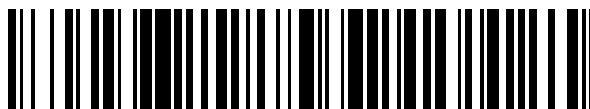


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 711 973**

51 Int. Cl.:

A61K 31/4439 (2006.01)

A61K 31/551 (2006.01)

A61P 25/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.11.2011 PCT/EP2011/069178**

87 Fecha y número de publicación internacional: **10.05.2012 WO12059482**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.11.2011 E 11776453 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.12.2018 EP 2635277**

54 Título: **Uso de compuestos farmacéuticos activos para el tratamiento de afecciones del sistema nervioso central**

30 Prioridad:

16.11.2010 EP 10191396

05.11.2010 EP 10190267

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
08.05.2019

73 Titular/es:

F. HOFFMANN-LA ROCHE AG (100.0%)
Grenzacherstrasse 124
4070 Basel, CH

72 Inventor/es:

GASSER, RODOLFO;
HERNANDEZ, MARIA-CLEMENCIA y
THOMAS, ANDREW

74 Agente/Representante:

LINAGE GONZÁLEZ, Rafael

Observaciones:

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

ES 2 711 973 T3

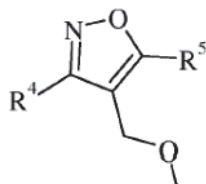
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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

Uso de compuestos farmacéuticos activos para el tratamiento de afecciones del sistema nervioso central

La presente invención se refiere al uso farmacéutico de moduladores alostéricos negativos de $\alpha 5$ para GABA A selectivos para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) relacionadas con una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo. Más en particular, la presente invención se refiere al uso farmacéutico de moduladores alostéricos negativos de $\alpha 5$ para GABA A selectivos para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del SNC provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico que dan como resultado una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en el que la afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en síndrome de Down, en autismo, en neurofibromatosis de tipo I, o para la recuperación después de accidente cerebrovascular, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En particular, la presente invención se refiere al uso de moduladores alostéricos negativos de $\alpha 5$ para GABA A selectivos para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del SNC, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es un compuesto de fórmula (II)



en la que R^1 , R^2 , R^3 , R^4 , R^5 y R^6 son como se define en el presente documento, y en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

El síndrome de Down (SD), provocado por la triplicación del cromosoma 21, es la causa genética más frecuente de discapacidad intelectual, con una prevalencia de aproximadamente uno de cada 650-1000 recién nacidos vivos en todo el mundo [Bittles AH et al., *Eur J Public Health* (2007) 17(2):221-225]. A pesar de que la etiología de la deficiencia cognitiva en SD sigue siendo dudosa, las anomalías celulares y anatómicas en el prosencéfalo y cerebelo prenatales y perinatales sugieren que el desarrollo del cerebro temprano se altera en los individuos con SD. Se han descrito anomalías similares en el sistema nervioso central (SNC) en modelos de ratón de SD. En particular, el ratón Ts65Dn, el modelo de SD usado más ampliamente, tiene un desarrollo cerebeloso y del prosencéfalo anómalo, anomalías en la formación de sinapsis y neurofisiología, y deficiencias conductuales.

Los recientes estudios han sugerido que la principal anomalía funcional en el cerebro de Ts65Dn postnatal puede ser un desequilibrio entre la excitación y la inhibición, por ejemplo, números disminuidos de sinapsis excitadoras y un incremento relativo de los marcadores sinápticos inhibidores en la corteza e hipocampo. Otros estudios sugieren que el impulso sináptico inhibitor incrementado puede ser un fenotipo fisiológico general en el prosencéfalo de Ts65Dn.

Actualmente no existe ninguna opción terapéutica disponible para el tratamiento de una deficiencia cognitiva en personas con SD. Se ha descubierto ahora que la inhibición de la función del receptor para GABA A representa un mecanismo atractivo para tratar el deterioro cognitivo en SD.

El receptor para GABA A que regula un canal de cloruro es el receptor del neurotransmisor inhibitor predominante en el sistema nervioso central de los mamíferos y se ha usado ampliamente como una diana para los fármacos neuromoduladores. Muchos compuestos en uso clínico, tales como ansiolíticos, sedantes, hipnóticos o antiepilépticos, incrementan la activación del receptor para GABA A por medio del sitio de unión a benzodiacepina (BZD) alostérico. Dichos compuestos se han denominado "agonistas del receptor en el sitio para BZD". Los ligandos para el sitio de unión a BZD que producen el efecto opuesto, es decir, la disminución de la activación del receptor, se denominan "agonistas inversos del receptor en el sitio para BZD". Los "antagonistas del receptor en el sitio para BZD" son ligandos que se unen al receptor sin modular su función, pero que bloquean la actividad tanto de los agonistas como de los agonistas inversos [Haefely WE, *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci* (1989) 238:294-301]. Hasta ahora, los agonistas inversos del receptor para BZD solo se han sometido a prueba en experimentos conductuales en animales y en muy pocos estudios exploratorios en seres humanos. Los resultados mostraron una actividad beneficiosa, sin embargo, se previno un desarrollo adicional de los compuestos que se introdujeron en la clínica mediante efectos ansiogénicos, posiblemente que resultan de la carencia de selectividad mostrada por estos agentes por subtipos de receptor para BZD específicos.

Los antagonistas no selectivos, también llamados bloqueantes de canales, de los receptores para GABA A (por ejemplo, picrotoxina o PTZ) incrementan el riesgo de convulsiones lo más probablemente a través de sus acciones

sobre los receptores que contienen las subunidades $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$ para GABA A y, por lo tanto, no se pueden usar de forma segura en personas con SD. De ahí que sea un prerrequisito que los inhibidores del receptor para GABA A adecuados sean selectivos por el subtipo de receptor implicado principalmente en la formación de la memoria.

