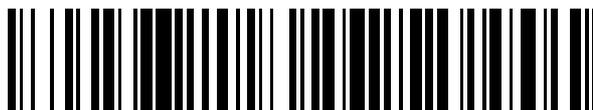


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 666 134**

51 Int. Cl.:

**C07D 403/06** (2006.01)

**A61K 31/4196** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **28.07.2014 PCT/EP2014/066159**

87 Fecha y número de publicación internacional: **05.02.2015 WO15014785**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.07.2014 E 14748150 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018 EP 3027606**

54 Título: **Compuestos para potenciar la función cognitiva**

30 Prioridad:

**02.08.2013 EP 13179148**

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

**03.05.2018**

73 Titular/es:

**UCB BIOPHARMA SPRL (100.0%)**

**60 Allée de la Recherche**

**1070 Brussels, BE**

72 Inventor/es:

**MONTEL, FLORIAN y**

**JNOFF, ERIC**

74 Agente/Representante:

**PONS ARIÑO, Ángel**

**Observaciones:**

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 666 134 T3

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

## DESCRIPCIÓN

Compuestos para potenciar la función cognitiva

5 **Campo de la invención**

La invención se refiere a derivados de 2-oxo-1-pirrolidinotriazol, procesos para prepararlos, composiciones farmacéuticas que los contienen y a su uso como productos farmacéuticos para potenciar la función cognitiva o para contrarrestar el declive cognitivo en un mamífero.

10

**Antecedentes de la invención**

Los trastornos cognitivos, es decir, las alteraciones de la memoria y los procesos de aprendizaje, tienen un efecto perjudicial significativo sobre la calidad de vida de los pacientes afectados por ellos. Los trastornos cognitivos clínicamente reconocidos varían de deterioro cognitivo leve a demencia de gravedad variable. Los trastornos cognitivos también pueden asociarse a varias enfermedades o trastornos tales como esquizofrenia, depresión o enfermedad de Parkinson.

15

Se cree que el deterioro cognitivo leve ("DCL") es un estado de transición entre los cambios cognitivos del envejecimiento normal y los problemas más graves producidos por la enfermedad de Alzheimer. La demencia es un síndrome de amplio espectro clínicamente reconocido que conlleva la pérdida progresiva de capacidades cognitivas. La demencia puede ser uno de los muchos síntomas de diversas enfermedades neurológicas o la principal anomalía asociada a la enfermedad, como es el caso en la enfermedad de Alzheimer. Causas más comunes de demencia incluyen atrofia cerebral asociada a enfermedad de Alzheimer, enfermedad de cuerpos de Lewy, degeneración lobular frontotemporal, enfermedad de Pick, estrechamiento vascular o bloqueo en el cerebro (es decir, la demencia vascular también se conoce como demencia multi-infarto), enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, traumatismo craneoencefálico, infección por VIH o síndrome de Down.

20

25

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una enfermedad degenerativa progresiva del cerebro principalmente asociada al envejecimiento. La EA es uno de los varios trastornos que producen la pérdida gradual de células del cerebro y es una de, y posiblemente la causa más frecuente de, demencia. La presentación clínica de la EA se caracteriza por pérdida de memoria, conocimiento, razonamiento, criterio y orientación. El deterioro cognitivo leve (DCL) es frecuentemente la primera etapa identificada de la EA. A medida que progresa la enfermedad, también se afectan las capacidades motoras, sensoriales y lingüísticas hasta que hay alteración global de múltiples funciones cognitivas. Estas pérdidas cognitivas se producen gradualmente, pero normalmente conducen a alteración grave, y la enfermedad conduce con el tiempo a muerte en el intervalo de tres a veinte años.

30

35

Actualmente solo hay algunas medicaciones que se ha mostrado que proporcionan a lo sumo un beneficio modesto, principalmente transitorio, a los pacientes que padecen deterioro cognitivo. Se ha mostrado que los inhibidores de la colinesterasa (anticolinesterasas), tales como donepezilo (Aricept®), galantamina (Razadyne®, Razadyne ER®, Reminyl®, Nivalin®) y tartrato de rivastigmina (Exelon®) son eficaces en la demencia por enfermedad de Alzheimer de leve a moderada. Exelon® ha sido recientemente autorizado para el tratamiento de demencia de leve a moderada asociada a enfermedad de Parkinson. La memantina, un antagonista de los receptores de NMDA, es la primera medicación autorizada para la enfermedad de Alzheimer que actúa sobre el sistema glutamatérgico (Axura®, Akatinol®, Namenda®, Ebixa®). Estos fármacos, sin embargo, no tienen solo eficacia limitada demostrada, sino también considerables efectos secundarios que en algunos casos conducen a la interrupción de la terapia. Con el aumento en la esperanza de vida y el envejecimiento general de la población existe una necesidad de desarrollar fármacos que puedan retrasar o aliviar la función cognitiva en pacientes seniles.

40

45

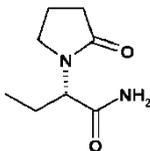
El deterioro cognitivo asociado a la esquizofrenia (DCAE) es una parte intrínseca de la enfermedad, que afecta a la mayoría de los pacientes, y frecuentemente precede a su aparición. Afecta a una amplia variedad de funciones cognitivas, particularmente memoria, atención, motricidades, función ejecutora y conocimiento social tras la regulación errónea de varios sistemas de neurotransmisores. Ningún tratamiento está actualmente específicamente autorizado para DCAE (O'Carroll, *Advances in Psychiatric Treatment* 6, 161-168 (2000); Millan et al., *Nature Rev. Drug Discovery* 11, 141-168 (2012)).

50

55

Levetiracetam o la acetamida de (S)-(-)-alfa-etil-2-oxo-1-pirrolidina, es un compuesto levógiro, desvelado en la patente europea N.º EP-162036 como que es un agente protector para el tratamiento y la prevención de agresiones de tipo hipóxicas e isquémicas del sistema nervioso central. Levetiracetam tiene la siguiente estructura:

60

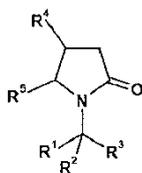


Levetiracetam ha sido autorizado, y es comercializado como Keppra®, en muchos países que incluyen la Unión europea y Estados Unidos para el tratamiento de diversas formas de epilepsia, una indicación terapéutica para la que se ha demostrado que su enantiómero dextrógiro, la acetamida de (R)-(+)-alfa-etil-2-oxo-1-pirrolidina, carece completamente de actividad (Gower et al., Eur. J. Pharmacol. 222, 193-203 (1992)).

Se ha informado repetidamente, sin embargo, que levetiracetam no tiene impacto sobre la función cognitiva tanto en animales, además de en seres humanos (Lamberty et al, Epilepsy & Behavior 1, 333-342 (2000); Klitgaard et al. Epilepsy Research 50, 55-65 (2002); Shannon H & Love, P. Epilepsy & Behavior 7, 620-628 (2005); Higgins et al. Psychopharmacology 207, 513-527 (2010)).

Fármacos de tipo racetam adicionales incluyen piracetam, oxiracetam, aniracetam, pramiracetam y fenilpiracetam, que se han usado en seres humanos y algunos de los cuales están disponibles como suplementos dietéticos. De éstos, oxiracetam y aniracetam ya no están en uso clínico. Pramiracetam mejoró según parece los déficits cognitivos asociados a lesiones cerebrales traumáticas. Aunque piracetam no presentó beneficios a largo plazo para el tratamiento de deterioros cognitivos leves, estudios recientes demostraron su efecto neuroprotector cuando se usa durante la cirugía de derivación coronaria. También fue eficaz en el tratamiento de trastornos cognitivos de orígenes cerebrovasculares y traumáticos; sin embargo, su efecto global sobre la reducción de la depresión y ansiedad fue superior a mejorar la memoria. Como terapia suplementaria, parece beneficiar a individuos con epilepsia mioclónica y discinesia tardía. Fenilpiracetam es más potente que piracetam y se usa para una variedad más amplia de indicaciones. En combinación con un fármaco vasodilatador, pareció que piracetam tenía un efecto beneficioso aditivo sobre diversas incapacidades cognitivas.

