (s, 2H), 7,49 (t, J = 8,03 Hz, 1H), 6,77 (d, J = 7,83 Hz, 1H), 5,32 (s, 2H), 3,93 (s, 2H).

25 **Procedimiento H**

(Compuesto 1628, no de la invención)

2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-[1-oxo-2-piridin-2-ilmetil]-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



a. 5-nitro-2-(piridin-2-il)isoquinolin-1(2H)-ona

30 En un vial de microondas se combinaron 5-nitro-isocromen-1-ona (1 g, 0,005 mol), 2-piridinometanamina (1 g, 0,009 mol) y metanol (20 ml, 0,5 mol). La mezcla se calentó a 150°C durante 2 horas. La mezcla se enfrió a temperatura

ambiente. La manipulación usual de la mezcla de reacción proporcionó un producto bruto, el cual, a continuación, se purificó usando cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice, proporcionando el producto puro en forma de un sólido de color amarillo (0,7 g). MS m/z = 282,4 (M+1).

b. 5-amino-2-(piridin-2-ilmetil)isoquinolin-1(2H)-ona

- 5 En un matraz de fondo redondo se combinaron 5-nitro-2-(piridin-2-ilmetil)isoquinolin-1(2H)-ona (0,7 g, 0,002 mol), paladio/C (0,05 g, 0,0005 mol) y metanol (200 ml, 5 mol). La mezcla de reacción se agitó bajo atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 40 minutos. La mezcla se filtró sobre Celite y se eliminó el MeOH, proporcionando el sólido (0,46 mg). MS m/z = 252,4 (M+1). RMN-¹H (DMSO) δ 8,49 (d, J = 4,3 Hz, 1H), 7,74 (td, J = 7,7, 1,6 Hz, 1H), 7,42 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 7,27 (dd, J = 6,9, 5,0 Hz, 1H), 7,22-7,12 (m, 2H), 6,88 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 6,80 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 5,69 (s, 2 H), 5,23 (s, 2H).

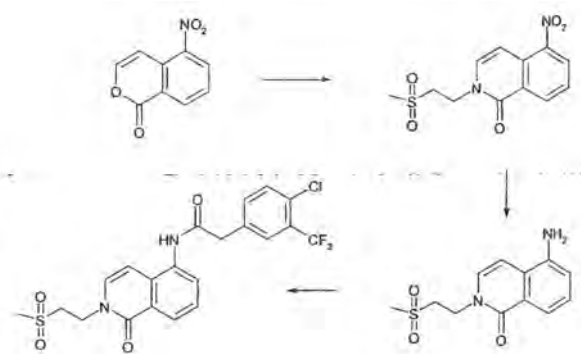
c. 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)-N-(1-oxo-2-(piridin-2-ilmetil)-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il)-acetamida

- 15 A una solución de 5-amino-2-(piridin-2-ilmetil)isoquinolin-1(2H)-ona (100,0 mg, 0,4 mmol) en N,N-dimetilformamida (0,7 ml, 0,009 mol), se agregó ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (190 mg, 0,000796 mol), hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (303 mg, 0,000796 mol) y N,N-diisopropiletamina (277 ul, 0,00159 mol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 50°C. Mediante LC/MS se comprobó que la reacción se había completado. La solución de reacción en DMF se aplicó directamente a HPLC preparativa, proporcionando el producto puro (134 mg). MS m/z = 472,3 (M+1). RMN-¹H (DMSO) δ 10,13 (s, 1H), 8,48 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 8,06 (d, J = 7,9, 1H), 7,90 (s, 1H), 7,84 (d, J = 7,1 Hz, 1H), 7,76 (td, J = 7,7, 1,8 Hz, 1H), 7,75-7,68 (m, 2H), 7,63 (d, J = 7,7 Hz, 1H), 7,47 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,32-7,22 (m, 2 H), 6,73 (d, J = 7,6 Hz, 2H), 3,93 (s, 2H).

20 Procedimiento J

(Compuesto 1630)

2-(4-cloro-3-trifluorometil-fenil)-N-[2-(2-metanosulfonil-etil)-1-oxo-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



a. 2-(2-metilsulfonil)etil)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona

- 25 En un matraz de fondo redondo se combinaron 5-nitro-isocromen-1-ona (1,5 g, 0,0071 mol), hidrocloreto de 2-(metilsulfonil)etanamina (2,2 g, 0,014 mol) y metanol (45 ml, 1,1 mol). La mezcla se calentó a reflujo durante 1,5 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se concentró, proporcionando un sólido de color amarillo. El sólido se usó en la etapa siguiente sin purificación adicional.

b. 5-amino-2-(2-metilsulfonil)etil)isoquinolin-1(2H)-ona

- 30 En un matraz de fondo redondo de 250 ml se combinaron 2-(2-metilsulfonil)etil)-5-nitroisoquinolin-1(2H)-ona (1,20 g, 0,00405 mol), Paladio/C (0,04 g, 0,0004 mol) y metanol (40 ml, 1 mol). En el matraz se hizo el vacío y purgó con hidrógeno tres veces. La mezcla se agitó a temperatura ambiente bajo hidrógeno (98 kPa) durante tres horas. La mezcla se filtró sobre Celite y el filtrado se redujo en vacío. La mezcla se purificó mediante cromatografía de columna usando un gradiente metanol/cloruro de metileno (010%). Las fracciones puras combinadas se redujeron en vacío, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un sólido de color blanquecino.

c. 2-(4-cloro-3-(trifluorometil-fenil)-N-(2-(2-(metilsulfonil)-etil)-1-oxo-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)acetamida

- 40 A una solución de 5-amino-2-(2-metilsulfonil)etil)isoquinolin-1(2H)-ona (30 mg, 0,0001 mol) en N,N-dimetilformamida (700 µl, 0,009 mol), se agregó ácido 2-(4-cloro-3-(trifluorometil)fenil)acético (51 mg, 0,00021 mol), hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (102 mg, 0,000268 mol) y N,N-diisopropiletamina (93 µl, 0,00054 mol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 50°C. El análisis mediante LC/MS mostró la formación del producto deseado. La muestra se recogió en solución de NaHCO₃ saturado y se lavó dos veces con acetato

de etilo. La capa orgánica se secó sobre sulfato sódico, se redujo en vacío y se purificó mediante HPLC, proporcionando el compuesto del epígrafe en forma de un sólido de color blanco.

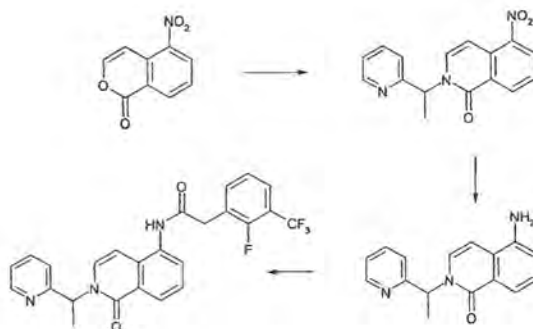
RMN-¹H (400 MHz, DMSO-d) δ 10,10 (s, 1H), 8,08 (d, J = 7,96 Hz, 1H), 7,86 (m, 2H), 7,71 (m, 2H), 7,55 (d, J = 7,73 Hz, 1H), 7,47 (t, J = 7,85 Hz, 1H), 6,70 (d, J = 7,73 Hz, 1H), 4,36 (t, J = 6,90 Hz, 2H), 3,92 (s, 2 H), 3,60 (m, 2H), 3,06 (s, 3H).

5

Procedimiento K

(Compuesto 1633, no de la invención)

2-(2-fluoro-3-trifluorometil-fenil)-N-[1-oxo-2-(1-piridin-2-il-etil)-1,2-dihidro-isoquinolin-5-il]-acetamida



10 a. 5-nitro-2-(1-piridin-2-il)etilisoquinolin-1(2H)-ona

En un vial de microondas se combinaron 5-nitro-isocromen-1-ona (1 g, 0,005 mol), 1-piridin-2-il-etilamina (1 g, 0,009 mol) y metanol (20 ml, 0,5 mol). La mezcla se calentó a 150°C durante 2 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente. La LC/MS mostró que el material de partida se había consumido completamente. Después de columna de gel de sílice, se obtuvo un sólido de color amarillo. MS m/z = 295,9 (M+1).

15 b. 5-amino-2-(1-piridin-2-il)etilisoquinolin-1(2H)-ona

En un matraz de fondo redondo se combinaron 5-nitro-2-(1-piridin-2-il)etilisoquinolin-1(2H)-ona (0,85 g, 0,0029 mol), Paladio/C (0,05 g, 0,0005 mol) y metanol (200 ml, 5 mol). La mezcla de reacción se agitó bajo atmósfera de hidrógeno a temperatura ambiente durante 40 minutos. La mezcla se filtró sobre Celite y se eliminó el MeOH, proporcionando el sólido (0,54 g). MS m/z = 266,0 (M+1). RMN-¹H (DMSO) δ 8,55 (d, J = 4,8 Hz, 1H), 7,77 (td, J = 7,7, 1,8 Hz, 1H), 7,44 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,35-7,25 (m, 3H), 7,17 (t, J = 7,8 Hz, 1H), 6,95-6,85 (m, 1H), 6,78 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,28 (q, J = 7,2 Hz, 1H), 5,66 (s, 2 H), 1,75 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

20

c. 2-(2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)-N-(1-oxo-2-(1-piridin-2-il)-etil)-1,2-dihidroisoquinolin-5-il)-acetamida

A una solución de 5-amino-2-(1-piridin-2-il)etilisoquinolin-1(2H)-ona (100 mg, 0,0004 mol) en N,N-dimetilformamida (1 ml, 0,01 mol), se agregó ácido 2-(2-fluoro-3-(trifluorometil)fenil)acético (178 mg, 0,000801 mol), hexafluorofosfato de N,N,N',N'-tetrametil-O-(7-azabenzotriazol-1-il)uronio (468,3 mg, 0,001232 mol) y N,N-diisopropiletilamina (300 ul, 0,002 mol). La mezcla de reacción se agitó durante 16 horas a 50°C. El análisis mediante LC/MS mostró que la reacción se había completado. La solución de reacción en DMF se aplicó directamente a HPLC preparativa. El producto final se obtuvo en forma un sólido (102,4 mg). MS m/z = 470,3 (M+1). RMN-¹H (DMSO) δ 10,17 (s, 1H), 8,54 (d, J = 6,4 Hz, 1H), 8,10 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,82 (dd, J = 7,8, 0,7 Hz, 1H), 7,78 (td, J = 9,5, 1,8 Hz, 2H), 7,70 (t, J = 7,1 Hz, 1H), 7,55 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 7,48 (t, J = 7,9 Hz, 1H), 7,40 (t, J = 7,7, 1H), 7,35 (d, J = 8,0 Hz, 1H), 7,31 (qd, J = 4,8, 0,9 Hz, 1H), 6,74 (d, J = 7,8 Hz, 1H), 6,28 (q, J = 7,2 Hz, 1H), 3,98 (s, 2 H), 1,78 (d, J = 7,2 Hz, 3H).