Los receptores para GABA A son pentámeros que consisten principalmente en dos subunidades α , dos β y una γ . Están disponibles varios productos génicos para cada una de las subunidades que dan lugar a un gran número de variantes del receptor. Se ha explicado la importancia de los subtipos de subunidades α diferentes mediante la generación de ratones transgénicos que carecen de sensibilidad normal a diazepam de la subunidad $\alpha 1$, $\alpha 2$, $\alpha 3$ o $\alpha 5$ ($\alpha 4$ y $\alpha 6$ son insensibles a diazepam). Los resultados sugieren que $\alpha 1$ es responsable de los efectos sedantes y $\alpha 2$, y quizás $\alpha 3$, de los efectos ansiolíticos de los agonistas del ligando para el receptor para BZD [Löw K *et al.*, *Science* (2000) 290(5489):131-134; Möhler H, *Cell Tissue Res* (2006) 326(2):505-516]. Las consecuencias de una farmacología modificada de la subunidad $\alpha 5$ son menos evidentes, pero una expresión reducida o nula de la subunidad se podría asociar con la cognición facilitada en tareas dependientes del hipocampo y es importante destacar que no tiene ningún efecto sobre los modelos proconvulsiantes o de ansiedad. Esto está en línea con la localización preferencial de las subunidades $\alpha 5$ en el hipocampo.

Por lo tanto, se plantea la hipótesis de que un ligando para el sitio para BZD con agonismo inverso selectivo por los receptores que contienen la subunidad $\alpha 5$ para GABA A debería potenciar la función cognitiva sin efectos secundarios ansiogénicos y proconvulsiantes.

Se puede lograr selectividad de un ligando para el sitio para BZD mediante afinidades diferentes a los subtipos de receptor para GABA A ("selectividad de unión"). De forma alternativa, en el caso de afinidades a subtipos similares, se pueden probar grados de modulación del receptor diferentes ("selectividad funcional"), es decir, agonismo inverso en el subtipo de receptor con $\alpha 5$ para GABA A y ninguna actividad en otros subtipos. Un compuesto también puede tener una combinación tanto de selectividad de unión como funcional, aunque hasta ahora esto es infrecuente. Recientemente se ha sintetizado una serie de compuestos descritos como que son activos como agonistas inversos en los receptores que contienen la subunidad $\alpha 5$ para GABA A [documentos WO 2006/045429, WO 2006/045430, WO 2007/042421, WO 2009/071476]. Se ha descubierto ahora que determinados de estos compuestos tienen un perfil farmacológico beneficioso con excelente selectividad de unión y funcional por los receptores que contienen la subunidad $\alpha 5$ para GABA. Los resultados confirman la hipótesis de que los compuestos con dicho perfil farmacológico pueden mejorar la función cognitiva sin efectos adversos mediados por el SNC, incluyendo ansiedad y/o convulsiones [Ballard TM *et al.*, *Psychopharmacology*, (2009) 202:207-223].

El documento US2010256127 divulga compuestos diferentes de (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-[6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il]-metanona para su uso en el tratamiento de accidente cerebrovascular y síntomas cognitivos asociados con autismo, síndrome de Down y neurofibromatosis de tipo I. Los compuestos activos farmacéuticamente usados en la presente invención son moléculas que combinan tanto selectividad de unión como funcional en los receptores que contienen la subunidad $\alpha 5$ para GABA A que mejoran la cognición. Es importante destacar que los compuestos activos farmacéuticamente usados en la presente invención carecen de efectos ansiogénicos o proconvulsiantes en las exposiciones sometidas a prueba en estudios de toxicología.

En la presente invención, se ha descubierto que los moduladores alostéricos negativos de $\alpha 5$ para GABA A selectivos tienen efectos procognitivos sobre varios modelos animales, pero no son ansiogénicos ni proconvulsiantes. Los compuestos farmacéuticos activos usados en la presente invención se administraron de forma prolongada a ratones Ts65Dn y de control (euploides) y se realizó una batería de pruebas conductuales, incluyendo la evaluación de las capacidades sensitivomotoras, la ansiedad y la cognición. Los compuestos farmacéuticos activos usados en la presente invención mejoraron el desempeño de los ratones Ts65Dn, pero no de control, en el laberinto acuático de Morris y no afectaron a las capacidades sensitivomotoras, actividad general, coordinación motora o ansiedad de los ratones Ts65Dn o de control. Las concentraciones en plasma de compuestos farmacéuticos activos de muestras de sangre tomadas de ratones Ts65Dn y de control tratados se relacionan con niveles de ocupación del receptor con $\alpha 5$ para GABA A de un 25-75 % a partir de un estudio de imitación de la unión *in vivo*. Es importante destacar que estos experimentos confirmaron la ocupación selectiva de los receptores con $\alpha 5$ para GABA A en el cerebro y refuerzan la idea de que la doble selectividad de unión y funcional ofrece un perfil ideal para los efectos potenciadores de la cognición sin los efectos secundarios no deseados asociados con la actividad en otros subtipos de receptor para GABA A.

Curiosamente, se reveló que la administración prolongada de los compuestos farmacéuticos activos usados en la presente invención:

1. no modificó ninguna de las capacidades sensitivomotoras sometidas a prueba en ratones Ts65Dn o de control;
2. no afectó a la coordinación motora en la prueba de Rotarod;
3. no modificó la actividad locomotora espontánea en la jaula hábitat durante la fase de luz o de oscuridad del ciclo;

4. en la prueba de campo abierto no modificó la ansiedad ni la actividad locomotora de los ratones Ts65Dn y de control;

5 5. en la prueba del tablero con agujeros se redujo la hiperactividad encontrada en ratones Ts65Dn tratados con vehículo;

6. en el laberinto acuático de Morris, mejoró el desempeño de los ratones Ts65Dn durante las sesiones de adquisición y con pistas.