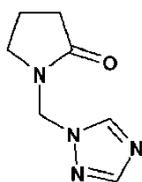
Los derivados de pirrolidona en particular para el tratamiento de epilepsia se desvelan en el documento WO 2006/128693 y en el documento WO 2006/128692:



En dicha fórmula

- R<sup>3</sup> puede ser - entre otros - un 1H-1,2,4-triazol-1-ilo y
- R<sup>4</sup> puede ser un arilo sustituido o sin sustituir.

Un compuesto de triazolpirrolidona específico que tiene la siguiente fórmula se desvela en el documento WO 2006/128693



### Sumario de la invención

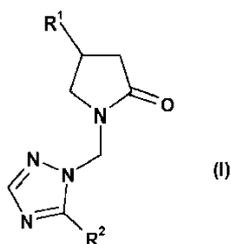
La presente invención se refiere a compuestos, composiciones y métodos para el tratamiento de afecciones asociadas al potenciamiento o mejora de la capacidad cognitiva o para contrarrestar el declive cognitivo.

Un aspecto adicional de la presente invención consiste en composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto que se ha identificado conforme al método anteriormente explicado y que puede además contener un excipiente farmacéuticamente aceptable.

Aspectos adicionales de la invención serán evidentes a partir de la memoria descriptiva detallada.

### Descripción detallada de la invención

Los compuestos y sus tautómeros, estereoisómeros y sales útiles para el tratamiento de afecciones asociadas al potenciamiento o mejora de la capacidad cognitiva o para contrarrestar el declive cognitivo son aquellos de fórmula (I)



en la que

- 5  $R^1$  es un resto 3,4,5-trifluorofenilo o 3-cianofenilo;  
 $R^2$  es o bien un resto ciano de fórmula -CN o bien un átomo de cloro.

En una realización, el grupo  $R^1$  de fórmula (I) está en la configuración 4R. En otra, está en la configuración 4S.

- 10 En una realización preferida, el grupo  $R^1$  es un resto 3,4,5-trifluorofenilo.

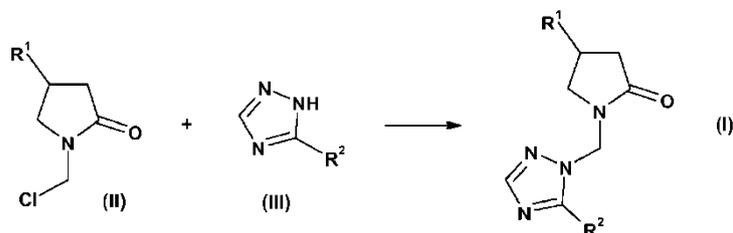
Compuestos específicos de la presente invención son aquellos seleccionados del grupo que consiste en:

- 15
- (4R)-1-[(5-cloro-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona;
  - 1-[[[(4R)-2-oxo-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-1-il]metil]-1H-1,2,4-triazol-5-carbonitrilo];
  - (+)-3-{1-[(5-cloro-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-5-oxopirrolidin-3-il}benzonitrilo.

- 20 Los compuestos de fórmula (I) según la invención pueden prepararse análogamente a métodos convencionales como es entendido por el experto en la materia de química orgánica sintética.

Según una realización, los compuestos que tienen la fórmula general I pueden prepararse por sustitución nucleófilo de un compuesto de fórmula II por un triazol de fórmula III según la ecuación:

25

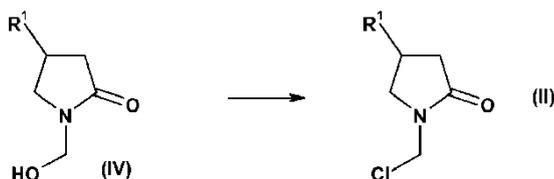


en las que  $R^1$  y  $R^2$  tienen las mismas definiciones que se han definido anteriormente para los compuestos de fórmula I.

30

Esta reacción puede realizarse, por ejemplo, en tetrahidrofurano o en tolueno en presencia de una base tal como hidruro de sodio, o según cualquier método conocido para el experto en la materia.

- 35 Pueden prepararse compuestos de fórmula II por cloración de un compuesto de fórmula IV, o según cualquier método conocido para el experto en la materia.



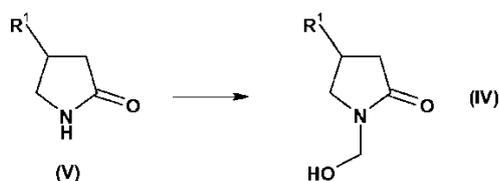
en las que  $R^1$  tiene las mismas definiciones que se han definido anteriormente.

40

Esta reacción puede realizarse, por ejemplo, en diclorometano a 0 °C en presencia de cloruro de oxalilo, o según cualquier método conocido para el experto en la materia.

Pueden prepararse compuestos de fórmula IV por formilación de una pirrolidona de fórmula V según la ecuación:

45

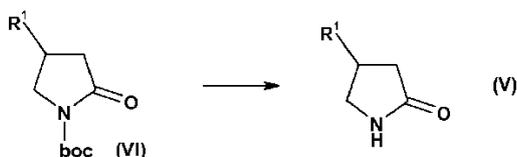


en las que R<sup>1</sup> tiene las mismas definiciones que se han definido anteriormente.

- 5 Esta reacción puede realizarse, por ejemplo, en tetrahidrofurano a temperatura ambiente en presencia de paraformaldehído y una base tal como terc-butóxido de potasio, o según cualquier método conocido para el experto en la materia.

Pueden prepararse compuestos de fórmula V por desprotección de un compuesto de fórmula VI según la ecuación:

10



en las que R<sup>1</sup> tiene las mismas definiciones que se han definido anteriormente.

- 15 Esta reacción puede realizarse, por ejemplo, a temperatura ambiente en diclorometano en presencia de un ácido tal como ácido trifluoroacético, o según cualquier método conocido para el experto en la materia.

La síntesis de compuestos de fórmula VI puede realizarse usando procedimientos descritos en la bibliografía (por ejemplo, en el documento WO 2006/128693) o según cualquier método conocido para el experto en la materia.

20

En otra realización, la presente invención incluye la síntesis de los siguientes productos intermedios:

- (4R)-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona;
- 25 • (4R)-1-(hidroximetil)-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona;
- (4R)-1-(clorometil)-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona;
- 4-(3-cianofenil)-2-oxopirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo;
- 30 • 3-(5-oxopirrolidin-3-il)benzocitrilo;
- 3-[1-(hidroximetil)-5-oxopirrolidin-3-il]benzocitrilo; y
- 35 • 3-[1-(clorometil)-5-oxopirrolidin-3-il]benzocitrilo.

Las "sales farmacéuticamente aceptables" según la invención incluyen formas de sal de ácido o base terapéuticamente activas, no tóxicas, que los compuestos de fórmula I son capaces de formar.

- 40 La forma de sal de adición de ácido de un compuesto de fórmula I que se produce en su forma libre como una base puede obtenerse tratando la base libre con un ácido apropiado tal como un ácido inorgánico, por ejemplo, un hidrácido tal como clorhídrico o bromhídrico, sulfúrico, nítrico, fosfórico y similares; o un ácido orgánico, tal como, por ejemplo, acético, trifluoroacético, hidroxiacético, propanoico, láctico, pirúvico, malónico, succínico, maleico, fumárico, málico, tartárico, cítrico, metanosulfónico, etanosulfónico, bencenosulfónico, p-toluenosulfónico, ciclámico, salicílico, p-aminosalicílico, pamoico y similares.