30

Ejemplo 1

El receptor P2X₇ está fuertemente expresado en líneas de células derivadas de macrófagos, que incluyen, pero no limitadas a ellas, J774 (línea macrófaga de ratón, American Type Culture Collection (ATCC), Rockville, MD, ATCC TIB-67), P388 (línea de células de ratón, ATCC CCL-46), PB15 (línea derivada de mastocitoma de célula mastocito de ratón, ATCC TIB-64), THP-1 (línea de células derivada de monocito humano, ATCC TIB202) y U937 (línea de células humanas derivada de linfoma histiocítico, inducible a diferenciación monocítica, ATCC CRL-1593.2) y en cultivos macrófagos aislados. Los macrófagos animales humanos y no humanos se asilaron usando el procedimiento indicado más adelante.

35

El receptor P2Z/P2X₇ puede caracterizarse midiendo la abertura del canal, por ejemplo flujo de iones, y/o mediante la evaluación de la formación de poro, incluyendo mediante la monitorización de la fijación de colorante o mediante lisis de células en células que expresan de manera natural este receptor. Los compuestos tales como ATP, 2'- y 3'-(O)-(4-benzoil benzoilo) ATP (BzATP) logran la formación de poros en la membrana de plasma de estas células,

40

particularmente a concentraciones de ion divalentes extracelular bajas (Buisman y otros, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, vol. 85, pág. 7988, (1988); Zambon y otros, Cell. Immunol. vol. 156, pág. 458, (1994); Hickman y otros, Blood, vol. 84, pág. 2452, (1994)). Los colorantes de gran tamaño molecular, incluyendo el colorante YO-PRO-1, pueden observarse como entran en las líneas de células derivadas de macrófagos durante los registros de células (Hickman y otros, Blood, vol. 84, pág. 2452, (1994); Wiley y otros, J. Pharmacol. vol. 112, pág. 946, (1994); Steinberg y otros, J. Biol. Chem., vol. 262, pág. 8884, (1987). El bromuro de etidio (una sonda de ADN fluorescente) puede igualmente monitorizarse, cuando se observa un incremento en la fluorescencia de bromuro de etidio unido a ADN intracelular. La expresión de P2X₇ de rata o de ser humano recombinante en células, incluyendo células HEK293, y en oocitos de Xenopus, demuestra el flujo y formación de poro mediante los registros de células enteras y fluorescencia de YO-PRO-1 (Suprenant y otros, Science, vol. 272, pág. 735, (1996); Rassendren y otros, J. Biol. Chem., vol. 272, pág. 5482, (1997)).

Los compuestos de la invención pueden ensayarse para determinar la actividad antagonista en el receptor P2X₇. Los ensayos a realizar incluyen y están seleccionados entre: (i) experimentos electrofisiológicos; (ii) fluorescencia con YO-PRO-1; (iii) fluorescencia con bromuro de etidio; y (iv) liberación de IL-1 β a partir de macrófagos estimulados, que se incluyen tal como se describen más adelante. Los compuestos pueden ensayarse *in vivo* o en modelos animales, que incluyen para modelos de inflamación (por ejemplo, modelo de edema de garra, artritis inducida por colágeno, modelo EAE de MS).

Aislamiento de macrófagos humanos

Los cultivos macrófagos de animales humanos o no humanos derivados de monocitos, se prepararon tal como se describe por Blanchard y otros (Blanchard y otros, Cell Biochem., vol. 57, pág. 452, (1995); Blanchard y otros, J. Immunol., vol. 147, pág. 2579, (1991). En resumen, se aislaron monocitos a partir de concentrados de leucocitos obtenidos a partir de un voluntario sano. Los leucocitos se suspendieron en medio RPMI 1460 (Life Technologies, Inc.) con suero al 20% (humano para células humanas), glutamina 2 mM, HEPES 5 mM, y 100 μ g/ml de estreptomina. Las células se dejaron adherir a matraces de cultivo durante 1-2 horas, después de lo cual las células no adherentes se separaron por lavado. Las células adherentes se cultivaron durante 7-14 días en este medio más interferón- γ (humano para células humanas) (1000 unidades/ml). Los macrófagos se recuperaron a partir del matraz de cultivo mediante pipeteado con solución salina tamponada con fosfato fría y se sembraron sobre portaobjetos de cristal para experimentos electrofisiológicos u otros experimentos llevados a cabo 12-24 horas después.

Ejemplo 2

Experimentos electrofisiológicos

Se hicieron registros de células enteras usando el amplificador de pinza de parche EPC9 y programas de adquisición de Pulsos (HEKA, Lambrecht, Alemania). Los registros de célula entera se obtuvieron a partir de células, por ejemplo, células J774A.1 (American Type Culture Collection, Rockville, MD, ATCC TIB-67)); se aplicaron agonistas para periodos de 1 a 3 segundos mediante sistema de suministro en tubo U de flujo rápido [E.M. Fenwick, A. Marty, E. Neher, J. Physiol. (London), vol. 331, pág. 577, (1982)]. La solución de pipeta interna es de aspartato de cesio o aspartato potásico 140 mM, NaCl 20 mM, EGTA 10 mM, y Hepes 5 mM; la solución externa normal es NaCl 145 mM, KCl 2 mM, CaCl₂ 2 mM, MgCl₂ 1 mM, Hepes 10 mM, y glucosa 12 mM. La solución externa divalente baja está nominalmente libre de magnesio con CaCl₂ 0,3 mM. Las curvas de concentración-respuesta se construyeron en solución divalente baja mediante el registro de las corrientes en respuesta a aplicaciones de 1 segundo de agonista a intervalos de 8 minutos con solución externa normal presente durante 6 minutos antes de la aplicación. Este protocolo es necesario para evitar el desarrollo de corrientes interiores sostenidas.

Los potenciales inversos (E_{rev}) se obtuvieron mediante la aplicación de ATP (300 μ M) o BzATP (30 μ M) (controles), o el compuesto a ensayar, en tanto que la membrana se mantuvo a varios potenciales o mediante la aplicación de rampas de voltaje de desde -120 hasta 30 ó 50 mV. Las relaciones de permeabilidad se calcularon a partir de E_{rev} , computando en primer lugar α ($= P_{Na}/P_K$, en donde P es la permeabilidad para concentraciones interna (i) o externa (o) $[Na]_i = 20$ mM, $[Na]_o = 145$ mM, $[K]_o = 0$ mM y $[K]_i = 140$ mM, desde $\alpha = ([145/\exp(E_{rev}F/RT)] - 20)/140$ (en donde F es el Faraday, R es la constante del gas, y T es la temperatura absoluta). Otros valores P_X/P_{Na} , cuando $[X]_o = 145$ mM, $[Na]_i = 20$ mM, $[K]_i = 140$ mM, y $[Na]_o = [K]_o = [X]_i = 0$ mM, se computaron a partir de $P_X/P_{Na} = [(exp)E_{rev}F/RT]$ ($20 + 140\alpha$)/145. En orden de tamaño, X es cesio, metilamina, tris(hidroximetil)-aminometano, tetraetilamonio, y N-metil-D-glucamina. La solución interna contiene igualmente EGTA 10 mM y Hepes 5 mM. Las soluciones externas contienen igualmente glucosa 10 mM y concentraciones normales o bajas de cationes divalentes; pH se mantuvo a 7,3 con HCl, histidina, o Hepes, según se requirió, y la osmolalidad de todas las soluciones es de 295 a 315.

Ejemplo 3

Fluorescencia de YO-PRO1

Se usó el sistema Photonics Imaging (IDEA) para mediciones de fluorescencia microscópica (Photonics, Planegg, Alemania). Los portaobjetos se colocaron en el soporte de un Zeiss Axiovert 100 o microscopio invertido equivalente y se observaron bajo inmersión en aceite con un objetivo de 40X Fluor. Se agregó YO-PRO-1 (10 μ M; Molecular Probes, Eugene, OR) al fluido de superfusión durante los registros electrofisiológicos 3 a 6 minutos antes de cambiar

a solución divalente baja y se lavaron después de volver a cambiar a solución divalente normal, después de los cual la lámpara fluorescente se encendió y las células se examinaron con un filtro de isotiocianato de fluoresceína. La fluorescencia de YO-PRO-1 se midió usando longitudes de onda de excitación/emisión de 491/509 nm. Se obtuvieron imágenes a intervalos de 5-20 segundos durante la superfusión continua (2 ml/min) con YO-PRO-1 y concentraciones variables de ATP, BzATP de control o del compuesto a ensayar. Para cada experimento, se obtuvo la fluorescencia de YO-PRO-1 en el transcurso del tiempo para 10-20 células individuales y, a continuación, se promedió para obtener la señal de fluorescencia media. Los resultados se expresaron como señal media a los 3 minutos para rP2X₇, y la señal a los 10 minutos se usó para P2X₇ y células macrófagas humanas. Todos los experimentos se llevaron a cabo a temperatura ambiente.

10 **Ejemplo 4**

Bromuro de etidio

Los compuestos de la invención se ensayaron para determinar la actividad antagonista al receptor P2X₇, mediante monitorización de células que expresan el receptor P2X₇ admiten bromuro de etidio durante la formación del poro. El ensayo se realizó en placas de microvaloración de fondo plano de 96 pocillos, estando los pocillos provistos de 250 µl de solución de ensayo, que comprende 200 µl de una suspensión de células que expresan P2X₇ (por ejemplo, células THP-1, células J774, etc.) (2,5x10⁶ células/ml) conteniendo bromuro de etidio 10⁻⁴ M, 25 µl de una solución tampón alta en potasio conteniendo BzATP 10⁻⁵ M, y 25 µl de una solución tampón alta en potasio conteniendo el compuesto de ensayo. La placa se cubrió con una lámina de plástico y se incubó a 37°C durante una hora. A continuación, la placa se leyó en un lector de placas fluorescentes Perkin-Elmer, con 520 nm de excitación, a 595 nm de emisión, anchuras de rendija: Ex 15 nm, EM 20 nm. Con fines de comparación, se usaron de manera separada en el ensayo, como controles, BzATP (un agonista del receptor P2X₇) y piridoxal 5-fosfato (un agonista del receptor P2X₇). A partir de las lecturas obtenidas, se calculó un valor pIC₅₀ para compuesto de ensayo. Este valor es el logaritmo negativo de la concentración del compuesto de ensayo necesario para reducir la actividad del agonista BzATP al 50%.

25 **Ejemplo 5**

Liberación de IL-1β

Este ejemplo demuestra el ensayo para determinar la eficacia de los compuestos de esta invención como inhibidores de la liberación mediada por P2X₇ de IL-1β, a partir de macrófagos humanos activados por el péptido 1-42 beta amiloide de Alzheimer.