10

Se descubrió además que los compuestos farmacéuticos activos usados en la presente invención:

a) revierten las deficiencias en el aprendizaje espacial en ratones mutantes Nf1 +/- en condiciones en las que dichos compuestos no potencian el aprendizaje en ratones de control;

15

b) no afectan al desempeño de los ratones Nf1 +/- en condiciones que ocluyan sus deficiencias conductuales;

c) no afectan al aprendizaje motor en la prueba de rotarod en ratones Nf1 +/- y de control;

20

d) son útiles como tratamientos potenciales para las deficiencias cognitivas asociadas con NF1.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos usados en el presente documento tienen el mismo significado entendido comúnmente por un experto en la técnica a la que pertenece la presente invención. Aunque se pueden usar procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o prueba de la invención, se describen a continuación procedimientos y materiales adecuados.

25

La nomenclatura usada en la presente solicitud se basa en la nomenclatura sistemática de la IUPAC, a menos que se indique de otro modo.

30 Cualquier valencia abierta que aparezca en un átomo de carbono, oxígeno, azufre o nitrógeno en las estructuras en el presente documento indica la presencia de un hidrógeno, a menos que se indique de otro modo.

Las definiciones descritas en el presente documento se aplican independientemente de si los términos en cuestión aparecen solos o en combinación. Se contempla que se puedan añadir las definiciones descritas en el presente documento para formar combinaciones relevantes químicamente, tales como, por ejemplo, "heterocicloalquil-arilo", "haloalquil-heteroarilo", "aril-alquil-heterocicloalquilo" o "alcoxi-alquilo". El último miembro de la combinación es un radical que se sustituye con los demás miembros de la combinación en orden inverso.

35

Cuando se indica el número de sustituyentes, el término "uno o más" se refiere al intervalo desde un sustituyente al número más alto posible de sustitución, es decir, el reemplazo de un hidrógeno hasta el reemplazo de todos los hidrógenos por sustituyentes.

40

El término "opcional" u "opcionalmente" indica que se puede producir, pero no necesariamente, un acontecimiento o circunstancia descrito posteriormente, y que la descripción incluye casos donde se produce el acontecimiento o circunstancia y casos en los que no.

45

El término "sustituyente" indica un átomo o un grupo de átomos que reemplaza un átomo de hidrógeno en la molécula original.

El término "sustituido" indica que un grupo específico tiene uno o más sustituyentes. Cuando cualquier grupo puede llevar múltiples sustituyentes y se proporciona una variedad de sustituyentes posibles, los sustituyentes se seleccionan de forma independiente y no necesitan ser los mismos. El término "no sustituido" significa que el grupo especificado no tiene ningún sustituyente. El término "sustituido opcionalmente" significa que el grupo especificado es no sustituido o sustituido con uno o más sustituyentes, elegidos de forma independiente del grupo de sustituyentes posibles. Cuando se indica el número de sustituyentes, el término "uno o más" significa desde un sustituyente al número más alto posible de sustitución, es decir, el reemplazo de un hidrógeno hasta el reemplazo de todos los hidrógenos por sustituyentes.

55

El término "compuesto(s) usado(s) en la presente invención" y "compuesto(s) usado(s) de la presente invención" se refiere a los compuestos de fórmula (I) o (II) y estereoisómeros, tautómeros, solvatos y sales (por ejemplo, sales farmacéuticamente aceptables) de los mismos.

60

El término "sales farmacéuticamente aceptables" indica sales que no son indeseables biológicamente o de otro modo. Las sales farmacéuticamente aceptables incluyen tanto sales de adición de ácido como de base.

El término "sal de adición de ácido farmacéuticamente aceptable" indica las sales farmacéuticamente aceptables formadas con ácidos inorgánicos, tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico, ácido

65

carbónico, ácido fosfórico, y ácidos orgánicos seleccionados de las clases alifática, cicloalifática, aromática, aralifática, heterocíclica, carboxilica y sulfónica de ácidos orgánicos, tales como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido glicólico, ácido glucónico, ácido láctico, ácido pirúvico, ácido oxálico, ácido málico, ácido maleico, ácido malónico, ácido succínico, ácido fumárico, ácido tartárico, ácido cítrico, ácido aspártico, ácido ascórbico, ácido glutámico, ácido antranílico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido mandélico, ácido embónico, ácido fenilacético, ácido metanosulfónico, ácido etanosulfónico, ácido p-toluensulfónico y ácido salicílico.

El término “sal de adición de base farmacéuticamente aceptable” indica las sales farmacéuticamente aceptables formadas con una base orgánica o inorgánica. Los ejemplos de bases inorgánicas aceptables incluyen sales de sodio, potasio, amonio, calcio, magnesio, hierro, cinc, cobre, manganeso y aluminio. Las sales derivadas de bases orgánicas no tóxicas farmacéuticamente aceptables incluyen sales de aminas primarias, secundarias y terciarias, aminas sustituidas, incluyendo aminas sustituidas naturales, aminas cíclicas y resinas básicas de intercambio iónico, tales como isopropilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, tripropilamina, etanolamina, 2-dietilaminoetanol, trimetamina, dicitlohexilamina, lisina, arginina, histidina, cafeína, procaína, hidrabamina, colina, betaína, etilendiamina, glucosamina, metilglucamina, teobromina, purinas, piperizina, piperidina, N-etilpiperidina y resinas de poliamina.

Los términos “halo”, “halógeno” y “haluro” se usan de manera intercambiable en el presente documento e indican flúor, cloro, bromo o yodo. En particular, halo se refiere a F, Cl o Br, lo más en particular a F.

El término “alquilo” indica un grupo hidrocarburo saturado lineal o ramificado monovalente de 1 a 12 átomos de carbono, en particular, de 1 a 7 átomos de carbono, más en particular de 1 a 4 átomos de carbono, por ejemplo, metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, *sec*-butilo o *terc*-butilo. En particular, alquilo se refiere a metilo o isopropilo, lo más en particular a metilo.

El término “alcoxi” indica un grupo de fórmula $-O-R'$, en la que R' es un grupo alquilo. Los ejemplos de restos alcoxi incluyen metoxi, etoxi, isopropoxi y *terc*-butoxi.