Los compuestos de fórmula I que contienen protones ácidos pueden convertirse en sus formas de sal de adición de base terapéuticamente activas, no tóxicas, por ejemplo sales metálicas o de amina, mediante tratamiento con bases orgánicas e inorgánicas apropiadas. Formas de sal de base apropiadas incluyen, por ejemplo, sales de amonio, sales de metales alcalinos y alcalinotérreos, por ejemplo, sales de litio, sodio, potasio, magnesio, calcio y similares, sales con bases orgánicas, por ejemplo, sales de N-metil-D-glucamina, hidrabamina, y sales con aminoácidos tales como, por ejemplo, arginina, lisina y similares.

En cambio, dichas formas de sal pueden convertirse en las formas libres mediante tratamiento con una base o ácido apropiado.

55

Los compuestos de fórmula I y sus sales pueden estar en forma de un solvato, que se incluye dentro del alcance de la presente invención. Tales solvatos incluyen, por ejemplo, hidratos, alcoholatos y similares.

5 Los compuestos de fórmula I y algunos de sus productos intermedios tienen al menos un centro estereogénico en su estructura. Este centro estereogénico puede estar presente en una configuración R o a S, dicha notación R y S se usa en correspondencia con las reglas descritas en Pure Appl. Chem. 45, 11-30 (1976).

10 La invención también se refiere a todas las formas enantioméricas de los compuestos de fórmula I o mezclas de los mismos (incluyendo todas las posibles mezclas de estereoisómeros).

Con respecto a la presente invención, referencia a un compuesto o compuestos pretende englobar ese compuesto en cada una de sus posibles formas isoméricas y mezclas de las mismas, a menos que se refiera específicamente a la forma isomérica particular.

15 La expresión "enantioméricamente puro", como se usa en el presente documento, se refiere a compuestos que tienen excesos enantioméricos (ee) superiores al 95 %.

20 También están incluidos por la fórmula (I) aquellos compuestos donde el isótopo predominante de hidrógeno está sustituido por el deuterio o tritio.

Los compuestos según la presente invención pueden existir en diferentes formas polimórficas. Aunque no se indique explícitamente en la fórmula anterior, tales formas pretenden incluirse dentro del alcance de la presente invención.

25 Los compuestos de la presente invención son para su uso como un medicamento, en el tratamiento de afecciones asociadas al potenciamiento o mejora de la capacidad cognitiva o para contrarrestar el declive cognitivo.

30 Los métodos de la invención comprenden administración a un mamífero (preferentemente un ser humano) que padece las afecciones o trastornos anteriormente mencionados, de un compuesto según la invención en una cantidad suficiente para aliviar o prevenir el trastorno o afección.

El compuesto se administra convenientemente en cualquier forma de dosificación unitaria adecuada, que incluye, pero no se limita a, una que contiene 0,1 a 2000 mg, preferentemente 0,1 a 1000 mg, más preferentemente 0,1 a 500 mg de principio activo por forma de dosificación unitaria.

35 Los términos "tratamiento de afecciones asociadas al potenciamiento o mejora de la capacidad cognitiva" o "para contrarrestar el declive cognitivo" o "tratamiento de un trastorno cognitivo" o "mejorar la función cognitiva" o "contrarrestar el declive de la función cognitiva" usados en toda esta memoria descriptiva deben significar promover la función cognitiva (afectando la función cognitiva alterada en el sujeto de manera que se parezca más rigurosamente a la función de un sujeto no alterado normal de la misma edad, que incluye afectar estados en los que  
40 la función cognitiva es reducida en comparación con un sujeto normal) y conservar la función cognitiva (afectando la función cognitiva normal o alterada de forma que no disminuya o no caiga por debajo de la observada en el sujeto tras la primera presentación o diagnóstico, por ejemplo, hasta el punto de declive esperado en ausencia de tratamiento). La idoneidad de los compuestos según la presente invención para afecciones asociadas al potenciamiento o mejora de la capacidad cognitiva puede probarse mediante ensayos que son muy conocidos en la  
45 técnica. Tales ensayos incluyen en particular las pruebas de reconocimiento de objetos novedosos explicadas en el Ejemplo 4 y 5, además de la prueba del laberinto en Y explicada en el Ejemplo 6.

En una realización de la invención, el mamífero tiene función cognitiva normal que mejora.

50 En una realización adicional, el mamífero presenta deterioro cognitivo asociado al envejecimiento.

55 En todavía una realización adicional, el mamífero es un ser humano con deterioro cognitivo asociado a una enfermedad o trastorno tal como autismo, dislexia, trastorno por déficit de atención con hiperactividad, trastornos obsesivos-compulsivos, psicosis, trastornos bipolares, depresión, síndrome de Tourette y trastornos del aprendizaje en niños, adolescentes y adultos, deterioro de la memoria asociado a la edad, declive cognitivo asociado a la edad, enfermedad de Parkinson, síndrome de Down, lesión cerebral traumática, enfermedad de Huntington, parálisis supranuclear progresiva (PSP), VIH, accidente cerebrovascular, enfermedades vasculares, enfermedades de Pick o de Creutzfeldt-Jacob, esclerosis múltiple (EM), otros trastornos de la materia blanca y empeoramiento cognitivo inducido por fármacos.

60 En todavía una realización adicional, la alteración de la función cognitiva se produce por, o se atribuye a, enfermedad de Alzheimer. En otra realización, la alteración de la función cognitiva se produce por, o se atribuye a, deterioro cognitivo leve (DCL). En una realización adicional, la alteración de la función cognitiva se produce por, o se atribuye a, esquizofrenia.

65 Los compuestos según la presente invención pueden usarse para la fabricación de una composición farmacéutica

para el tratamiento de un trastorno cognitivo o para mejorar la función cognitiva o contrarrestar el declive de la función cognitiva. Tales composiciones normalmente contienen el principio activo y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

- 5 Diluyentes y vehículos adecuados pueden adoptar una amplia variedad de formas dependiendo de la vía de administración deseada, por ejemplo, oral, rectal, parenteral o intranasal.

Las composiciones farmacéuticas que comprenden los compuestos según la invención pueden, por ejemplo, administrarse por vía oral, por vía parenteral, es decir, por vía intravenosa, por vía intramuscular o por vía subcutánea, por vía intratecal, por vía transdérmica (parche), por inhalación o por vía intranasal.

Composiciones farmacéuticas adecuadas para administración por vía oral pueden ser sólidos o líquidos y pueden, por ejemplo, estar en forma de comprimidos, píldoras, comprimidos recubiertos de azúcar, cápsulas de gelatina, soluciones, jarabes, chicles y similares.

15 Para este fin, el principio activo puede mezclarse con un diluyente inerte o un vehículo farmacéuticamente aceptable no tóxico tal como almidón o lactosa. Opcionalmente, estas composiciones farmacéuticas también pueden contener un aglutinante tal como celulosa microcristalina, goma tragacanto o gelatina, un disgregante tal como ácido algínico, un lubricante tal como estearato de magnesio, un deslizante tal como dióxido de silicio coloidal, un edulcorante tal como sacarosa o sacarina, o agentes colorantes o un aromatizante tal como menta o salicilato de metilo.

La invención también contempla composiciones que pueden liberar la sustancia activa de una forma controlada. Las composiciones farmacéuticas que pueden usarse para administración parenteral están en forma convencional tal como soluciones o suspensiones acuosas o aceitosas generalmente contenidas en ampollas, jeringas desechables, viales de vidrio o plástico o recipientes para infusión.

Además del principio activo, estas soluciones o suspensiones pueden opcionalmente también contener un diluyente estéril tal como agua para inyección, una solución salina fisiológica, aceites, polietilenglicoles, glicerina, propilenglicol u otros disolventes sintéticos, agentes antibacterianos tales como alcohol bencílico, antioxidantes tales como ácido ascórbico o bisulfito sódico, agentes quelantes tales como ácido etilendiaminatetraacético, tampones tales como acetatos, citratos o fosfatos y agentes para ajustar la osmolaridad, tales como cloruro sódico o dextrosa.