30 Aislamiento de células

Se aislaron monocitos procedentes de células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) tal como sigue. La sangre entera se depositó en capas directamente sobre columnas Histopak 1077-1 (Sigma Biochemicals) y se centrifugó a 800xg durante 15 minutos. La banda de células PBMC se separó a un tubo de cultivo reciente de 50 ml y se diluyó 1:1 con tampón de lavado (solución salina tamponada de fosfato, pH 7,4 conteniendo EDTA 2 mM y 5 mg/ml de BSA), seguido de centrifugación a 800xg durante 5 minutos. A continuación, las células se lavaron mediante resuspensión secuencial del gránulo de células en tampón de lavado y centrifugación a 600xg durante 5 minutos. El procedimiento de lavado se repitió hasta que el sobrenadante estaba limpio de plaquetas contaminantes (generalmente, 5 a 6 lavados). A continuación, los monocitos se purificaron de las PBMCs mediante selección negativa usando un juego de aislamiento de monocitos (Miltenyi Biotec, Inc.) que contiene anticuerpos a las células no-monocíticas, vertiendo las células sobre una columna magnética para eliminar las células unidas a anticuerpos, y recogiendo el volumen de paso de flujo de monocitos. Los monocitos se lavaron una vez con tampón de lavado y se sembraron a 100.000 células por pocillo en 100 µl de RPMI 1640 libre de suero, en placas de 96 pocillos, y se incubaron durante 1 hora a 37°C en una incubadora de cultivo de tejidos humidificada al 95%/5% CO₂. Después de 1 hora, el medio se reemplazó con 100 µl de medio de cultivo completo (RPMI 1640, suero humano tipo AB al 10% (térmicamente inactivado), HEPES 25 mM, glutamina 2 mM, 50 U/ml de cada uno de penicilina y estreptomina) y se incubó durante una noche (16 horas).

Régimen de dosificación

Al día siguiente, el medio de cultivo se reemplazó con 100 µl de medio de cultivo completo reciente, en la ausencia o la presencia de péptido 1-42 beta amiloide humano (5 µM) y se incubó a 37°C en una incubadora de cultivo de tejidos humidificada al 95%/5% CO₂ durante 5 horas. A continuación, se retiró el medio y se descartó. Cada pocillo se lavó una vez con solución salina tamponada de Hanks (HBSS) conteniendo CaCl₂ 1 mM, seguido por la adición de 80 µl de compuesto de inhibición de HBSS/CaCl₂ de la presente invención (solución madre 10x en HBSS/CaCl₂ para una concentración final de 23 nM y 206 nM) y se incubó durante 15 minutos en la incubadora de cultivo de tejidos, seguido de la adición de, o bien 10 µl de HBSS/CaCl₂, o bien 10 µl de benzoil ATP (BzATP); solución madre 3 mM en HBSS/CaCl₂ para una concentración final de 300 µM) y se incubó durante otros 30 minutos en la incubadora de cultivo de tejidos. A continuación, se retiró el medio a nuevas placas de 96 pocillos para almacenamiento a -70°C hasta que el contenido en IL-1β se cuantificó mediante ELISA (de R&D Systems). Las células se lavaron una vez con HBSS/CaCl₂, seguido de lavado de las células con 100 µl de tampón de lisis enfriado en hielo (Tris 100 mM, pH

7,6, Tritón X-100 al 1%, y 1 comprimido por cada 30 ml de inhibidor de proteasa Complete TM de Roche Biochemicals, Inc.). Los lisados de células se almacenaron a -70°C hasta que el IL-1 β se cuantificó mediante ELISA.

Ejemplo 6

Modelos animales *in vivo*

5 **A. Este ejemplo ilustra la eficacia de los compuestos de esta invención en el tratamiento de la esclerosis múltiple**

Tal como se describe en la presente invención, se usó el modelo de encefalomiелitis autoinmune experimental (EAE) para mostrar su eficacia. Los procedimientos siguientes se usaron en este modelo.

Animales

10 Ratones hembra SJL/J, de 8 semanas de edad, obtenidos de Jackson Laboratories.

Antígenos

La proteína proteolípida de mielina (PLP 139-151) (HSLGKWLGHDPKF) (Cat # H-2478) se obtuvo de BACHEM, Bioscience, Inc., 3700 Horizon Dr., King of Prussia, Pa, 19406, 1-610-239-0300 (tf.), 1-610-239-0800 (fax).

15 El adyuvante de Freund completo H37 Ra [1 mg/ml de Mycobacterium Tuberculosis H37 Ra] se obtuvo de Difco 1-800-521-0851 (Cat # 3114-60-5, 6x10 ml).

El Mycobacterium Tuberculosis se obtuvo igualmente de Difco, 1-800-521-0851 (Cat # 3114-33-8, 6x100 mg).

Toxina pertussis

La Bordetella Pertussis (polvo liofilizado conteniendo PBS y lactosa), se obtuvo de List Biological Laboratories, 1-408-866-6363 (Product # 180, 50 ug).

20 Inducción de EAE en ratones

El péptido PLP139-151 se disolvió en solución de H₂O:PBS (1:1) hasta una concentración de 7,5 mg/10 ml (para 75 μ g de PLP por grupo) y se emulsificó con un volumen igual de CFA suplementada con 40 mg/ml de micobacterio de la tuberculosis térmicamente muerto H37Ra. Los ratones se inyectaron s.c. con 0,2 ml de emulsión de péptido en el flanco abdominal (0,1 ml sobre cada lado). El mismo día y 72 horas después, los ratones se inyectaron i.v. con 100% de 35 ng y 50 ng de toxina Bordetella Pertussis, en solución salina, respectivamente.

25 Evaluación clínica

FASE 0: Normal

FASE 0.5: Cola flácida parcial

FASE 1: Cola flácida completa

30 FASE 2: Reflejo de corrección inadecuado

FASE 2.5: Se retarda el reflejo de corrección (No lo suficiente débil para ser la Fase 3)

FASE 3: Parálisis parcial del miembro posterior

FASE 3.5: Una pierna está completamente paralizada, y una pierna está parcialmente paralizada

FASE 4: Parálisis completa del miembro posterior

35 FASE 4.5: Las piernas están completamente paralizadas y moribundo.

FASE 5: Muerte debida a EAE

Cursos clínicos de la EAE

Fase aguda: Primer episodio clínico (Día 10-18)

40 Remisión: Fase de mejora clínica seguida de un episodio clínico; caracterizado por una reducción (\geq un grado) en la valoración clínica durante al menos dos días después de la valoración pico de la fase aguda o una recaída de la enfermedad.

Recaída: Incremento de al menos un grado en la valoración clínica durante al menos dos días después de haberse alcanzado la remisión.

Los animales tratados con los compuestos de esta invención era de esperar que generalmente mostraran mejoras en las valoraciones clínicas.

5 **B. Este ejemplo ilustra un protocolo para determinar la eficacia de los compuestos de la presente invención para el tratamiento de la apoplejía usando un modelo animal.**

10 Ratas macho Sprague Dawley (Charles River), con pesos de 280-320 g, se dejaron con libre acceso a alimento y agua y se aclimataron durante un mínimo de 4 días antes de su uso en experimentos. Todas las ratas para uso en estudios se dejaron en ayunas a las 3:00 de la tarde del día antes de la cirugía, pero se les permitió libre acceso al agua. Antes de la cirugía, cada rata se pesó. La rata se indujo inicialmente con isoflurano al 5% (Aerrane, Fort Dodge), combinado con O₂ al 30%, N₂O al 70% durante 2-5 minutos. A continuación, la rata se colocó sobre una alfombra de calentamiento con agua en circulación y dentro de un cono nasal para respiración espontánea de gases anestésicos. El isoflurano se redujo al 2%. Se insertó una sonda rectal y la temperatura corporal se mantuvo a 36,5-37,5°C. En todos los sitios quirúrgicos se rapó el pelo y, a continuación, estas regiones se restregaron con Betadine.

15 Procedimiento quirúrgico

Se colocó una sonda del músculo temporalis dentro del músculo temporalis derecho y se monitorizó la "temperatura del cerebro". Se hizo una incisión en la línea media del cuello en el tórax superior de la rata. Se hizo la disección, aislamiento y retracción cuidadosa de los músculos esternomastoideo, digástrico y esternoiideo, para exponer las arterias carótidas común, interna y externa derecha. La arteria carótida común derecha se aisló con una sutura de seda 5-0. Durante la cirugía, la sutura se liberó permitiendo la reperusión cada 2-4 minutos. Igualmente, se aislaron la carótida externa derecha y las arterias tiroideas superiores y el tiroide superior se cauterizó, en tanto que la carótida externa se ligó distalmente con sutura de seda 5-0. Otra sutura de seda 5-0 se ató flojamente alrededor de la arteria carótida externa. La arteria occipital se aisló, se ligó y se le hizo una incisión. La carótida interna se aisló.

25 Con las arterias carótidas común y externa inmovilizadas, se colocó un clip de aneurisma sobre la arteria carótida interna. Se hizo una pequeña incisión en el extremo distal de la carótida externa. A continuación, se insertó una sutura de nailon 3-0 recubierta con poli-lisina dentro de la carótida externa y en la arteria carótida común. La sutura de seda 5-0 atada flojamente alrededor de la carótida externa se apretó ahora suavemente alrededor del filamento. A continuación, se hizo una incisión en la arteria carótida externa y la pieza restante de la arteria carótida externa con el filamento se giró de manera que el filamento pudiera insertarse dentro de la arteria carótida interna, dependiendo la longitud de la inserción del peso y la estirpe de la rata. En ratas Sprague Dawley, el filamento se insertó 30 18-19 mm (18 mm para ratas con pesos <300 g, 19 mm para ratas con pesos ≥0,300 g) bloqueando de manera efectiva el flujo sangre a la arteria cerebral media.

La vena yugular externa se canuló con entubado PE 50 para administración I.V. de los compuestos. La cánula se exteriorizó en el pescuezo, previamente afeitado, del cuello y se suturó in situ. El vendaje se cerró mediante sutura. 35 La arteria femoral derecha se cateterizó para la determinación de gas en sangre y glucosa, durante la cirugía.

Dos horas después de la inserción de la sutura monofilamento, las ratas se re-anestesiaron con la misma combinación anestésica usada inicialmente y se colocaron de nuevo dentro del cono nasal con la reducción de la concentración de isoflurano al 2%. La incisión del cuello se reabrió para exponer la arteria carótida externa. La restauración del flujo de sangre se llevó a cabo retirando completamente la sutura intraluminal de las arterias carótidas. A continuación, la incisión se cerró con seda 3-0 en una sutura discontinua. 40

Administración del compuesto

Se sometieron cinco grupos de 15 animales a la metodología anterior. Los compuestos se infundieron (I.V.) a varias dosis (respuesta a la dosis) durante diferentes periodos de tiempo post MCAo. Se infundió una concentración predeterminada durante un periodo de tiempo seleccionado, comenzando a diversos intervalos post MCAo. Los controles tratados con vehículo recibieron una infusión de normalmente 0,9 ml/h. Al mismo tiempo se aplicó un compuesto de control positivo. 45

Ensayos neurológicos

Antes de la cirugía, 2 horas después del inicio de la isquemia y 24 horas después de la isquemia, se llevó a cabo una batería de ensayos neurológicos. El ensayo reflejo postural, el cual está diseñado para examinar la postura del cuerpo superior, cuando la rata está suspendida por la cola encima de una superficie plana. Una rata normal extiende el cuerpo entero y ambos miembros delanteros hacia la superficie. Las ratas con infarto flexionan firmemente el miembro contralateral y muestran signos de rotación del cuerpo. Las ratas responden a un empujón lateral suave con un dedo detrás de la espalda. Una rata normal resiste a dicho empujón, en tanto que una rata infartada no. El miembro delantero se movió por sí mismo, posicionándose en respuesta a estímulos visuales y táctiles. El animal se mantuvo por el cuerpo de manera tal que la superficie de la garra delantera lateral o dorsal se colocó contra un banco. El ensayo se repitió, pero en esta ocasión obstruyendo la visión de la rata. 50 55

Después de completarse cada experimento, todos los animales se anestesiaron profundamente con isoflurano (5%), se eutanizaron mediante decapitación, y se retiraron los cerebros, verificándose la extensión y localización del daño isquémico histológicamente mediante cloruro de tetrazolio.