El término “haloalquilo” indica un grupo alquilo en el que al menos uno de los átomos de hidrógeno del grupo alquilo se ha reemplazado por átomos de halógeno iguales o diferentes, en particular, átomos de flúor. Los ejemplos de haloalquilo incluyen monofluoro-, difluoro- o trifluorometilo, -etilo o -propilo, por ejemplo, 3,3,3-trifluoropropilo, 2-fluoroetilo, 2,2,2-trifluoroetilo, fluorometilo o trifluorometilo. El término “perhaloalquilo” indica un grupo alquilo donde todos los átomos de hidrógeno del grupo alquilo se han reemplazado por átomos de halógeno iguales o diferentes. En particular, haloalquilo se refiere a monofluorometilo y difluorometilo.

El término “hidroxialquilo” indica un grupo alquilo en el que al menos uno de los átomos de hidrógeno del grupo alquilo se ha reemplazado por un grupo hidroxilo. Los ejemplos de hidroxialquilo incluyen hidroximetilo, 2-hidroxietilo, 2-hidroxipropilo, 3-hidroxipropilo, 1-(hidroximetil)-2-metilpropilo, 2-hidroxibutilo, 3-hidroxibutilo, 4-hidroxibutilo, 2,3-dihidroxipropilo, 2-hidroxil-1-hidroximetiletilo, 2,3-dihidroxibutilo, 3,4-dihidroxibutilo o 2-(hidroximetil)-3-hidroxipropilo.

El término “heterocicloalquilo” indica un sistema de anillo mono o bicíclico saturado o parcialmente insaturado monovalente de 4 a 9 átomos de anillo, que comprende 1, 2 o 3 heteroátomos de anillo seleccionados de N, O y S, siendo carbono los átomos de anillo restantes. Los medios bicíclicos que consisten en dos ciclos que tienen dos átomos de anillo en común, es decir, el puente que separa los dos anillos es un enlace sencillo o bien una cadena de uno o dos átomos de anillo. Los ejemplos de heterocicloalquilo saturado monocíclico son azetidino, pirrolidino, tetrahydrofuranilo, tetrahydrotienilo, pirazolidino, imidazolidino, oxazolidino, isoxazolidino, tiazolidino, piperidino, tetrahydropiranilo, tetrahydrotiopiranilo, piperazino, morfolino, tiomorfolino, 1,1-dioxo-tiomorfolino-4-ilo, azepanilo, diazepanilo, homopiperazino u oxazepanilo. Los ejemplos de heterocicloalquilo saturado bicíclico son 8-aza-biciclo[3.2.1]octilo, quinuclidino, 8-oxa-3-aza-biciclo[3.2.1]octilo, 9-aza-biciclo[3.3.1]nonilo, 3-oxa-9-aza-biciclo[3.3.1]nonilo o 3-tia-9-aza-biciclo[3.3.1]nonilo. Los ejemplos de heterocicloalquilo parcialmente insaturado son dihydrofurilo, imidazolinilo, dihydro-oxazolilo, tetrahydropiridinilo o dihydropiranilo. El heterocicloalquilo se puede sustituir opcionalmente como se describe en el presente documento. En particular, heterocicloalquilo se refiere a morfolino, tiomorfolino, dioxotiomorfolino, 2-oxa-6-aza-espiro[3.3]hept-6-ilo, pirrolidino y oxopirrolidino. Lo más en particular, heterocicloalquilo se refiere a morfolino, tiomorfolino o dioxotiomorfolino.

El término “heterocicloalquilalquilo” indica un grupo alquilo en el que al menos uno de los átomos de hidrógeno del grupo alquilo se reemplaza por un grupo heterocicloalquilo. Los ejemplos de heterocicloalquilalquilo incluyen pirrolidinilmetilo y pirrolidinilmetilo.

El término “arilo” indica un sistema de anillo mono o bicíclico carbocíclico aromático monovalente que comprende de 6 a 10 átomos de anillo de carbono. Los ejemplos de restos arilo incluyen fenilo y naftilo. El arilo se puede sustituir opcionalmente como se describe en el presente documento. El arilo particular es fenilo y monofluorofenilo.

El término “heteroarilo” indica un sistema de anillo mono o bicíclico heterocíclico aromático monovalente de 5 a 12 átomos de anillo, que comprende 1, 2, 3 o 4 heteroátomos seleccionados de N, O y S, siendo carbono los átomos de anillo restantes. Los ejemplos de restos heteroarilo incluyen pirrolilo, furanilo, tienilo, imidazolilo, oxazolilo, tiazolilo, triazolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, tetrazolilo, piridinilo, pirazinilo, pirazolilo, piridazinilo, pirimidinilo, triazinilo, azepinilo,

diazepinilo, isoxazolilo, benzofuranilo, isotiazolilo, benzotienilo, indolilo, isoindolilo, isobenzofuranilo, bencimidazolilo, benzoxazolilo, benzoisoxazolilo, benzotiazolilo, benzoisotiazolilo, benzooxadiazolilo, benzotiadiazolilo, benzotriazolilo, purinilo, quinolinilo, isoquinolinilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, carbazolilo o acridinilo. El heteroarilo se puede sustituir opcionalmente como se describe en el presente documento. En particular, heteroarilo se refiere a piridinilo, monofluoropiridinilo y 5,6-dihidro-8H-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-ilo, lo más en particular a piridinilo y monofluoropiridinilo.

El término “oxo” indica un átomo de oxígeno divalente =O.

El término “ingrediente farmacéutico activo” (o “IFA”) indica el compuesto en una composición farmacéutica que tiene una actividad biológica particular.

El término “farmacéuticamente aceptable” indica un atributo de un material que es útil en la preparación de una composición farmacéutica que es, en general, segura, no tóxica, y ni indeseable biológicamente o de otro modo, y es aceptable para uso veterinario, así como farmacéutico en seres humanos.