También están comprendidas por la presente invención composiciones farmacéuticas que contienen el compuesto de la presente invención en forma de un co-cristal farmacéuticamente aceptable.

Tales composiciones farmacéuticas pueden además contener agentes terapéuticos conocidos o comercializados usados en el tratamiento de trastornos cognitivos o uno neurológico (EA) que incluyen, pero no se limitan a, donepezilo (Aricept®), galantamina (Razadyne®, Razadyne ER®, Reminyl®, Nivalin®), tartrato de rivastigmina (Exelon®), memantina (Axura®, Akatinol®, Namenda®, Ebixa®).

La actividad pro-cognitiva de los compuestos según la presente invención, en particular de fórmula I, o sus sales farmacéuticamente aceptables, puede determinarse mediante una variedad de pruebas y modelos preclínicos conocidos para un experto en la materia. Tales pruebas pueden poner en duda la eficacia en múltiples fases de la memoria y tipos. A diferencia de poner en duda un tipo de memoria particular o fase, los modelos cognitivos prueban la capacidad de un compuesto para prevenir o invertir un déficit de memoria en una vía, sistema o función cerebral dada.

En modelos de animales preclínicos, los compuestos según la presente invención mejoran el déficit de memoria colinérgica inducido por escopolamina, un antagonista del receptor muscarínico. También mejoran el déficit de memoria inducido por beta-amiloide o por administración subcrónica de fenciclidina (PCP), un antagonista de NMDA no competitivo. Los déficits de memoria en la enfermedad de Alzheimer pueden tener tanto un origen colinérgico como consecuencia de la degeneración colinérgica específica durante la progresión de la enfermedad, como un origen amiloide como consecuencia del aumento de beta-amiloide en el cerebro. Los déficits cognitivos en la esquizofrenia resultan de regulación errónea de varios sistemas de neurotransmisores, que incluyen glutamato y dopamina, imitados por los efectos de antagonistas de NMDA tales como PCP. Por tanto, se cree que los compuestos según la presente invención tienen un fuerte potencial para mejorar los déficits cognitivos en enfermedad de Alzheimer y deterioro cognitivo asociado a esquizofrenia.

Inesperadamente, los compuestos según la presente invención muestran fuertes actividades en modelos *in vivo* para cognición (véanse los Ejemplos 4, 5 y 6).

### Ejemplos

Los siguientes ejemplos ilustran cómo pueden sintetizarse los compuestos cubiertos por la fórmula (I). Se proporcionan para fines ilustrativos solo y no pretenden, ni deben interpretarse, de ninguna manera como limitantes de la invención. Aquellos expertos en la materia apreciarán que pueden hacerse variaciones y modificaciones

rutinarias de los siguientes ejemplos sin superar el espíritu o alcance de la invención.

5 Los espectros de RMN se registran en un espectrómetro BRUKER AVANCE 400 NMR provisto de una estación de trabajo Linux que ejecuta el software XWIN NMR 3.5 y un cabezal de sonda inverso 1H/BB de 5 mm, o BRUKER DRX 400 NMR provisto de un SG Fuel que ejecuta el software XWIN NMR 2.6 y un cabezal de sonda triple <sup>1</sup>H/<sup>13</sup>C/<sup>19</sup>F de geometría inversa de 5 mm. El compuesto se estudia en solución de d<sub>6</sub>-sulfóxido de dimetilo (o d<sub>3</sub>-cloroformo) a una temperatura de sonda de 313 K o 300 K y a una concentración de 10 mg/ml. El instrumento está fijado en la señal de deuterio de d<sub>6</sub>-sulfóxido de dimetilo (o d<sub>3</sub>-cloroformo). Los desplazamientos químicos se dan en ppm a campo bajo de TEM (tetrametilsilano) tomado como patrón interno.

10 Las mediciones de espectrometría de masas en modo EM/CL se realizan del siguiente modo:

Condiciones de HPLC

15 Los análisis se realizan usando un sistema de HPLC Waters Alliance montado con una columna INERTSIL ODS 3, DP 5 µm, 250 x 4,6 mm.

20 El gradiente se ejecuta del 100 % de disolvente A (acetonitrilo, agua, ácido trifluoroacético (10/90/0,1, v/v/v)) al 100 % de disolvente B (acetonitrilo, agua, ácido trifluoroacético (90/10/0,1, v/v/v)) en 7 min con un mantenimiento a 100 % de B de 4 min. El caudal se fija a 2,5 ml/min y se usa una división de 1/25 justo antes de la fuente de API.

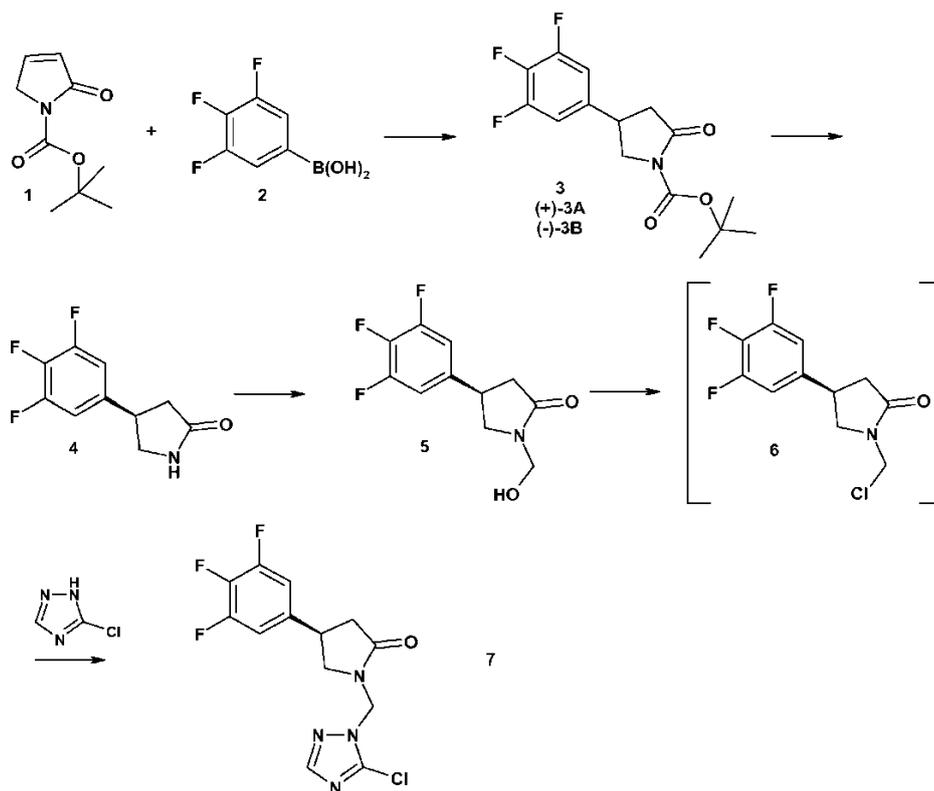
Condiciones de EM

25 Las muestras se disuelven en acetonitrilo/agua, 70/30, v/v, a la concentración de aproximadamente 250 µg/ml. Los espectros de API (+ o -) se realizan usando un espectrómetro de masas de trampa iónica FINNIGAN LCQ. La fuente de APCI operó a 450 °C y el calentador del capilar a 160 °C. La fuente de ESI operó a 3,5 kV y el calentador del capilar a 210 °C.