5 **C. Este ejemplo ilustra la actividad antiinflamatoria de los compuestos de esta invención usando un modelo de colitis distal inducida por ácido 2,4-dinitrobenzenosulfónico (DNBS) (un modelo de enfermedad de intestino inflamatorio).**

Substancia de ensayo y pauta de dosificación

10 Se disolvió un compuesto de esta invención en vehículo de Tween 80 al 2%, en agua destilada, para administración oral a una dosis de 50 mg/kg, o disuelto en vehículo de Tween 80 al 2% y NaCl al 0,9% para inyección intraperitoneal a una dosis de 30 mg/kg. La dosis se suministró una vez al día durante 7 días consecutivos. El volumen de dosificación es de 10 ml/kg. La exposición al DNBS se llevó a cabo 2 horas después de la dosificación del segundo día.

Animales

15 En estos estudios, pueden usarse ratas Long Evans, Wistar macho, suministradas por el centro de selección animal de MDS Panlabs Taiwan, Ltd., y ratones macho obtenidos de Balb/cByJ (con pesos de 20±2 g), suministradas por el National Laboratory Animals Breeding Research Center (NALBRC, Taiwan). El espacio de colocación de 6 animales puede ser de 45x23x15 cm. Los animales se alojaron en cajas APEC® (Allentown Caging, Allentown, N.J., 08501, USA) en un aislador de presión positiva (NuAire®, Mode: Nu-605, velocidad del flujo de aire 1525±152 cm/min, filtro HEPA) y mantenidas a un ambiente de temperatura (22°C-24°C) y humedad (60%-80%) controladas, con ciclos de 12 horas de luz-oscuridad, durante al menos una semana en el laboratorio MDS Panlabs Taiwan, antes de ser usadas. Estuvo garantizado el libre acceso a alimento de laboratorio convencional para ratas (Fwusow Industry Co., Limited, Taiwan) y el agua corriente. Todos los aspectos de este trabajo, incluyendo alojamientos, experimentación y disposición de animales se realizaron en acuerdo general con los International Guiding Principles for Biomedical Research Involving Animals (CIOMS Publication No. ISBN 92 90360194, (1985)).

Productos químicos

25 El DNBS se obtuvo de TCI, Tokio, Japón, el etanol es de Merck, Alemania y la sulfasalazina se adquirió de Sigma, USA.

Equipamiento

30 Balanza electrónica (Tanita, modelo 1140, Japón), balanza electrónica (Sartorius, R160P, Alemania), jeringuilla de vidrio (2 ml, Mitsuba, Japón), aguja oral para rata, aguja hipodérmica (25G.times.I "TOP Corporation, Japón), tijeras inoxidables (Klappenclear, Alemania), fórceps inoxidables (Klappenclear, Alemania).

Procedimiento

35 Se usaron grupos de 3 ratas macho de origen Wistar con pesos de 180±20 gramos. La colitis distal se indujo mediante instilación intra-colónica de DNBS (ácido 2,4-dinitrobenzeno sulfónico, 30 mg en 0,5 ml de metanol al 30%), después de lo cual, se inyectó suavemente 2 ml de aire a través de la cánula para asegurar que la solución se mantiene en el colon. La substancia de ensayo se administró oralmente (PO) a una dosis de 50 mg/kg o intraperitonealmente (IP) a una dosis de 30 mg/kg, una vez al día, durante 7 días consecutivos. El DNBS se instiló dentro del colon distal de cada animal 2 horas después de la dosificación del segundo día. El grupo de control se trató de manera similar con vehículo únicamente y se usó sulfasalazina (300 mg/kg, PO) como agente de referencia. Los animales se mantuvieron en ayunas 24 horas antes de la exposición a DNBS y 24 horas después del tratamiento final cuando se sacrificaron y cada colon se extrajo y pesó. Durante los experimentos, se registró diariamente la presencia de diarrea. Cuando se abrió la cavidad abdominal antes de la extracción del colon, se anotaron las adherencias entre el colon y otros órganos. Después de pesar el colon, se observó, e igualmente se anotó, la extensión de la ulceración colónica. A continuación, se calculó la relación de peso de colon (C) a cuerpo (B) para cada animal, de acuerdo con la fórmula: $\text{Colon(g)/B(g)} \times 100\%$. El incremento "Neto" en la relación del grupo vehículo de control + DNBS con relación al grupo vehículo de control, se usó como un valor base para comparación con los grupos tratados con la substancia de ensayo y se expresó como % de disminución en la inflamación. Un 30 por ciento o más (30%) de disminución en la relación en peso de color a cuerpo "Neto" para cada grupo tratado con substancia de ensayo con relación al grupo tratado con vehículo+DNBS "Neto", se consideró significativo.

50 **D. Este ejemplo ilustra la actividad antiinflamatoria de los compuestos de la presente invención usando un modelo de edema de garra inducida por carrageenano (un modelo de inflamación por carrageenano).**

Substancia de ensayo y pauta de dosificación

Se disolvió un compuesto de esta invención en vehículo de Tween 80 al 2%/NaCl al 0,9% y se administró intraperitonealmente a una dosis de 30 mg/kg, 30 minutos antes de la exposición a carrageenano (0,1 ml/garra al 1%). El volumen de dosificación es de 10 ml/kg.

Animales

Los animales se acondicionaron de acuerdo con los procedimientos establecidos en el Ejemplo anterior.

Productos químicos

5 El carrageenano se obtuvo de TCI, Japón; la solución salina exenta de pirógeno es de Astar, Taiwan; y la Aspirina se adquirió de ICN BioMedicals, USA.

Equipamiento

Jeringuilla de vidrio (1 ml y 2 ml, Mitsuba, Japón), aguja hipodérmica 24x1" TOP Corporation, Japón), Pletismómetro #7150 (UGO Basile, Italia), y Célula de agua de 25 mm de diámetro, #7157 (UGO Basile, Italia).

Procedimiento

10 La sustancia de ensayo (Ejemplo) se administró IP (30 mg/kg) a grupos de 3 ratas macho de origen Long Evans mantenidas en ayunas durante la noche, con pesos de 150±20 gramos, 30 minutos antes de la inyección en la garra posterior derecha de carrageenano (0,1 ml de suspensión al 1% intraplantar). El edema de garra posterior, como una medida de la inflamación, se registró 3 horas después de la administración del carrageenano, usando un pletismómetro (Ugo Basile Cat. #7150) con célula de agua (25 mm de diámetro, Cat. #7157). La reducción del edema de garra posterior en 30 por ciento (≥30%), indicó actividad antiinflamatoria aguda significativa.

E. Este ejemplo ilustra la actividad antiinflamatoria de los compuestos de la presente invención usando un modelo de ratón Balb/c sometido a artritis inducida por anticuerpo monoclonal (mAb) de colágeno tipo II.

Substancia de ensayo y pauta de dosificación

20 Se disolvió un compuesto de esta invención en vehículo de Tween 80 al 2%/NaCl al 0,9%, a dosis de 50 ó 30 y se administró oralmente (50 mg/kg) o intraperitonealmente a 30 mg/kg, una vez al día, durante 3 días consecutivos después de haberse inyectado el anticuerpo monoclonal de colágeno. El volumen de dosificación es de 20 ml/kg.

Animales

Los animales se acondicionaron de acuerdo con los procedimientos establecidos en el Ejemplo anterior.

25 Productos químicos

El lipopolisacárido se obtuvo de Sigma, USA; la indometacina es de Sigma, USA. Los anticuerpos monoclonales Arthrogen-CIA TM, D8, F10, DI-2G y A2 se obtuvieron de IBI. Japón; la solución salina tamponada con fosfato se adquirió de Sigma, USA; y el Tween 80 es de Wako, Japón.

Equipamiento

30 Pletismómetro (UGO Basile, Italia), y Célula de agua (UGO Basile, Italia).

Procedimiento

35 Se usaron grupos de 5 ratones de la cepa Balb/cByJ, de 6-8 semanas de edad, para la inducción de artritis mediante anticuerpos monoclonales (mAbs) que responden al colágeno tipo II, mas lipopolisacárido (LPS). Los animales se administraron intravenosamente con una combinación de 4 mAbs diferentes en un total de 4 mg/ratón el día 0, y seguido de 25 µg LPS intravenosa 72 horas después (3 días). A partir del día 3, una hora después de la administración de LPS, se administraron ML-659 a 50 mg/kg (PO) o 30 mg/kg (IP) y vehículo Tween 80 al 2%/NaCl al 0,9%, PO), así como control positivo de indometacina, 3 mg/kg (PO), una vez al día, durante 3 días consecutivos. Para la medición del incremento en volumen de las dos garras posteriores los días 0, 5, 7, 10 14, y 17, se usó un pletismómetro (Ugo Basile Cat #7150) con célula de agua (12 mm de diámetro). El por ciento de inhibición del incremento en volumen se calculó mediante la fórmula siguiente:

$$\text{Inhibición (\%)}: [1-(Tn-To)/(Cn-Co)]x100$$

en la que:

Co (Cn): volumen el día 0 (día n) en el vehículo de control

To (Tn): volumen el día 0 (día n) en el grupo tratado con el compuesto de ensayo

45 La reducción del edema de las dos garras posteriores en más del 30% se consideró significativa.

Ejemplo 7

Modelo de dolor neuropático

Este ejemplo ilustra la actividad analgésica de los compuestos de esta invención usando un modelo de ligamiento del nervio ciático del dolor neuropático.

5 Sistema de ensayo

Se usaron ratas macho adultas Sprague Dawley (SD) con pesos de 250-300 g (Charles River Laboratories, San Diego, CA). El alojamiento del animal estaba iluminado artificialmente con un ciclo de luz-oscuridad de 12 horas (desde las 7:00 a.m. a 7:00 p.m.) con suministro de agua y alimento *ad libitum*. Los animales se alojaron aleatoriamente en grupos.

10 Modelo de inducción

Ligamiento del nervio ciático (SNL, modelo de Seltzer)

15 Bajo anestesia con pentobarbital (50 mg/kg, i.p.) y técnicas asépticas, se creó la lesión selectiva al nervio ligando fuertemente la porción selectiva del nervio ciático común de acuerdo con el procedimiento de Seltzer (1990). En resumen, el nivel de muslo alto del nervio ciático se expuso después de incisión de la piel y separación roma de músculos en un sitio próximo al trocánter, justamente distal al punto al cual el nervio semitendinoso del bíceps posterior del nervio se bifurca del nervio ciático común. A continuación, el nervio se fijó en esta posición con fórceps fino mediante pinzado del epineurio sobre su aspecto dorsal, teniendo cuidado de no presionar el nervio contra las estructuras básicas. Dentro del nervio se insertó una sutura de seda tratada con silicio 8-0 con una mini-aguja de corte invertido, curvada 3/8, y se ligó fuertemente de manera tal que 1/3-1/2 del dorsal del nervio está atrapado en la ligadura. Los músculos se suturaron en capas, y la piel se cerró con grapa de heridas. A continuación, los animales se devolvieron a sus alojamientos. Las ratas que mostraron déficits neurológicos postoperatorios o escasa limpieza se excluyeron de los experimentos.