El término “excipiente farmacéuticamente aceptable” indica cualquier ingrediente que no tenga ninguna actividad terapéutica y que no sea tóxico, tal como disgregantes, aglutinantes, cargas, disolventes, tampones, agentes de tonicidad, estabilizadores, antioxidantes, tensioactivos o lubricantes usados en la formulación de productos farmacéuticos.

El término “composición farmacéutica” (o “composición”) indica una mezcla o solución que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un ingrediente farmacéutico activo junto con excipientes farmacéuticamente aceptables que se va a administrar a un mamífero, por ejemplo, un ser humano que lo necesite.

El término “modulador” indica una molécula que interactúa con un receptor diana. Las interacciones incluyen, por ejemplo, actividad de agonista, de antagonista o de agonista inverso.

El término “inhibidor” indica un compuesto que compite con, reduce o previene la unión de un ligando particular a un receptor particular o que reduce o previene la inhibición de la función de una proteína particular.

El término “agonista” indica un compuesto que tiene afinidad a un sitio de unión al receptor y que potencia la actividad de la respuesta mediada por el receptor como se define, por ejemplo, en *“The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7.ª ed.” de Goodman y Gilman en la página 35, Macmillan Publ. Company, Canadá, 1985*. Un “agonista completo” efectúa una respuesta completa, mientras que un “agonista parcial” efectúa menos de una activación completa incluso cuando ocupa la población de receptores total. Un “agonista inverso” produce un efecto opuesto al de un agonista uniéndose al mismo sitio de unión del agonista, o reduce el efecto de un agonista uniéndose a un sitio de unión alostérico diferente.

El término “antagonista” indica un compuesto que disminuye o previene la acción de otro compuesto o sitio en el receptor como se define, por ejemplo, en *“The Pharmacological Basis of Therapeutics, 7.ª ed.” de Goodman y Gilman en la página 35, Macmillan Publ. Company, Canadá, 1985*. En particular, los antagonistas se refieren a un compuesto que atenúa el efecto de un agonista. Un “antagonista competitivo” se une al mismo sitio que el agonista pero no lo activa, por tanto, bloquea la acción del agonista. Un “antagonista no competitivo” se une a un sitio alostérico (no agonista) en el receptor para prevenir la activación del receptor. Un “antagonista reversible” se une de forma no covalente al receptor, por lo tanto, se puede “eliminar por lavado”. Un “antagonista irreversible” se une de forma covalente al receptor y no se puede desplazar mediante ligandos de competencia o bien lavado.

El término “modulador alostérico” indica un compuesto que se une a un receptor en un sitio distinto del sitio de unión del agonista (un “sitio alostérico”). Induce un cambio conformacional en el receptor, que altera la afinidad del receptor por el ligando o agonista endógeno. Los “moduladores alostéricos positivos” incrementan la afinidad, mientras que los “moduladores alostéricos negativos” (MAN) disminuyen la afinidad y de ahí que disminuyan indirectamente la actividad de un receptor. En la presente invención, un modulador alostérico negativo se une, en particular, al sitio de unión a benzodiazepina con agonismo inverso selectivo por el receptor que contiene la subunidad $\alpha 5$ para GABA A.

El término “constante de inhibición” (K_i) indica la afinidad de unión absoluta de un inhibidor particular a un receptor. Se mide usando ensayos de unión por competencia y es igual a la concentración donde el inhibidor particular ocuparía un 50 % de los receptores si no estuviera presente ningún ligando de competencia (por ejemplo, un radioligando). Los valores de K_i se pueden convertir logarítmicamente a valores de pK_i ($-\log K_i$), en los que los valores más altos indican una potencia exponencialmente mayor.

El término “concentración eficaz submáxima” (CE_{10}) indica la concentración de un compuesto particular requerida para obtener un 10 % del máximo de un efecto particular.

El término “selectividad de unión” indica la proporción entre la afinidad de unión de un compuesto particular a dos o más subtipos de receptor diferentes. Un compuesto particular se caracteriza como “selectivo en la unión” si su

selectividad de unión es de 10 o más, más en particular si su selectividad de unión es de 20 o más, lo más en particular si su selectividad de unión es de 50 o más.

El término “selectividad funcional” indica los grados diferentes de modulación mediante un compuesto particular en subtipos de receptor diferentes, por ejemplo, actuando como un agonista inverso en un subtipo de receptor particular mientras que actúa como un antagonista en otro subtipo de receptor. En la presente invención, un compuesto es, en particular, selectivo funcional si actúa como agonista inverso en el subtipo de receptor con $\alpha 5\beta 3\gamma 2$ para GABA A reduciendo el efecto de GABA en más de un 30 % mientras que afecta a los otros subtipos de receptor para GABA A en menos de un 15 %, en particular, en menos de un 10 %.

Los términos “afección”, “anomalía”, “discapacidad”, “trastorno”, “enfermedad” o “estado de enfermedad” se usan de manera intercambiable para indicar cualquier enfermedad, afección, síntoma, trastorno o indicación.

El término “anomalía en el desarrollo neurológico” indica un trastorno del desarrollo neuronal, en el que se han deteriorado el crecimiento y desarrollo del cerebro o sistema nervioso central (*Reynolds C R et al., Handbook of neurodevelopmental and genetic disorders in children (1999) Guilford Press, NY*).

El término “inhibición GABAérgica” se refiere a la neurotransmisión mediada por GABA que es inhibidora de las neuronas maduras en los vertebrados (*Bernard C et al, Epilepsia (2000) 41(S6):S90-S95*).

El término “inhibición GABAérgica en exceso” se refiere a la neurotransmisión mediada por GABA incrementada que da como resultado una perturbación del equilibrio del circuito excitador/inhibidor (E/I) a favor de la inhibición (*Kleschevnikov A.M. et al., J. Neurosci. (2004) 24:8153-8160*).