30 Se realizan separaciones por cromatografía preparativa sobre gel de sílice 60 Merck, tamaño de partícula 15-40 µm, referencia 1.15111.9025, usando columnas de compresión axial Novasep (80 mm d.i.), caudales entre 70 y 150 ml/min. Cantidad de gel de sílice y mezclas de disolventes como se describen en procedimientos individuales. Las separaciones en fase inversa se llevan a cabo usando 500 g de o bien gel de sílice Kromasil C18 10 µm (condiciones ácidas o neutras) o Phenomenex Gemini C18 10 µm (condiciones básicas) en columnas de 8 cm DI con un caudal de 150 ml/min. Los productos se detectan a 215 nm, a menos que se especifique de otro modo.

35 Se realizan separaciones por cromatografía quiral preparativa en una columna DAICEL Chiralpak IC 20 µm, 100\*500 mm usando un instrumento construido internamente con diversas mezclas de alcoholes inferiores y alcanos C5 a C8 lineales, ramificados o cíclicos a ± 350 ml/min. Mezclas de disolventes como se describen en procedimientos individuales.

40 **Ejemplo 1: Síntesis de (4R)-1-[(5-cloro-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona 7.**



### 1.1 Síntesis de 2-oxo-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo 3 y enantiómeros.

5 A una solución de 2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-1-carboxilato de *tert*-butilo **1** (10 g, 1 eq., 54,6 mmoles) en dioxano/agua (100 ml/30 ml) se añaden a temperatura ambiente ácido (3,4,5-trifluorofenil)borónico **2** (19,2 g, 2 eq., 109,2 mmoles), fluoruro de cesio (24,9 g, 3 eq., 163,8 mmoles), ( $\pm$ )-2,2'-bis(difenil-fosfino)-1,1'-binaftilo (1,5 g, 4,5 %, 2,5 mmoles), carbonato de potasio (22,6 g, 3 eq., 163,8 mmoles) y dímero de cloro(1,5-ciclooctadieno)rodio(I) (0,82 g, 1,5 %, 8,2 mmoles). La mezcla se calienta a 110 °C durante 2 h. El disolvente se elimina a presión reducida y el residuo se purifica por cromatografía sobre gel de sílice (eluyente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 96/3,5/0,5 v/v/v) proporcionando 2-oxo-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo **3**. Los enantiómeros se resuelven por cromatografía quiral (Chiralpak IC, 150\*4,6 mm, eluyente: heptano/AcOEt/dietilamina 80/20/0,1 v/v/v) proporcionando (4R)-2-oxo-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo **3A** (segundo en eluir, 5,1 g), y su enantiómero (4S)-2-oxo-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo **3B** (primero en eluir, 5,2 g) como un sólidos blancos.

Compuesto **3A**:

Rendimiento: 30 %.

CL-EM (MH<sup>+</sup>): 316.

alfa<sub>D</sub> (MeOH, 25 °C): -19,9.

20

### 1.2 Síntesis de (4R)-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona 4.

A 0 °C, se añade TFA (20 ml, 261 mmoles) a una solución de (4R)-2-oxo-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-1-carboxilato de *tert*-butilo **3A** (8 g, 1 eq., 25,4 mmoles) en diclorometano (100 ml). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 h. Entonces, se eliminan el TFA y el disolvente a presión reducida. La mezcla en bruto se vierte en una solución saturada acuosa de NaHCO<sub>3</sub> (100 ml) y se extrae con AcOEt (3\*200 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentran a presión reducida. La conversión es total y la evaporación proporciona 5,5 g de (4R)-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona **4**, que se usa en la siguiente etapa sin más purificación.

CL-EM (MH<sup>+</sup>): 216; CL-EM (MH<sup>-</sup>): 214.

alfa<sub>D</sub> (MeOH, 22 °C): -20,1.

30

### 1.3 Síntesis de (4R)-1-(hidroximetil)-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona 5.

35 A una solución de (4R)-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona **4** (5,5 g, 1 eq., 25,6 mmoles) en THF (20 ml) se añaden *tert*-butóxido de potasio (0,049 g, 0,02 eq., 0,44 mmoles) y paraformaldehído (0,95 g, 1,2 eq., 31,1 mmoles) a temperatura ambiente. Después de agitación durante la noche a 60 °C, la mezcla se inactiva con salmuera (100 ml) y la fase acuosa se extrae con AcOEt (2\*100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre MgSO<sub>4</sub> y se

concentran a presión reducida dando 4,7 g de (4R)-1-(hidroximetil)-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona **5**, que se usa en la siguiente etapa sin más purificación.

CL-EM (MH<sup>+</sup>): 246.

RMN <sup>1</sup>H (DMSO) δ 7,34 (dd, J<sub>1</sub>=9,2 Hz, J<sub>2</sub>=6,8 Hz, 2 H), 5,87 (t, J=6,8 Hz, 1 H), 4,70 (m, 2 H), 3,78 (m, 1 H), 3,62 (m, 1 H), 3,40 (m, 1 H), 2,68 (m, 1 H), 2,43 (dd, J<sub>1</sub>=16,6 Hz, J<sub>2</sub>=8,6 Hz, 1 H).

#### 1.4 Síntesis de (4R)-1-[(5-cloro-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-4-(3,4,5-trifluoro-fenil)pirrolidin-2-ona **7**.

1) A una solución fría (0 °C) de (4R)-1-(hidroximetil)-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona **5** (4,7 g, 1 eq., 19,4 mmoles) en CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (200 ml) se añade cloruro de oxalilo (3,7 ml, 2 eq., 38 mmoles). Después de agitar durante 30 minutos a 0 °C, la mezcla de reacción se evapora a vacío dando (4R)-1-(clorometil)-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona **6** que se disuelve en THF (100 ml) proporcionando la Solución A.

2) A una solución fría (0 °C) de 5-cloro-1H-1,2,4-triazol (3,0 g, 1,5 eq., 29,1 mmoles) en THF (100 ml) se añade NaH al 95 % en aceite mineral (0,9 g, 2 eq., 38,7 mmoles). La mezcla de reacción se agita durante 30 minutos a 0 °C proporcionando la Solución B.

3) La Solución A se añade a la Solución B a 0 °C y la mezcla de reacción se mantiene con agitación durante la noche a temperatura ambiente. La mezcla se inactiva con agua (100 ml) y se extrae con AcOEt (2\*100 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera (100 ml), se secan sobre MgSO<sub>4</sub>, luego se concentran a presión reducida dando 7 g del compuesto **7** como material en bruto. El residuo en bruto se purifica por cromatografía sobre gel de sílice (eluyente: CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/MeOH/NH<sub>4</sub>OH 95/5/0,5 v/v/v) y recristaliza en iPr<sub>2</sub>O/EtOH dando 1,6 g de (4R)-1-[(5-cloro-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona **7** como un sólido blanco.

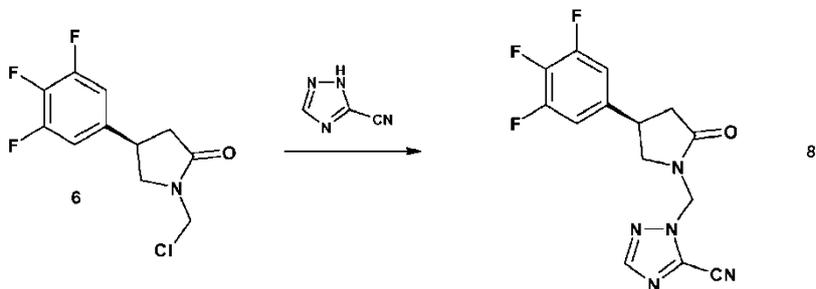
Rendimiento: 25 %.

CL-EM (MH<sup>+</sup>): 331/333.

RMN <sup>1</sup>H (DMSO) δ 8,12 (s, 1 H), 7,32 (dd, J<sub>1</sub>=9,2 Hz, J<sub>2</sub>=6,9 Hz, 2 H), 5,63 (d, J=1,5 Hz, 2 H), 3,81 (t, J=8,6 Hz, 1 H), 3,62 (t, J=8,4 Hz, 1 H), 3,39 (m, 1 H), 2,71 (dd, J<sub>1</sub>=16,7 Hz, J<sub>2</sub>=8,8 Hz, 1 H), 2,54 (d, J=9,1 Hz, 1 H).

alfa<sub>D</sub> (MeOH, 25 °C): + 9,2.