Equipamiento

25 En los estudios actuales se usó el equipamiento siguiente: conjunto de filamento von Frey (Touch-test Sensory Evaluator, North Coast Medical Inc., Morgan Hill, CA).

Procedimientos estadísticos

30 Dentro de cada experimento, se calcularon el error estándar medio (SEM), de la media, y la significancia estadística, usando el error estándar de la media, promedio, y funciones de ensayo t bilateral, independiente, respectivamente, usando Microsoft Excel[®]. Se determinó la significancia estadística de efectos observados entre experimentos individuales, usando Prism (GraphPad Software Inc., San Diego, CA) para los análisis unilateral o bilateral de varianza (ANOVA) de la función. Los análisis estadísticos se realizaron con un límite de confianza de 0,95 y un nivel de significancia de 0,05.

Ejemplo 8

Formación de poro

35 Se sembraron células THP-1 (ATCC Cat #285-IF-100) en placas de 96 pocillos a una concentración de 200.000 células por pocillo y se dejaron diferenciar en medio RPMI-1640 (ATCC Cat #30-2001) conteniendo FBS al 100%, 100 IU/ml de penicilina, 100 ug/ml de estreptomycin, 100 ng/ml de LPS y 100 ng/ml de IFN-γ durante 16 horas. Después de la diferenciación, las células se pretrataron con el compuesto de interés a la concentración apropiada durante 30 minutos en medio RPMI-1640 conteniendo 100 IU/ml de penicilina y 100 ug/ml de estreptomycin. A continuación, el medio de pretratamiento se reemplazó con tampón de ensayo (HEPES 20 mM, d-glucosa 10 mM, NMDG 118 mM, KCl 5 mM, CaCl₂ 0,4 mM), conteniendo Yo-Pro-1 5 uM (Molecular Probes Cat # Y3603) y el compuesto de interés a la concentración apropiada y las células se incubaron durante un tiempo adicional de 10 minutos. A continuación, se agregó 5'-trifosfato de 2',3'-O-(4-benzoilbenzoil)-adenosina (Sigma Aldrich Cat # B6396) a una concentración final de 40 uM y las lecturas de fluorescencia se midieron a una excitación/emisión de 491/509 cada minuto, durante 50 minutos, usando un lector de placa Tecan Safire. Durante este tiempo, la temperatura se mantuvo a 37°C. Los niveles de fluorescencia ajustados al valor de fondo entre células tratadas con fármaco y no tratadas se usaron para calcular el por ciento de inhibición.

Ejemplo 9

Ensayo de liberación de IL-1β

50 Se sembraron células THP-1 (ATCC Cat #285-IF-100) en placas de 96 pocillos a una concentración de 200.000 células por pocillo y se dejaron diferenciar en medio RPMI-1640 (ATCC Cat #30-2001) conteniendo FBS al 100%, 100 IU/ml de penicilina, 100 ug/ml de estreptomycin, 100 ng/ml de LPS y 100 ng/ml de IFN-γ durante 16 horas.

- Después de la diferenciación, las células se trataron durante dos horas adicionales en medio RPMI-1640 conteniendo 100 IU/ml de penicilina y 100 ug/ml de estreptomina y LPS reciente a 100 ng/ml. A continuación, las células se pretrataron durante 30 minutos con el compuesto de interés a la concentración apropiada en medio RPMI conteniendo 100 IU/ml de penicilina y 100 ug/ml de estreptomina. Después del pretratamiento, se agregó 5'-trifosfato de 2',3'-O-(4-benzoilbenzoil)-adenosina (Sigma Aldrich Cat # B6396) a una concentración final de 250 μ M y las células se incubaron durante un tiempo adicional de 45 minutos. A continuación, se recogieron 30 μ l de sobrenadante de células y se determinó los niveles de IL-1 β mediante ELISA (R&D Systems Cat. # HSLB50) de acuerdo con las recomendaciones del fabricante, usando un lector de placa Tecan Safire. Los niveles de IL-1 β ajustados al valor de fondo de células tratadas con fármaco y no tratadas se usaron para indicar el por ciento de inhibición.
- 10 Los ejemplos de síntesis y biológicos descritos en esta solicitud se han ofrecido para ilustrar esta invención y no deben considerarse de ninguna manera como limitativos del alcance de esta invención. En los ejemplos, todas las temperaturas son en grados Celsius (salvo que se indique lo contrario). En la Tabla siguiente se presentan los compuestos que han sido preparados de acuerdo con la invención conjuntamente con sus datos de actividad biológica. Las síntesis de estos compuestos representativos se han llevado a cabo de acuerdo con los procedimientos establecidos anteriormente.

Compuestos ejemplares de la invención

- Los compuestos siguientes han sido o pueden prepararse de acuerdo con los procedimientos de síntesis descritos en la presente invención, por ejemplo, procedimiento A-K. Para los fines de la Tabla 1, a continuación, la actividad de cada compuesto, la cual puede determinarse usando el procedimiento de ensayo de IL-1 β descrito en el Ejemplo 9, se expresó como sigue:
- 20 "+" compuesto que mostró un 0-25% de inhibición a una concentración 0,3 μ M
- "++" compuesto que mostró un 26-50% de inhibición a una concentración 0,3 μ M
- "+++" compuesto que mostró un 51-75% de inhibición a una concentración 0,3 μ M
- "++++" compuesto que mostró un 76% de inhibición o mayor a una concentración 0,3 μ M
- 25 "+" compuesto que mostró un 0-25% de inhibición a una concentración 0,1 μ M
- "++" compuesto que mostró un 26-50% de inhibición a una concentración 0,1 μ M
- "+++" compuesto que mostró un 51-75% de inhibición a una concentración 0,1 μ M
- "++++" compuesto que mostró un 76% de inhibición o mayor a una concentración 0,1 μ M
- Los compuestos con un por ciento de inhibición representada mediante "++++" o "++++" son de particular interés.

30

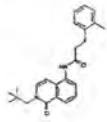
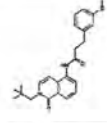
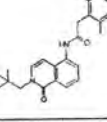
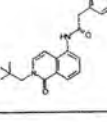
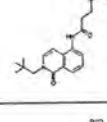
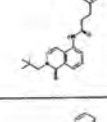
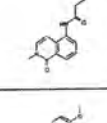
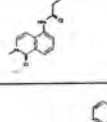
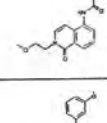
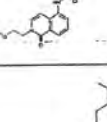
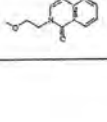
TABLA 1: % de inhibición de IL-1 β de los compuestos ejemplares

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1001		379,46	380,00	+++
1002		377,49	378,20	++++
1003		363,46	364,20	+
1004		383,88	384,10	++++
1005		363,46	364,40	++++
1009		441,55	442,20	+
1016		432,40	433,10	++++
1017		383,88	384,00	++
1018		367,42	367,60	+
1019		349,43	350,20	+

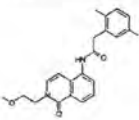
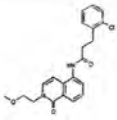
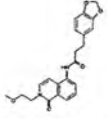
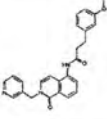
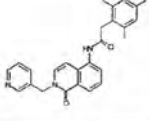
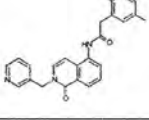
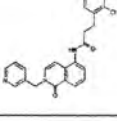
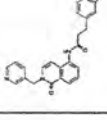
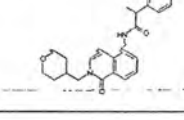
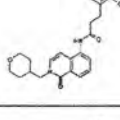
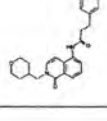
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1020		377,49	377,80	+
1021		379,46	380,56	++++
1022		409,48	410,20	+
1023		433,29	434,50	++++
1027		420,51	421,18	+
1028		404,51	405,50	+
1031		424,93	425,11	++
1032		434,49	435,28	+
1036		391,51	392,40	+
1037		397,90	398,24	+
1038		407,47	408,32	+

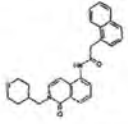
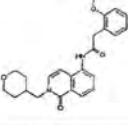
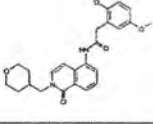
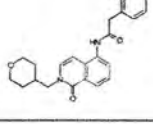
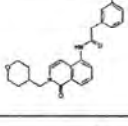
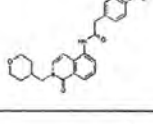
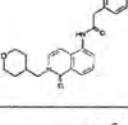
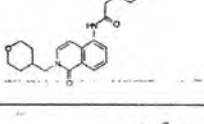
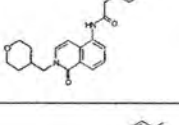
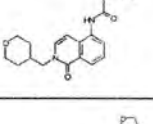
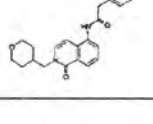
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1048		376,50	377,44	*
1049		392,50	393,35	+
1050		390,52	391,40	+
1051		376,50	377,47	+
1054		396,92	397,27	+
1055		406,48	407,58	+
1057		320,39	321,25	*
1058		336,39	337,37	+
1062		364,44	365,38	**
1064		380,44	381,46	*
1065		378,47	379,44	+

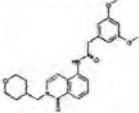
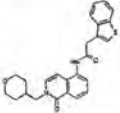
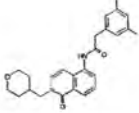
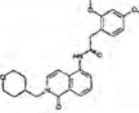
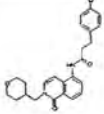
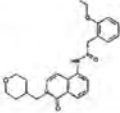
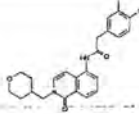
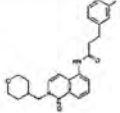
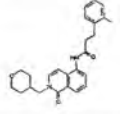
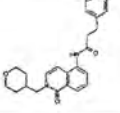
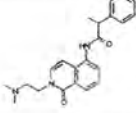
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1066		364,44	365,36	+
1069		384,86	385,44	++++
1070		394,42	395,27	+
1075		413,47	414,30	+
1076		411,50	412,54	+
1077		397,48	398,16	+
1079		417,89	418,40	+
1080		427,46	428,15	+
1093		390,48	391,50	+
1094		420,51	421,17	+
1095		420,51	421,39	+

(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1097		426,51	427,44	+
1099		406,48	407,60	+
1100		436,51	437,58	+
1101		390,48	391,39	+
1102		406,48	407,61	+
1103		436,51	437,56	+
1104		390,48	391,38	+
1105		406,48	407,58	+
1106		420,51	421,39	+
1107		390,48	391,39	+
1110		420,46	421,37	+