El término “deficiencia cognitiva” o “deterioro cognitivo” describe cualquier característica que actúa como una barrera para el desempeño cognitivo. El término indica deficiencias en el desempeño intelectual global, tales como retraso mental, indica deficiencias específicas en las capacidades cognitivas (trastornos de aprendizaje, dislexia) o indica un deterioro de la memoria inducido por fármacos. Las deficiencias cognitivas pueden ser congénitas o estar provocadas por factores ambientales, tales como lesiones cerebrales, trastornos neurológicos o enfermedades mentales. El término “deficiencia cognitiva en síndrome de Down” o “deterioro cognitivo en síndrome de Down” indica deficiencias cognitivas en sujetos que presentan una triplicación del cromosoma 21, en particular, anomalías en el aprendizaje, la memoria y el lenguaje que dan lugar a un deterioro de leve a profundo en el funcionamiento intelectual en dichos sujetos.

El término “discapacidad intelectual” (DI) o “retraso mental” indica un deterioro cognitivo de aparición temprana expresado mediante una capacidad reducida significativamente para comprender información nueva o compleja, para aprender nuevas habilidades, con una capacidad reducida para salir adelante de manera independiente, que se inició antes de la edad adulta, con un efecto permanente sobre el desarrollo.

El término “procognitivo” describe cualquier característica que reduce o revierte afecciones tales como confusión mental, desorientación, delirio o deficiencias cognitivas o que mejora la cognición.

El término “neurofibromatosis de tipo 1” (NF1) indica un trastorno que está provocado por una mutación de un gen en el cromosoma 17 que codifica una proteína conocida como neurofibromina pertinente en la señalización intracelular (*Cui Y et al., Cell (2008) 135:549-60*).

El término “autismo” indica un trastorno del desarrollo neuronal caracterizado por una interacción y comunicación social deterioradas, y por una conducta restringida y repetitiva (*American Psychiatric Association Inc., Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders (DSM-IV-TR) (2000) 4.ª ed.*).

El término “accidente cerebrovascular” es la pérdida de función/funciones cerebral(es) que se desarrolla rápidamente debido a la alteración en el aporte de sangre al cerebro. Esto se puede deber a isquemia (carencia de circulación sanguínea) provocada por una oclusión (trombosis, embolia arterial) o una hemorragia (*Sims NR et al, Biochimica et Biophysica Acta (2009) 1802(1):80-91*).

El término “recuperación después de accidente cerebrovascular” se refiere a la capacidad de restablecer la función cerebral dañada después de accidente cerebrovascular (*Dimyan M.A. et al., Nat Rev Neurol. (2011) 7(2):76-85*).

El término “tratar” o “tratamiento” de un estado de enfermedad incluye (1) prevenir el estado de enfermedad, es decir, provocar que los síntomas clínicos del estado de enfermedad no se desarrollen en un sujeto que pueda estar expuesto o predispuesto al estado de enfermedad, pero aún no experimenta ni presenta síntomas del estado de enfermedad, (2) inhibir el estado de enfermedad, es decir, detener el desarrollo del estado de enfermedad o sus síntomas clínicos o (3) aliviar el estado de enfermedad, es decir, provocar la regresión temporal o permanente del estado de enfermedad o sus síntomas clínicos.

El término “cantidad terapéuticamente eficaz” indica una cantidad de un compuesto de la presente invención que,

cuando se administra a un sujeto, (i) trata o previene la enfermedad, afección o trastorno particular, (ii) atenúa, mejora o elimina uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular o (iii) previene o retrasa la aparición de uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular descritos en el presente documento. La cantidad terapéuticamente eficaz variará dependiendo del compuesto, estado de enfermedad que se trata, la gravedad o la enfermedad tratada, la edad y la salud relativa del sujeto, la vía y forma de administración, el criterio del médico o veterinario especialista y otros factores.

El término "sujeto" o "paciente" indica un animal, más en particular, un vertebrado. En determinados modos de realización, el vertebrado es un mamífero. Los mamíferos incluyen seres humanos, primates no humanos, tales como chimpancés y otras especies de simios superiores y monos, animales de granja, tales como ganado vacuno, caballos, ovejas, cabras y cerdos, animales domésticos, tales como conejos, perros y gatos, animales de laboratorio, incluyendo roedores, tales como ratas, ratones y cobayas. En determinados modos de realización, un mamífero es un ser humano. El término sujeto no indica una edad o sexo particular.

Descripción detallada de la invención

En detalle, la presente invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico que dan como resultado una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en donde el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico que dan como resultado una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en el que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en síndrome de Down, en autismo, en neurofibromatosis de tipo I o después de accidente cerebrovascular, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico que dan como resultado una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en el que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en síndrome de Down, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico que dan como resultado una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en el que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en autismo, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico que dan como resultado una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en el que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en neurofibromatosis de tipo I, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico que dan como resultado una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en el que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas después de accidente cerebrovascular, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico que dan como resultado una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en el que dicha afección del SNC se selecciona de discapacidad intelectual, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para

GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A es un ligando para un sitio de unión a BZD y actúa como agonista inverso en los receptores que contienen la subunidad $\alpha 5$ para GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A es un ligando para el sitio de unión a BZD del receptor para GABA A y actúa como agonista inverso en el subtipo de receptor con $\alpha 5\beta 3\gamma 2$ para GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A tiene selectividad de unión en los receptores que contienen la subunidad $\alpha 5$ para GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