#### Ejemplo 2: Síntesis de 1-[[[(4R)-2-oxo-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-1-il]-metil]-1H-1,2,4-triazol-5-carbonitrilo **8**



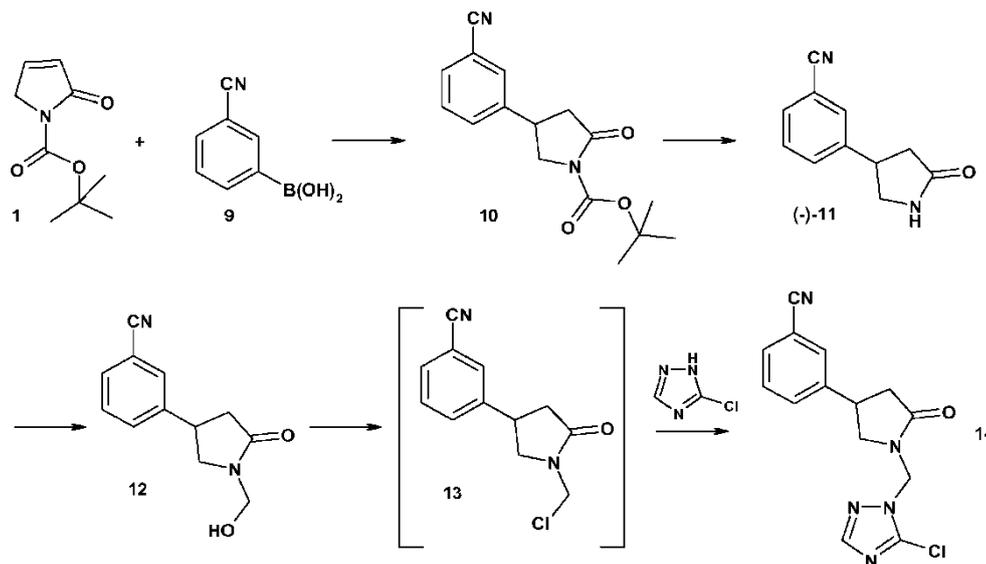
A una solución fría (0 °C) de 1H-1,2,4-triazol-5-carbonitrilo (0,22 g, 1,5 eq., 2,3 mmoles) en tolueno (5 ml) se añade NaH al 95 % en aceite mineral (0,074 g, 2 eq., 3,1 mmoles). Después de 1 hora de agitación a 0 °C, se añade (4R)-1-(clorometil)-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona **6** (0,41 g, 1 eq., 1,5 mmoles) en tolueno (1 ml) y la mezcla de reacción se mantiene con agitación durante 60 horas a temperatura ambiente. La mezcla se inactiva con agua (20 ml) y se extrae con AcOEt (2\*10 ml). Los extractos orgánicos combinados se lavan con salmuera (50 ml), se secan sobre MgSO<sub>4</sub>, luego se concentran a presión reducida dando 0,46 g del compuesto **8** como material en bruto. El residuo en bruto se purifica por cromatografía de fase inversa (columna Kromasil Eternity C18; gradiente: agua/CH<sub>3</sub>CN/NH<sub>4</sub>OH de 80/20/0,1 a 50/50/0,1 en 10 minutos), luego por cromatografía quiral (Chiralpak preparativa IC 80\*380 mm columna; eluyente: heptano/EtOH/dietilamina 50/50/0,1; flujo socrático, 200 ml/min, 30 °C) proporcionando 0,04 g de 1-[[[(4R)-2-oxo-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-1-il]-metil]-1H-1,2,4-triazol-5-carbonitrilo **8** como un sólido blanco.

Rendimiento: 8 %.

CL-EM (MH<sup>+</sup>): 322; CL-EM (MH<sup>-</sup>): 320.

RMN <sup>1</sup>H (DMSO) δ 8,41 (s, 1 H), 7,32 (m, 2 H), 5,79 (m, 2 H), 3,86 (t, J=8,6 Hz, 1 H), 3,63 (quint, J=8,6 Hz, 1 H), 3,45 (m, 1 H), 2,71 (dd, J<sub>1</sub>=16,8 Hz, J<sub>2</sub>=8,6 Hz, 1 H), 2,51 (m, 1 H).

alfa<sub>D</sub> (MeOH, 25 °C): -7,2.

**Ejemplo 3: Síntesis de (+)-3-{1-[(5-cloro-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-5-oxo-pirrolidin-3-il}benzonitrilo 14.****5 3.1 Síntesis de 4-(3-cianofenil)-2-oxopirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo 10.**

A una solución de 2-oxo-2,5-dihidro-1H-pirrole-1-carboxilato de terc-butilo **1** (18,3 g, 1 eq., 100 mmoles), ácido (3-cianofenil)borónico **9** (29,4 g, 2 eq., 200 mmoles) y carbonato de potasio (0,69 g, 0,05 eq., 5 mmoles) en dioxano/agua (300 ml/5 ml) a reflujo se añaden sucesivamente (R)-2,2'-bis(difenil-fosfino)-1,1'-binaftilo (1,6 g, 0,025 eq., 2,5 mmoles) y dímero de cloro(1,5-ciclooctadieno)rodio(I) (0,25 g, 0,005 eq., 0,5 mmoles). La mezcla se agita a reflujo durante 8 h. Se elimina el disolvente a presión reducida, el residuo se trata con agua (150 ml) y se extrae con iPrOAc (250 ml). El tratamiento de la fase orgánica con una solución acuosa saturada de NaHCO<sub>3</sub> y la extracción con iPrOAc proporciona, después de la concentración de la fase orgánica a vacío, 33,9 g de 4-(3-cianofenil)-2-oxopirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo **10** como un aceite marrón.

15 Rendimiento: 100 %.  
CL-EM (MH<sup>+</sup>): 287.

**3.2 Síntesis de (-)-3-(5-oxopirrolidin-3-il)benzonitrilo 11.**

20 Se añade gota a gota 4-(3-cianofenil)-2-oxopirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo **10** (33,9 g, 1 eq., 100 mmoles) en diclorometano (100 ml) a 0 °C a una solución de TFA (31,2 ml, 4 eq., 400 mmoles) en diclorometano (100 ml). La mezcla se agita a temperatura ambiente durante 2 h, luego se extingue con agua (100 ml). La fase orgánica se aísla y se trata con una solución acuosa al 5 % de NaHCO<sub>3</sub> y se concentra a presión reducida. El sólido resultante marrón recristaliza en tolueno dando 7,8 g de (-)-3-(5-oxopirrolidin-3-il)benzonitrilo **11** como un sólido beis.

25 Rendimiento: 42 %.  
CL-EM (MH<sup>+</sup>): 187.  
RMN <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>) δ 7,52 (m, 4 H), 6,13 (s, 1 H), 3,84 (m, 1 H), 3,74 (m, 1 H), 3,42 (m, 1 H), 2,79 (m, 1 H), 2,46 (m, 1 H).  
alfa<sub>D</sub> (MeOH, 25 °C): -28,8.

**3.3 Síntesis de 3-[1-(hidroximetil)-5-oxopirrolidin-3-il]benzonitrilo 12.**

35 A una solución de (-)-3-(5-oxopirrolidin-3-il)benzonitrilo **11** (10 g, 1 eq., 53,7 mmoles) en THF (100 ml) se añaden terc-butóxido de potasio (0,1 g, 0,025 eq., 1,34 mmoles) y paraformaldehído (2 g, 1,2 eq., 64,4 mmoles) a temperatura ambiente. Después de 3 horas de agitación, a 60 °C, la mezcla se inactiva con salmuera (100 ml) y la fase acuosa se extrae con AcOEt (2\*100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentran a presión reducida dando 13,2 g de 3-[1-(hidroximetil)-5-oxopirrolidin-3-il]benzonitrilo **12**, que se usa en la siguiente etapa sin más purificación.