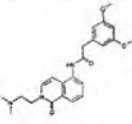
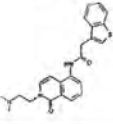
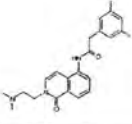
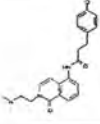
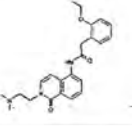
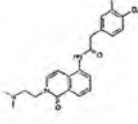
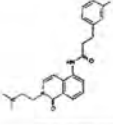
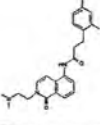
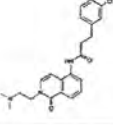
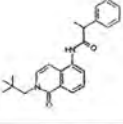
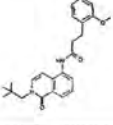
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1111		436,51	437,58	+
1119		432,54	433,44	+
1121		404,51	405,52	+
1123		436,51	437,57	+
1125		424,93	425,10	+
1126		420,51	421,39	+
1127		420,51	421,39	+
1130		404,51	405,51	+
1134		418,53	419,49	+
1135		424,93	425,11	+
1148		363,46	364,40	+

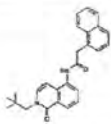
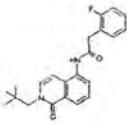
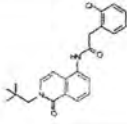
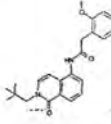
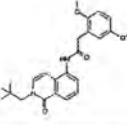
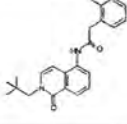
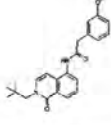
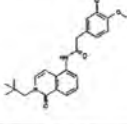
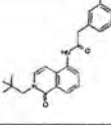
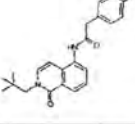
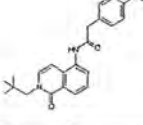
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1149		393,48	394,35	*
1150		393,48	394,37	+
1152		399,49	400,42	+
1154		367,42	368,27	+
1155		383,88	384,50	+
1156		409,48	410,56	+
1157		363,46	364,40	+
1158		409,48	410,49	+
1159		363,46	364,41	+
1160		393,48	394,36	+
1163		393,44	394,34	+

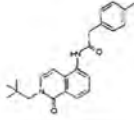
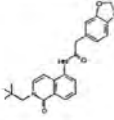
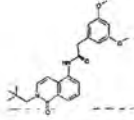
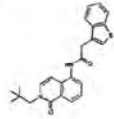
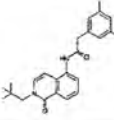
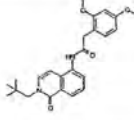
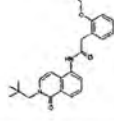
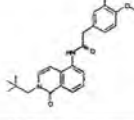
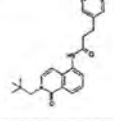
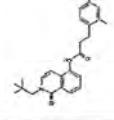
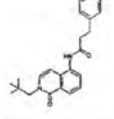
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1164		409,48	410,50	+
1171		405,52	406,56	+
1173		377,49	378,49	+
1176		397,90	398,10	+
1177		393,48	394,37	+
1178		393,48	394,36	+
1181		377,49	378,48	+
1185		391,51	392,41	+
1186		397,90	398,24	+++
1247		362,47	363,43	*
1248		392,50	393,35	+

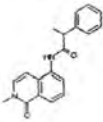
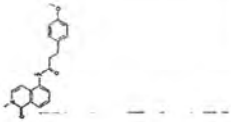
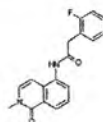
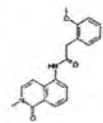
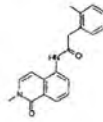
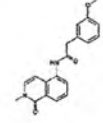
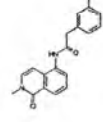
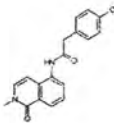
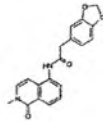
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1250		398,50	399,26	+
1252		366,43	367,34	+
1253		382,89	383,38	+
1254		378,47	379,44	+
1255		408,50	409,53	+
1256		362,47	363,40	+
1257		378,47	379,44	+
1258		408,50	409,55	+
1259		362,47	363,41	+
1260		378,47	379,45	+
1261		392,50	393,37	+

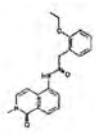
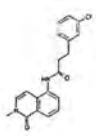
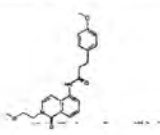
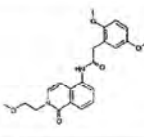
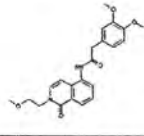
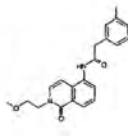
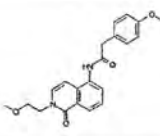
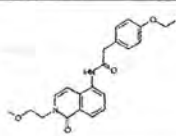
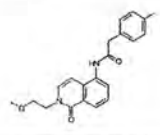
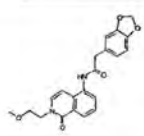
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1262		362,47	363,40	+
1265		392,45	393,31	++
1266		408,50	409,54	+
1274		404,53	405,45	+
1276		376,50	377,45	+
1278		408,50	409,52	+
1280		392,50	393,36	+
1281		392,50	393,37	++
1284		376,50	377,33	+
1286		390,52	391,50	+
1287		396,92	397,26	+

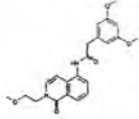
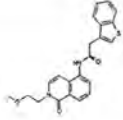
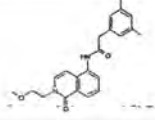
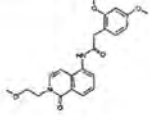
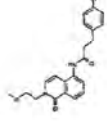
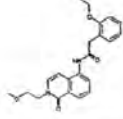
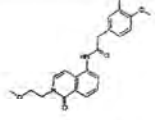
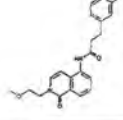
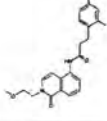
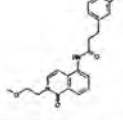
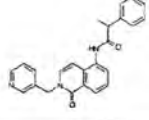
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1292		306,36	307,32	+
1293		336,39	337,43	+
1294		310,33	311,44	+
1295		322,36	323,54	+
1296		306,36	307,38	+
1297		322,36	323,55	++
1298		306,36	307,39	+
1299		322,36	323,55	+
1301		336,35	337,42	+

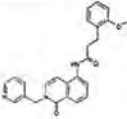
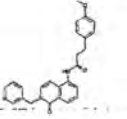
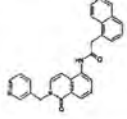
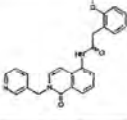
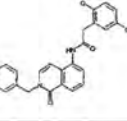
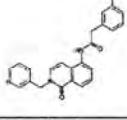
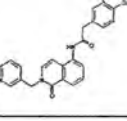
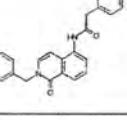
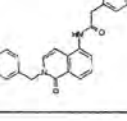
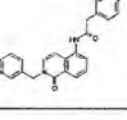
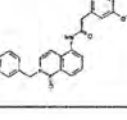
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1307		336,39	337,36	+
1309		340,81	341,31	++++
1311		380,44	381,47	+
1313		396,44	397,28	*
1314		396,44	397,27	+
1315		350,42	351,48	+
1316		366,41	367,34	+
1317		380,44	381,48	+
1318		350,42	351,48	+
1321		380,40	381,45	+

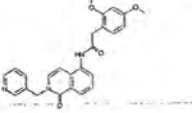
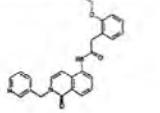
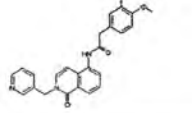
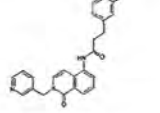
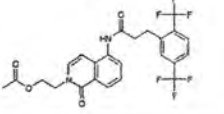
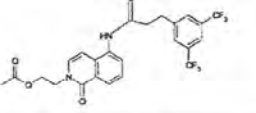
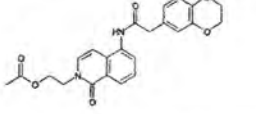
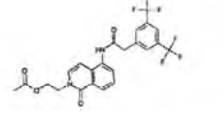
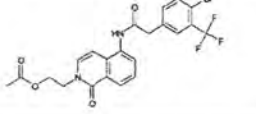
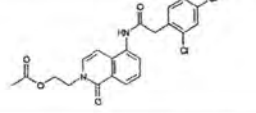
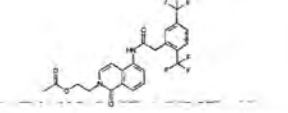
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1322		396,44	397,27	+
1329		392,48	393,25	+
1331		364,44	365,37	+
1333		396,44	397,20	+
1335		384,86	385,13	+
1336		380,44	381,30	+
1337		380,44	381,30	+
1338		364,44	365,32	+
1341		378,47	379,37	+
1342		384,86	385,43	+
1347		383,45	384,50	**

(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1348		413,47	414,34	*
1349		413,47	414,33	*
1350		419,48	420,42	+
1351		399,45	400,40	+
1352		429,47	430,32	+
1353		399,45	400,41	+
1354		429,47	430,35	+
1355		399,45	400,40	+
1356		383,45	384,51	+
1359		413,43	414,29	++
1360		429,47	430,36	++

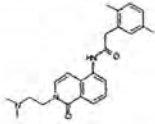
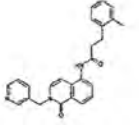
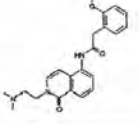
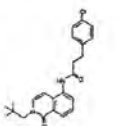
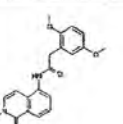
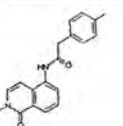
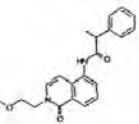
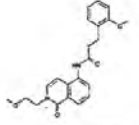
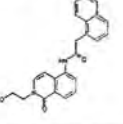
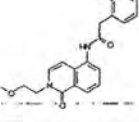
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1365		429,47	430,36	+
1366		413,47	414,35	++
1367		413,47	414,33	+
1369		397,48	398,12	+
1374		514,42	515,20	++++
1376		514,42	515,00	+
1377		422,43	423,30	+
1378		500,39	501,30	+++
1380		466,84	467,30	++++
1381		433,29	433,10	++++
1382		500,39	501,20	++

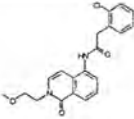
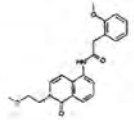
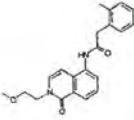
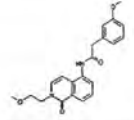
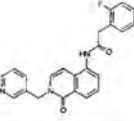
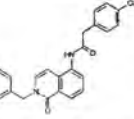
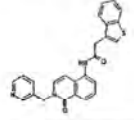
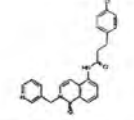
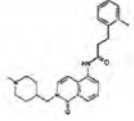
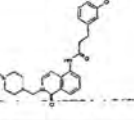
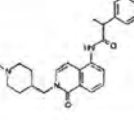
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1383		456,52	457,00	+
1384		442,49	443,30	+
1385		451,87	452,00	++++
1386		418,32	417,90	+++
1387		418,32	418,30	+++
1391		397,90	398,20	++++
1392		405,28	405,00	+++
1396		404,51	405,54	*
1399		377,49	378,51	*
1400		393,48	394,36	**