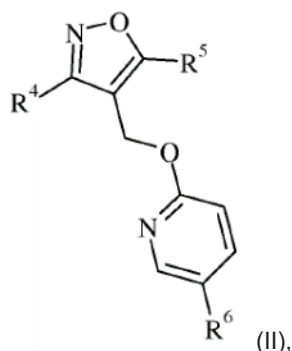
En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A tiene selectividad funcional en los receptores que contienen la subunidad $\alpha 5$ para GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A se une al subtipo de receptor con $\alpha 5\beta 3\gamma 2$ para GABA A humano con una selectividad de unión de un factor de 10 o más en comparación con las afinidades de unión a los subtipos de receptor con $\alpha 1\beta 2/3\gamma 2$, $\alpha 2\beta 3\gamma 2$ y $\alpha 3\beta 3\gamma 2$ para GABA A humano, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A tiene selectividad de unión en los receptores que contienen la subunidad $\alpha 5$ para GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A presenta una selectividad funcional actuando como agonista inverso en el subtipo de receptor con $\alpha 5\beta 3\gamma 2$ para GABA A humano reduciendo el efecto de GABA en más de un 30 % y, además, afectando al efecto de GABA en los subtipos de receptor con $\alpha 1\beta 2/3\gamma 2$, $\alpha 2\beta 3\gamma 2$ y $\alpha 3\beta 3\gamma 2$ para GABA A humano en menos de un 15 %, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere al uso de un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A es un compuesto de fórmula (II)



en la que

R^1 es hidrógeno, halo, alquilo, haloalquilo o ciano;

R^2 es hidrógeno, halo, alquilo, haloalquilo o ciano;

R^3 es hidrógeno, alquilo o heterocicloalquilalquilo, en el que el heterocicloalquilalquilo se sustituye opcionalmente con uno o más hidroxilo, oxo, alquilo, alcoxi, haloalquilo, hidroxialquilo, halo o ciano;

R⁴ es arilo o heteroarilo, cada uno sustituido opcionalmente con uno, dos o tres halo;

R⁵ es hidrógeno, alquilo, haloalquilo o hidroxialquilo;

5 R⁶ es -C(O)-NR⁷R⁸

R⁷ es hidrógeno;

R⁸ es alquilo;

10 o R⁷ y R⁸, junto con el nitrógeno al que se unen para formar un heterocicloalquilo, o un heteroarilo, cada uno sustituido opcionalmente con uno o más hidroxi, oxo, alquilo, alcoxi, haloalquilo, hidroxialquilo, halo o ciano;

15 o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

20 En un modo de realización particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento en una forma farmacéuticamente aceptable para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico que dan como resultado una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en la que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

25 En un modo de realización particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento en una forma farmacéuticamente aceptable para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC), en la que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en síndrome de Down, en la que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

30 En un modo de realización particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento en una forma farmacéuticamente aceptable para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC), en la que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en autismo, en la que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

35 En un modo de realización particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento en una forma farmacéuticamente aceptable para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC), en la que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en neurofibromatosis de tipo I, en la que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

40 En un modo de realización particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento en una forma farmacéuticamente aceptable para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC), en la que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas después de accidente cerebrovascular, en la que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

45 En un modo de realización particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento en una forma farmacéuticamente aceptable para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC), en la que dicha afección del SNC se selecciona de discapacidad intelectual, en la que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

50 En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico que dan como resultado una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

55 En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A

como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC), en el que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en síndrome de Down, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC), en el que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en autismo, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC), en el que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en neurofibromatosis de tipo I, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

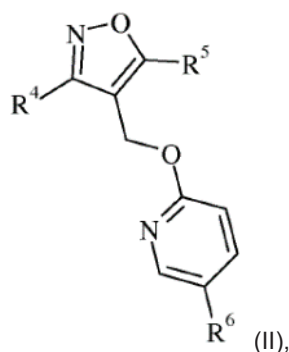
En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC), en el que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas después de accidente cerebrovascular, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En un modo de realización particular, la invención se refiere a una composición farmacéutica que comprende un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento en una forma farmacéuticamente aceptable para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de deficiencias cognitivas en síndrome de Down, en autismo, en neurofibromatosis de tipo I, o para la recuperación después de accidente cerebrovascular, en la que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de deficiencias cognitivas en síndrome de Down, en autismo, en neurofibromatosis de tipo I, o para la recuperación después de accidente cerebrovascular, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En otro modo de realización, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A seleccionado de un compuesto de fórmula (II)



en la que

R^1 es hidrógeno, halo, alquilo, haloalquilo o ciano;

R^2 es hidrógeno, halo, alquilo, haloalquilo o ciano;

R^3 es hidrógeno, alquilo o heterocicloalquilalquilo, en el que el heterocicloalquilalquilo se sustituye opcionalmente con uno o más hidroxilo, oxo, alquilo, alcoxi, haloalquilo, hidroxialquilo, halo o ciano;

R^4 es arilo o heteroarilo, cada uno sustituido opcionalmente con uno, dos o tres halo;

R⁵ es hidrógeno, alquilo, haloalquilo o hidroxialquilo;

R⁶ es -C(O)-NR⁷R⁸

5 R⁷ es hidrógeno;

R⁸ es alquilo;

10 o R⁷ y R⁸, junto con el nitrógeno al que se unen para formar un heterocicloalquilo, o un heteroarilo, cada uno sustituido opcionalmente con uno o más hidroxilo, oxo, alquilo, alcoxi, haloalquilo, hidroxialquilo, halo o ciano;

o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona;

15 para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) relacionadas con una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo.

20 En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) relacionadas con una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, que está provocada por anomalías en el desarrollo neurológico, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

25 En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico que dan como resultado una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

30 En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) relacionadas con una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en particular, provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico, en el que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en síndrome de Down, en autismo o en neurofibromatosis de tipo I, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

40 En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) relacionadas con una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en particular, provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico, en el que dicha afección del SNC es una deficiencia cognitiva en síndrome de Down, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

45 En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) relacionadas con una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en particular, provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico, en el que dicha afección del SNC es una deficiencia cognitiva en autismo, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

50 En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) relacionadas con una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en particular, provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico, en el que dicha afección del SNC es una deficiencia cognitiva en neurofibromatosis de tipo I, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