40 CL-EM (MH<sup>+</sup>): 217.

**3.4 Síntesis de (+)-3-{1-[(5-cloro-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-5-oxopirrolidin-3-il}benzonitrilo 14.**

45 1) A una solución fría (0 °C) de 3-[1-(hidroximetil)-5-oxopirrolidin-3-il]benzonitrilo **12** (5 g, 1 eq., 23,1 mmoles) en diclorometano (50 ml) se añade cloruro de oxalilo (4,4 ml, 2 eq., 46,2 mmoles). Después de agitar durante 1 hora a 0 °C, la mezcla de reacción se evapora a vacío dando 3-[1-(clorometil)-5-oxopirrolidin-3-il]benzonitrilo **13**, que se disuelve en THF (100 ml) proporcionando la Solución A.

2) A una solución fría (0 °C) de 5-cloro-1 H-1,2,4-triazol (3,6 g, 1,5 eq., 34,7 mmoles) en THF (100 ml) se añade NaH al 95 % en aceite mineral (1,1 g, 2 eq., 46,2 mmoles). La mezcla de reacción se agita durante 30 minutos a -20 °C proporcionando la Solución B.

3) La Solución A se añade a la Solución B a -20 °C y la mezcla de reacción se mantiene con agitación durante 1 hora a -20 °C. La mezcla se inactiva con agua (200 ml) y se extrae con AcOEt (2\*100 ml). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre MgSO<sub>4</sub> y se concentran a presión reducida dando 8,2 g del compuesto **14** como material en bruto. El residuo en bruto se purifica por cromatografía de fase inversa (EM/CL) (columna Kromasil Eternity C18; gradiente: agua/CH<sub>3</sub>CN/NH<sub>4</sub>OH de 80/20/0,1 a 50/50/0,1 en 10 minutos) proporcionando (+)-3-{1-[(5-cloro-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-5-oxopirrolidin-3-il}benzotrilo **14** (segundo en eluir, 1,2 g) como un aceite amarillo.

Rendimiento: 17 %.

CL-EM (MH<sup>+</sup>): 302/304.

RMN <sup>1</sup>H (DMSO) δ 8,08 (s, 1 H), 7,77 (s, 1 H), 7,69 (d, J=7,6 Hz, 1 H), 7,62 (m, 1 H), 7,50 (t, J=7,7 Hz, 1 H), 5,62 (s, 2 H), 3,83 (t, J=8,7 Hz, 1 H), 3,65 (quint, J=8,4 Hz, 1 H), 3,40 (dd, J<sub>1</sub>=9,0 Hz, J<sub>2</sub>=7,9 Hz, 1 H), 2,73 (dd, J<sub>1</sub>=16,8 Hz, J<sub>2</sub>=8,8 Hz, 1 H), 2,51 (m, 1 H).

alfa<sub>D</sub> (MeOH, 25 °C): +16,3.

#### **Ejemplo 4: Modelo *in vivo* para evaluar la eficacia de un compuesto de prueba en los trastornos del aprendizaje y la memoria (prueba de reconocimiento de objetos novedosos; NOR)**

La evaluación de las propiedades promnésicas en el modelo de ratón de reconocimiento de objetos novedosos de 2 intentos en una situación de déficit de memoria inducido por escopolamina: el paradigma de reconocimiento de objetos de dos intentos, inicialmente desarrollado por Ennaceur y Delacour (1988) en la rata, puede considerarse un modelo de memoria de tipo episódica. Este paradigma de aprendizaje y memoria se basa en la actividad exploratoria espontánea de roedores y no implica el aprendizaje o refuerzo de reglas. Se ha mostrado que el paradigma de reconocimiento de objetos es sensible a los efectos del envejecimiento y la disfunción colinérgica (Scali et al, 1994; Bartolini et al, 1996). Este modelo ha sido adaptado a ratones y validado usando agentes farmacológicos (Bertaina-Anglade et al, 2003).

El fin del estudio es evaluar la capacidad de los compuestos de prueba para invertir el déficit experimental inducido por escopolamina. Los experimentos se llevaron a cabo usando ratones C57BL/6J macho (Centre d'Elevage R. Janvier, B.P. 55, 53940 Le Genest-Saint-Isle, F.), que pesaban 20-35 g (10-14 semanas de edad) a su llegada que deben cumplir los criterios de inclusión descritos en el procedimiento experimental. Los animales se alojaron en grupos de 4-9 en jaulas de polipropileno (área del suelo = 777 cm<sup>2</sup>) en condiciones normales: temperatura ambiente (22 ± 2 °C), ciclo de luz/oscuridad (12 h/12 h), agua y comida (SAFE A04) a voluntad. El ruedo experimental es una caja de madera cuadrada (40x40x40 cm) pintada de azul oscuro, con cuadrados pintados de negro de 8 \* 8 cm bajo un suelo de Plexiglas claro. El ruedo se colocó en una habitación oscura iluminada por bombillas que daban una luz tenue uniforme en la caja (aproximadamente 60 lux). El día antes de la prueba, los ratones se habituaron al entorno durante un máximo de 30 min. En el día experimental, los ratones se sometieron a dos intentos separados un intervalo entre intentos de 60 min. Durante el primer intento (intento de adquisición, T1), los ratones se colocaron en el ruedo que contenía 2 objetos idénticos y se determinó el tiempo requerido por cada animal para completar los 20 s de exploración del objeto con un tiempo de corte de 12 min. La exploración se consideró que era dirigiendo la nariz a una distancia inferior a 2 cm del objeto y/o tocando el objeto. Para el segundo intento (intento de prueba, T2), uno de los objetos presentados en el primer intento se sustituyó por un objeto desconocido (objeto novedoso), los ratones se colocaron de nuevo en el ruedo durante 5 min y se determinó la exploración de cada objeto junto con la actividad locomotora. Se usó un criterio de nivel mínimo de exploración del objeto en el estudio para excluir animales con niveles naturalmente bajos de exploración espontánea: solo se incluyeron en el estudio los animales que tuvieron un nivel mínimo de exploración de objetos de 3 s durante el intento de prueba (Novedoso + Familiar ≥ 3 s). Se midieron los siguientes parámetros: tiempo requerido para lograr 20 s de exploración del objeto en T1 (s), actividad locomotora en T1 (número de líneas cruzadas), tiempo pasado en la exploración activa del objeto familiar en T2 (s), tiempo pasado en la exploración activa del objeto novedoso en T2 (s), actividad locomotora en T2 (número de líneas cruzadas). Se usó la vía de administración intraperitoneal para evaluar los efectos promnésicos. Se administraron vehículo, o los compuestos de fórmula I, 40 min antes de T1. La escopolamina se administró 30 min antes T1.

Los compuestos de fórmula (I) según la invención, probados según el protocolo anterior, presentaron normalmente una actividad de 50 mg/kg o menos.

#### **Ejemplo 5: Modelo *in vivo* para evaluar la eficacia de un compuesto de prueba en el déficit de memoria de reconocimiento inducido por la administración aguda de escopolamina y fenciclidina subcrónica repetida (PCP) en la tarea de reconocimiento de objetos novedosos en la rata.**

Los animales se alojaron en grupos de 2-4 en jaulas de polipropileno (área del suelo = 1032 cm<sup>2</sup>) en condiciones normales: temperatura ambiente (22 ± 2 °C), higrometría (55 ± 10 %), ciclo de luz/oscuridad (12 h/12 h), sustitución de aire (15-20 volúmenes/hora), agua y comida (SAFE A04) a voluntad. Se dejó que las ratas se aclimataran a las condiciones ambientales durante al menos 5 días antes de la experimentación.