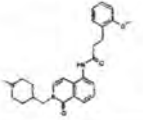
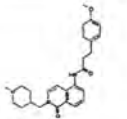
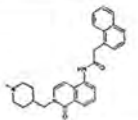
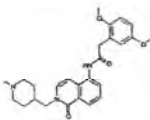
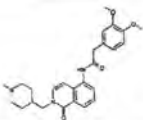
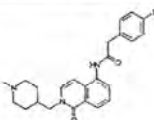
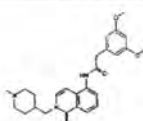
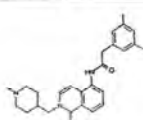
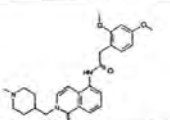
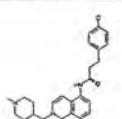
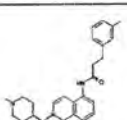
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1401		377,49	378,51	*
1406		397,48	399,33	*
1409		379,46	380,55	*
1417		396,92	397,29	**
1422		352,39	353,34	*
1423		306,36	307,32	*
1431		350,42	351,47	*
1432		380,44	381,46	*
1433		386,45	387,26	*
1435		354,38	355,19	*

(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1436		370,83	371,12	*
1437		366,41	367,35	*
1438		350,42	352,38	**
1439		366,41	367,34	*
1449		387,41	388,25	**
1450		413,47	414,34	*
1453		425,51	426,18	*
1455		417,89	418,39	*
1457		417,55	418,50	*
1459		433,55	434,43	**
1466		403,52	404,37	*

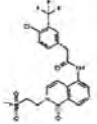
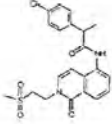
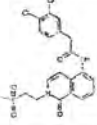
(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1467		433,55	434,42	*
1468		433,55	434,65	*
1470		439,56	440,43	*
1472		449,55	450,43	*
1473		449,55	450,43	*
1474		419,52	420,46	*
1477		449,55	450,43	*
1482		417,55	418,51	**
1484		449,55	450,42	*
1485		437,97	438,39	*
1488		417,55	418,53	*

(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1491		431,58	432,39	*
1492		437,97	438,60	*
1611		451,87	452,30	+
1612		425,96	426,20	+
1613		428,33	427,70	+
1614		437,97	438,10	+
1617		500,39	501,50	++
1618		485,43	485,60	+
1620		564,00	564,00	++++
1621		564,00	564,00	++++
1623		438,83	439,20	++++

(Continuación)

ID	Estructura	P.mol.	MS(obs)	%Inhib. IL-1 β @ 0,3 μ M
1630		486,90	487,00	++++
1631		432,93	433,10	+
1632		453,34	453,10	++

Determinaciones de IC₅₀

5 Los compuestos establecidos en la Tabla 1 se ensayaron para determinar la actividad en un modelo celular tal como se describe en la presente invención. Específicamente, las células se pretrataron con diferentes cantidades del compuesto en ensayo y se determinó el IL-1 β liberado como en el Ejemplo 9, anterior. Las mediciones se realizaron y los valores IC₅₀, presentados en la Tabla 2, más adelante, se determinaron ajustando los datos a una ecuación logarítmica de cuatro parámetros, usando el software GraphPad Prism (GraphPad Software, Inc.). La ecuación puede expresarse mediante la fórmula siguiente:

10
$$Y = \text{Parte baja} + (\text{Parte alta} - \text{Parte baja}) / (1 + 10^{-(\text{LogEC50} - X) * \text{Ladera}})$$

En la que X es el logaritmo de la concentración, Y es la respuesta e Y comienza en la parte baja y va a la Parte alta con una forma sigmoidea.

TABLA 2: IC₅₀ de IL-1 β para los compuestos ejemplares

ID	IC ₅₀ de IL-1 β (nM)
1001	240
1002	72,33
1003	>1000
1004	108,4
1005	39,59
1009	>1000
1016	338,5
1017	367,5
1018	>1000
1019	>1000
1020	>1000
1021	>1000
1022	>1000

(Continuación)

ID	IC ₅₀ de IL-1 β (nM)
1023	53,45
1366	409,6
1374	40,57
1376	731,3
1377	>1000
1378	120,8
1380	5,332
1381	34,14
1382	602,3
1383	>1000
1384	>1000
1385	151,6
1386	237,9
1387	146,4
1391	45,68
1392	123,1
1611	929,7
1612	>1000
1613	>1000
1614	>1000
1617	417,5
1618	>1000
1620	41,08
1621	6,864
1623	9,24
1627	416,1
1628	55,87
1630	108,5
1631	>1000
1632	314,5

Vida media en microsomas de hígado humano (HLM)

5 Los compuestos de ensayo (1 μ M) se incubaron con MgCl₂ 3,3 mM y 0,78 mg/ml de HLM (HL101) en tampón de fosfato potásico 100 mM (pH 7,4) a 37°C sobre placas de 96 pocillos profundos. La mezcla de reacción se separó en dos grupos, un grupo no-P540 y uno P450. Se agregó NADPH únicamente a la mezcla de reacción del grupo P450.

Una parte alícuota de muestras del grupo P450 se recogió en el punto de tiempo 0, 10, 30, y 60 min, en los que el punto de tiempo 0 min indica el tiempo cuando se agrego el NADPH dentro de la mezcla de reacción del grupo P450. Una parte alícuota de muestras del grupo no-P450 se recogió en el punto de tiempo -10 y 65 min. Las partes alícuotas recogidas se extrajeron con solución de acetonitrilo conteniendo un patrón interno. La proteína precipitada se trató en centrífuga (2000 rpm, 15 min). La concentración de compuesto en el sobrenadante se midió mediante el sistema LC/MS/MS.

El valor de vida media se obtuvo representando el logaritmo natural de la relación del área pico de los compuestos/patrón interno frente al tiempo. La pendiente de la línea de mejor ajuste a lo largo de los puntos proporciona el índice de metabolismo (k). Este se convierte en el valor de vida media usando las ecuaciones siguientes:

$$\text{Vida media} = \ln 2 / k$$

Evaluación farmacocinética de compuestos después de administración intravenosa y oral en ratas

Se aclimataron ratas macho Sprague-Dawley durante al menos 24 horas antes del inicio del experimento. Durante el periodo de aclimatación, todos los animales recibieron alimento y agua *ad libitum*. Sin embargo, el alimento, pero no el agua, se retiró de los alojamientos de los animales al menos 12 horas antes del inicio del experimento. Durante las primeras 3 horas de la experimentación, los animales recibieron únicamente agua *ad libitum*. Al menos tres animales de cada uno se ensayaron para la dosificación intravenosa y oral. Para la formulación intravenosa, los compuestos se disolvieron (0,25 a 1 mg/ml) en una mezcla de dimetil sulfóxido al 3%, PEG 400 al 40% y el porcentaje restante de Capsitol al 40% en agua (p/v). Los animales se pesaron antes de la dosificación. El peso corporal determinado se usó para calcular el volumen de dosis para cada animal.

$$\text{Volumen de dosis (ml/kg)} = 1 \text{ mg/kg} / \text{concentración de formulación (mg/ml)}$$

En aquellos casos en los que las concentraciones de las formulaciones fueron menores de 0,5 mg/ml, el volumen de dosificación es de aproximadamente 2 ml/kg.

Para administración oral, los compuestos de esta invención se suspendieron (0,5 a 0,75 mg/ml) en una mezcla de 5% a 10% de Tween 80 en agua (v/v) y 95% de metil celulosa al 0,5% en agua (p/v). Las ratas PO se dosificaron típicamente mediante sobrealimentación por sonda oral, seguido del mismo volumen de dosis de fórmula que IV, para lograr un nivel de dosis de 1 a 5 mg/kg. Para la dosificación IV, se recogieron muestras de sangre (usando una jeringuilla pre-heparinizada) mediante el catéter en la vena yugular a los 2, 5, 15, 30, 60, 120, 180, 300, 480, y 1440 minutos post-dosificación. Para dosificación PO, se recogieron muestras de sangre (usando una jeringuilla pre-heparinizada) mediante el catéter en la vena yugular antes de la dosificación y a los 5, 15, 30, 60, 120, 180, 300, 480, y 1440 minutos post-dosificación. Se obtuvieron aproximadamente 250 ul de sangre en cada punto de tiempo del animal. Para prevenir la deshidratación, se reemplazaron con volúmenes iguales de solución salina al 0,9%. Las muestras de sangre entera se mantuvieron en hielo hasta su centrifugación. A continuación, las muestras de sangre se centrifugaron a 14.000 rpm durante 10 minutos a 4°C y la capa de plasma superior se transfirió dentro de un vial limpio y se almacenó a -80°C. A continuación, las muestras de plasma resultante se analizaron mediante espectrometría de masa acoplada a cromatografía líquida. Después de la medición de las muestras de plasma y las soluciones de dosificación, se representó la curva concentración de plasma frente al tiempo. La exposición del plasma se calculó como el área bajo la curva concentración-tiempo extrapolada a tiempo infinito (AUC_{inf}). La AUC_{inf} se promedió y la biodisponibilidad oral (%F) para el animal individual se calculó como:

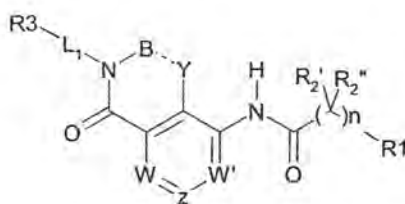
$$AUC_{inf}(PO)/AUC_{inf}(IV), \text{ normalizada a sus niveles de dosis respectivos.}$$

El %F puede representarse como el %F medio de todos los animales oralmente dosificados con el compuesto de la invención al nivel especificado.

Los nombres químicos de los compuestos de la invención dados en esta solicitud se generaron usando la herramienta de nominación Open Eye Software's Lexichem, Symyx Renaissance Software's Reaction Planner o la herramienta MDL's ISIS Draw Autonom Software, y no se verificaron.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto bicicloheteroarilo que tiene una fórmula:



I

en la que

5 B e Y están independientemente seleccionados entre CR^{2a} y CR^{2a}R^{2b};

W y Z están seleccionados entre CH; W' es CR⁴;

L¹ es alquileo de C₁-C₅ sustituido o no sustituido;

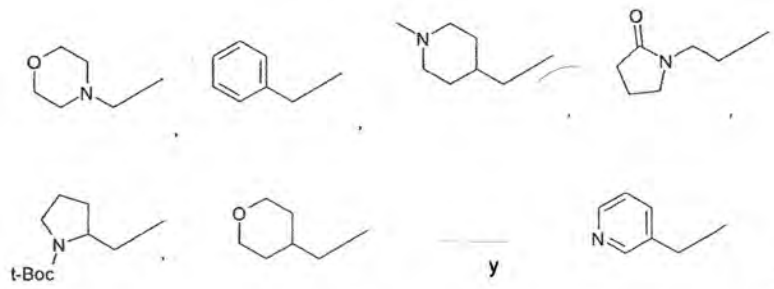
n es 1 ó 2;

10 R¹ está seleccionado entre un anillo arilo sustituido o no sustituido o heteroarilo sustituido o no sustituido;

cada uno de R^{2a}, R^{2b}, R2' y R2'' está independientemente seleccionado entre hidrógeno, halo, y alquilo de C₁-C₆ sustituido o no sustituido; o cualquiera de R2' y R2'' se unen conjuntamente para formar un anillo cicloalquilo o cicloheteroalquilo de 3-7 átomos;