El ruedo experimental era una caja de madera cuadrada (60x60x40 cm) pintada de azul oscuro, con cuadrados pintados de negro de 15x15 cm bajo un suelo de Plexiglas claro. Se limpiaron el ruedo y los objetos usando agua entre cada intento con el fin de evitar los rastros de olor dejados por las ratas. El ruedo se dispuso en una habitación oscura iluminada solo por bombillas halógenas orientadas hacia el techo y dando una luz tenue uniforme en la caja (aproximadamente 60 lux). Los animales que iban a probarse se colocaron en la habitación experimental al menos 30 min antes de la prueba. El día antes de la prueba, se dejó que las ratas exploraran libremente la caja para aclimatación.

En el día experimental, las ratas se sometieron a dos intentos de exploración de objetos separados por un intervalo entre los intentos. Durante el primer intento (intento de adquisición), las ratas se colocaron en el ruedo que contenía 2 objetos idénticos (objeto familiar) y se determinó el tiempo requerido para completar la exploración del objeto dentro de un periodo de tiempo limitado (tiempo de corte). La exploración se definió como dirigir la nariz a una distancia inferior a 2 cm del objeto y/o tocar el objeto. Para el segundo intento (intento de retención), uno de los objetos presentados en el primer intento se sustituyó por un objeto desconocido (objeto novedoso), las ratas se colocaron de nuevo en el ruedo durante 3 min y se midió la exploración de cada objeto. Se estimó la actividad locomotora durante cada intento por el número de líneas cruzadas por minuto. Se definió un criterio de exclusión para animales con niveles naturalmente bajos de exploración espontánea, que exploraron demasiado poco durante el intento de retención. Se midieron los siguientes parámetros: tiempo requerido para lograr la exploración del objeto en el intento 1 (s), actividad locomotora en el intento 1 (número de líneas cruzadas), tiempo pasado en la exploración activa del objeto familiar en el intento 2 (s), tiempo pasado en la exploración activa del objeto novedoso en el intento 2 (s), actividad locomotora en el intento 2 (número de líneas cruzadas).

Se usaron dos modelos de déficits de memoria: (A) inyección i.p. aguda de clorhidrato de escopolamina 30 min antes de la adquisición (intento 1) (0,3 mg/kg en solución salina, en un volumen de 5 ml/kg) en ratas Sprague Dawley macho (220-300 g (6-7 semanas de edad) al principio de los experimentos); y (B) fenciclidina subcrónica repetida (5 mg/kg i.p. bid en un volumen de 5 ml/kg) durante 7 días seguido de 7 días de periodo de lavado antes de la evaluación conductual en ratas Long-Evans macho (160-220 g al principio de los experimentos). El compuesto se administró por vía oral 60 min antes de la adquisición en un volumen de 10 ml/kg en el modelo de escopolamina; e i.p. 40 min antes de la adquisición en un volumen de 5 ml/kg en el modelo de PCP subcrónica. El vehículo fue 1 % de metilcelulosa (peso/volumen) 0,1 % de Tween 80 (peso/volumen), 0,1 % de antiespumante de silicio 1510 US (peso/volumen) en agua. Los parámetros experimentales del reconocimiento de objetos novedosos se adaptaron a cada modelo y raza de rata. Estos parámetros se describen en la tabla a continuación.

Modelo	Escopolamina aguda	PCP subcrónica
Especie/raza	ratas Sprague Dawley macho jóvenes	ratas Long-Evans macho jóvenes
Duración de la aclimatación a la caja	3 min	10 min
Duración de la exploración del objeto familiar durante el intento 1 (adquisición)	15 s	8 s
Tiempo de corte para el intento 1	4 min	6 min
Intervalo entre intentos	120 min	30 min
Duración del intento 2 (retención)	3 min	3 min
Tiempo de exploración mínima para el intento 2	5 s	5 s

Los compuestos de fórmula (I) según la invención presentaron normalmente una actividad a 1 mg/kg o menos en el modelo de escopolamina y a 3 mg/kg o menos en el modelo de PCP subcrónica.

#### Ejemplo 6: Prueba del laberinto en Y

Se usa un modelo no transgénico de déficit de memoria reducida por amiloide que comprende: una inyección en bolo intracerebral del péptido amiloide  $\beta$ 25-35 agregado en el ventrículo lateral del ratón. Tal inyección indujo 7-12 días después los depósitos similares a amiloide teñidos de rojo Congo en el hipocampo y la corteza. También indujo una variedad de déficits de memoria observados en la alternancia espontánea, la evitación inhibitoria, o la tarea del laberinto de agua de Morris.

La alternancia espontánea en rata y ratones se refiere al comportamiento espontáneo del roedor para alterar en un laberinto en Y o en T. El comportamiento de alternancia espontánea ha sido atribuido a la operación de una variedad de mecanismo, pero independientemente de su función etológica, es evidente que el animal debe recordar en qué brazo había entrado en una ocasión previa para permitir que alterne su elección en un siguiente intento. Por tanto, la alternancia espontánea ha sido aceptada por los farmacólogos del comportamiento como una prueba rápida y relativamente simple de memoria que carece de miedo, recompensa o volver a cumplir.

Se administró una única inyección intracerebral unilateral con 9 nmoles del péptido amiloide  $\beta$ 25-35 agregado en el ventrículo lateral derecho según la técnica de Maurice et al. (Brain Research. 1996; 706:181-193).

## ES 2 666 134 T3

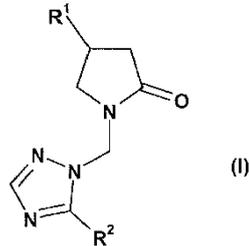
5 El laberinto en Y era un laberinto de tres brazos de tamaño igual (39 cm de largo) hecho de PVC blanco. Los brazos estaban orientados a ángulos de 60 entre sí. La prueba del laberinto en Y se hizo 7-12 días después de la administración de amiloide en condición de iluminación moderada (200 lux), con música de fondo moderada y suave olor a eucalipto. Los compuestos se administraron por vía intraperitoneal 40 min antes del ensayo del laberinto en Y.

10 Ratonos Swiss macho jóvenes empezaron el único intento al final de un brazo, y se dejó que exploraran libremente el laberinto en Y durante 8 min. Se registró el número y la secuencia de visitas de los brazos. La alternancia se definió como "una entrada consecutiva en tres brazos diferentes". El porcentaje de alternancia se calculó con la siguiente fórmula: "número de alternancia" dividido entre "número total de visitas al brazo" menos 2.

Los compuestos de prueba presentaron normalmente una actividad a 10 mg/kg o menos.

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I)



5

en la que

10  $R^1$  es o bien un grupo 3,4,5-trifluorofenilo o bien 3-cianofenilo;  
 $R^2$  es o bien ciano o bien cloro.  
 además de sus tautómeros, estereoisómeros y sales.

2. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que el grupo  $R^1$  de fórmula (I) está en una configuración 4R.

15 3. Un compuesto según la reivindicación 1, en el que el grupo  $R^1$  de fórmula (I) está en una configuración 4S.

4. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el grupo  $R^1$  es un resto 3,4,5-trifluorofenilo.

20 5. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones precedentes, seleccionado del grupo que comprende:

(4R)-1-[(5-cloro-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-2-ona;  
 1-[[[(4R)-2-oxo-4-(3,4,5-trifluorofenil)pirrolidin-1-il]metil]-1H-1,2,4-triazol-5-carbonitrilo];  
 (+)-3-{1-[(5-cloro-1H-1,2,4-triazol-1-il)metil]-5-oxopirrolidin-3-il}benzonitrilo.

25

6. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones precedentes para su uso como un medicamento.

7. Un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, para su uso como un medicamento en el tratamiento de un trastorno cognitivo.

30

8. Una composición farmacéutica que contiene un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, además de un excipiente farmacéuticamente aceptable adecuado.