15 R³ es hidrógeno o un grupo funcional seleccionado entre alquilo, dialquilamino, aciloxi, alcoxi, y -SO₂-alquilo; o

el grupo -L₁-R³ está seleccionado entre



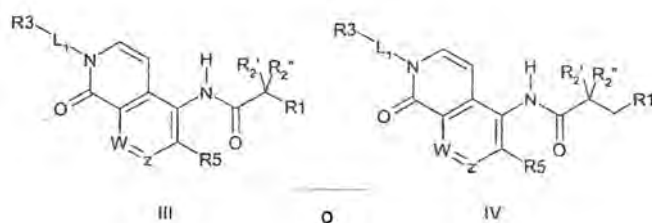
20 R⁴ está independientemente seleccionado entre H, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido, acilamino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, alquiltio sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, alcocarbonilo, alcocarbonilo sustituido, alquilarilamino sustituido o no sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, amino, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, sulfóxido sustituido o no sustituido, sulfona sustituida o no sustituida, sulfanilo sustituido o no sustituido, aminosulfonilo sustituido o no sustituido, arilsulfonilo sustituido o no sustituido, ácido sulfúrico, éster del ácido sulfúrico, dihidroxifosforilo sustituido o no sustituido, aminodihidroxifosforilo sustituido o no sustituido, azido, carboxi, carbamoilo sustituido o no sustituido, ciano, cicloalquilo sustituido o no sustituido, cicloheteroalquilo sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, halo, heteroariloxi, heteroarilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, hidroxilo, nitro, y tio;

y el enlace de puntos es un enlace sencillo o doble;

o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;

30 y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

2. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto es de fórmula III o IV::



en las que

W es CH; Z es CH;

L¹, R¹, R^{2'}, R^{2''} y R³ son como en la reivindicación 1;

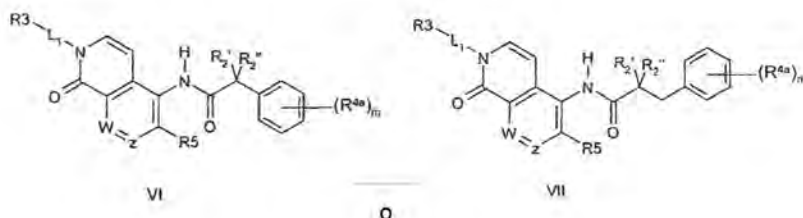
5 y R⁵ está seleccionado entre H, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido, acilamino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, alquiltio sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilo sustituido, alquilarilamino sustituido o no sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, amino, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, sulfóxido sustituido o no sustituido, sulfona sustituida o no sustituida, sulfanilo sustituido o no sustituido, aminosulfonilo sustituido o no sustituido, arilsulfonilo sustituido o no sustituido, ácido sulfúrico, éster del ácido sulfúrico, dihidroxifosforilo sustituido o no sustituido, aminodihroxifosforilo sustituido o no sustituido, azido, carboxi, carbamoilo sustituido o no sustituido, ciano, cicloalquilo sustituido o no sustituido, cicloheteroalquilo sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, halo, heteroariloxi, heteroarilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, hidroxilo, nitro, y tio;

15 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;

y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos

o

un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto está de acuerdo con la fórmula VI o VII:



20

en las que

W es CH; Z es CH;

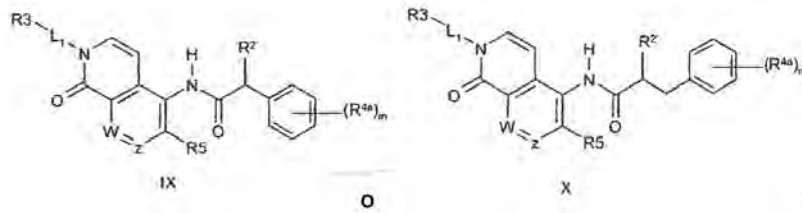
L¹, R^{2'}, R^{2''} y R³ son tal como en la reivindicación 1; R⁵ es tal como se ha definido anteriormente;

25 Cada R^{4a} está seleccionado entre hidrógeno, alquilo, alquilo sustituido, acilo, acilo sustituido, acilamino sustituido o no sustituido, alquilamino sustituido o no sustituido, alquiltio sustituido o no sustituido, alcoxi sustituido o no sustituido, ariloxi, alcoxycarbonilo, alcoxycarbonilo sustituido, alquilarilamino sustituido o no sustituido, arilalquilo, arilalquilo sustituido, amino, arilo, arilo sustituido, arilalquilo, sulfóxido sustituido o no sustituido, sulfona sustituida o no sustituida, sulfanilo sustituido o no sustituido, aminosulfonilo sustituido o no sustituido, arilsulfonilo sustituido o no sustituido, ácido sulfúrico, éster del ácido sulfúrico, dihidroxifosforilo sustituido o no sustituido, aminodihroxifosforilo sustituido o no sustituido, azido, carboxi, carbamoilo sustituido o no sustituido, ciano, cicloalquilo sustituido o no sustituido, cicloheteroalquilo sustituido o no sustituido, dialquilamino sustituido o no sustituido, halo, heteroariloxi, heteroarilo sustituido o no sustituido, heteroalquilo sustituido o no sustituido, hidroxilo, nitro, y tio; y m está seleccionado desde 0-5;

35 o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;

y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

3. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto está de acuerdo con la fórmula IX o X:



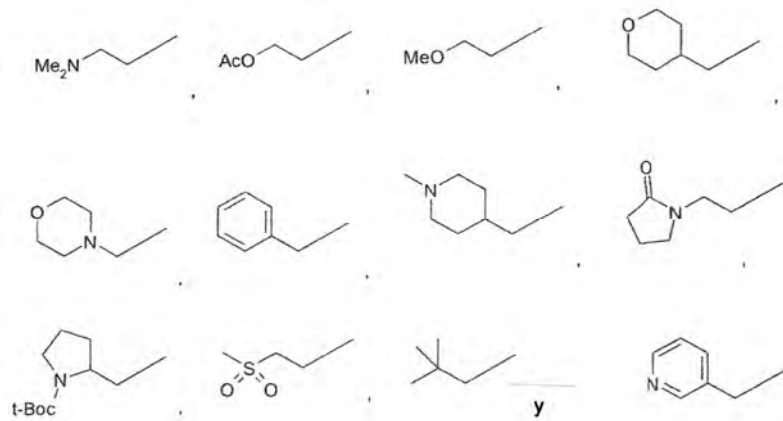
en las que

- 5 W es CH; Z es CH;

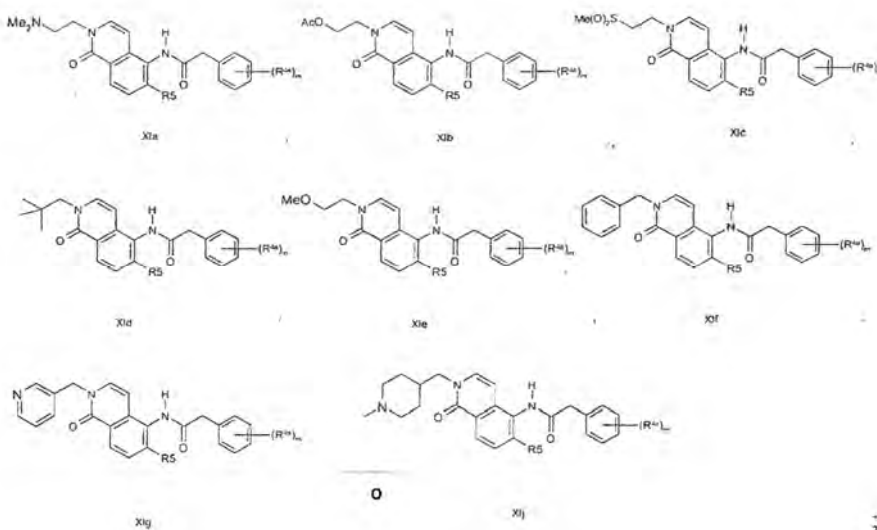
L¹ y R³ son tal como en la reivindicación 2; R⁵ es tal como en la reivindicación 2; m y R^{4a} son tal como en la reivindicación 2; R² es H o Me; o una sal o solvato farmacéuticamente aceptable de los mismos;

y estereoisómeros, variantes isotópicas y tautómeros de los mismos.

- 10 4. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el grupo -L₁-R³ está seleccionado entre



5. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto está de acuerdo con la fórmula XIa, XIb, XIc, XIe, XIg, XIi o XIj:



- 15 en las que m y R^{4a} son tal como en la reivindicación 2; y R⁵ está seleccionado entre H, alquilo, o halo.

6. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2, 3, y 5, en las que m es 1 ó 2; y cada R^{4a} está independientemente seleccionada entre Me, Et, Ph, Cl, F, Br, CN, OH, OMe, OEt, OPh, COPh, CF₃, CHF₂, OCF₃, i-Pr, i-Bu, t-Bu, SMe, CH=CH-CO₂H, SOMe, SO₂Me, SO₃H, SO₃Me, y piridilo.
7. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en el que R⁵ es H.
- 5 8. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 6, en el que R⁵ es Me, Cl, F, o CF₃.
9. Un compuesto de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto está seleccionado entre compuestos listados en la Tabla 1.
10. Una composición farmacéutica que comprende un vehículo aceptable farmacéuticamente y una cantidad eficaz farmacéuticamente de un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9.
- 10 11. La composición farmacéutica de la reivindicación 10, en la que el vehículo es un vehículo oral, un vehículo tópico, o un vehículo parenteral.
12. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso como un producto farmacéutico.
- 15 13. Un compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, para su uso en un procedimiento de tratamiento o prevención de una enfermedad o estado seleccionado entre: dolor incluyendo dolor agudo, inflamatorio y neuropático, dolor crónico, dolor dental y dolor de cabeza incluyendo migraña, dolor de cabeza localizado y dolor de cabeza por tensión, enfermedad de Parkinson, esclerosis múltiple; enfermedades y trastornos que están mediados por o resultan de neuroinflamación, lesión cerebral traumática, encefalitis; enfermedades y trastornos neuropsiquiátricos mediados centralmente, manía depresiva, enfermedad bipolar, ansiedad, esquizofrenia, trastornos de la alimentación, trastornos del sueño y trastornos cognitivos; epilepsia y trastornos de crisis; 20 próstata, disfunción de vejiga e intestino, incontinencia urinaria, indecisión urinaria, hipersensibilidad rectal, incontinencia fecal, hipertrofia prostática benigna y enfermedad de intestino inflamatorio; enfermedad y trastornos respiratorios y vías respiratorias, rinitis alérgica, asma y enfermedad de las vías respiratorias reactiva y enfermedad pulmonar obstructiva crónica; enfermedades y trastornos que están mediados por o resultan de inflamación, artritis, artritis reumatoide, y osteoartritis, infarto de miocardio, diversas enfermedades y trastornos autoinmunes, uveítis y aterosclerosis; picazón/prurito, psoriasis; obesidad; trastornos de lípidos; cáncer; presión sanguínea; lesión de médula espinal; y trastornos renales.
- 25