60 En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) relacionadas con una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en el que dicha afección del SNC se caracteriza por discapacidades después de accidente cerebrovascular, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) como se describe en el presente documento, en el que dicho modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A se une al subtipo de receptor con $\alpha 5\beta 3\gamma 2$ para GABA A humano con una selectividad de unión de un factor de 10 o más en comparación con las afinidades de unión a los subtipos de receptor con $\alpha 1\beta 2/3\gamma 2$, $\alpha 2\beta 3\gamma 2$ y $\alpha 3\beta 3\gamma 2$ para GABA A humano, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) como se describe en el presente documento, en el que dicho modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A presenta una selectividad funcional actuando como agonista inverso en el subtipo de receptor con $\alpha 5\beta 3\gamma 2$ para GABA A humano reduciendo el efecto de GABA en más de un 30 % y, además, afectando al efecto de GABA en los subtipos de receptor con $\alpha 1\beta 2/3\gamma 2$, $\alpha 2\beta 3\gamma 2$ y $\alpha 3\beta 3\gamma 2$ para GABA A humano en menos de un 15 %, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) como se describe en el presente documento, en el que dicho modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A se selecciona de un compuesto de fórmula (II) en la que R^4 , R^5 y R^6 son como se define en el presente documento, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) como se describe en el presente documento, en el que dicho modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A se selecciona de un compuesto de fórmula (II) en la que R^4 es arilo o heteroarilo, cada uno sustituido opcionalmente con un halo; R^5 es alquilo; R^6 es $C(O)-NR^7R^8$; R^7 es hidrógeno y R^8 es alquilo; o R^7 y R^8 , junto con el nitrógeno al que se unen para formar un heterocicloalquilo sustituido opcionalmente con uno o dos oxo, o formar un heteroarilo; o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) como se describe en el presente documento, en el que dicho modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A es:

(1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona;

En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) como se describe en el presente documento, en el que dicho modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma.

En un modo de realización particular, la invención se refiere a un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A como se describe en el presente documento para el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del sistema nervioso central (SNC) como se describe en el presente documento, en el que dicho modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A se usa separada, secuencial o simultáneamente en combinación con un segundo compuesto farmacéutico activo, en el que el modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A selectivo es (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona.

Ejemplos

Materiales y procedimientos

a. Animales

La tabla 1 muestra el número de animales macho que se usaron en este estudio. Diez ratones de control y diez Ts65Dn de 6 meses de edad al comienzo del tratamiento recibieron 8581; 16 ratones de control y 15 Ts65Dn de 5-6 meses de edad al comienzo del tratamiento recibieron R1, los otros dos grupos de ratones de control (n=13) y Ts65Dn (n=13) recibieron el vehículo.

b. Compuestos farmacéuticos activos

5 Se prepararon los compuestos farmacéuticos activos usados en la presente invención como se describe previamente en los documentos WO 2006/045429, WO 2006/045430, WO 2007/042421 y WO 2009/071476:

Compuesto 8580

10 Se preparó 3-fluoro-10-fluorometil-9H-imidazo[1,5-a][1,2,4]triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepina como se describe en el documento WO 2006/045430 en la página 17 en el ejemplo 3.

Compuesto 8581

15 Se preparó 3-bromo-10-difluorometil-9H-imidazo[1,5-a][1,2,4]triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepina como se describe en el documento WO 2006/045430 en la página 21 en el ejemplo 7.

Compuesto 8582

20 Se preparó 3-ciano-10-difluorometil-9H-imidazo[1,5-a][1,2,4]triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepina como se describe en el documento WO 2006/045430 en la página 23 en el ejemplo 13.

Compuesto 8583

25 Se preparó 10-difluorometil-9H-imidazo[1,5-a][1,2,4]triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepina como se describe en el documento WO 2006/045430 en la página 26 en el ejemplo 16.

Compuesto 8584

30 Se preparó 3-cloro-10-fluorometil-6-metil-9H-imidazo[1,5-a][1,2,4]triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepina como se describe en el documento WO 2006/045430 en la página 28 en el ejemplo 20.

Compuesto 8585

35 Se preparó 10-cloro-9H-imidazo[1,5-a][1,2,4]triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepina como se describe en el documento WO 2006/045429 en la página 15 en el ejemplo 1.

Compuesto 8586

40 Se preparó 3,10-dicloro-9H-imidazo[1,5-a][1,2,4]triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepina como se describe en el documento WO 2006/045429 en la página 23 en el ejemplo 20.

Compuesto 8587

45 Se preparó 10-cloro-3-ciano-6-metil-9H-imidazo[1,5-a][1,2,4]triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepina como se describe en el documento WO 2006/045429 en la página 37 en el ejemplo 47.

Compuesto 8588

50 Se preparó 10-cloro-3-difluorometil-9H-imidazo[1,5-a][1,2,4]triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepina como se describe en el documento WO 2006/045429 en la página 29 en el ejemplo 32.

Compuesto 8589

55 Se preparó 3-bromo-10-cloro-6-metil-9H-imidazo[1,5-a][1,2,4]triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepina como se describe en el documento WO 2006/045429 en la página 33 en el ejemplo 38.

Compuesto 8590

60 Se preparó 10-bromo-3-fluoro-9H-imidazo[1,5-a][1,2,4]triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepina como se describe en el documento WO 2006/045429 en la página 37 en el ejemplo 47.

Compuesto 8591

65 Se preparó 3-bromo-10-metil-6-(2-oxo-pirrolidin-1-ilmetil)-9H-imidazo[1,5-a][1,2,4]triazolo[1,5-d][1,4]benzodiazepina como se describe en el documento WO 2007/042421 en la página 67 en el ejemplo 101.

Compuesto O1

Se preparó N-isopropil-6-(5-metil-3-fenil-isoxazol-4-ilmetoxi)-nicotinamida como se describe en el documento WO 2009/071476 en la página 50 en el ejemplo 26.

Compuesto P1

Se preparó (5,6-dihidro-8H-[1,2,4]triazolo[4,3-a]pirazin-7-il)-[6-(5-metil-3-fenil-isoxazol-4-ilmetoxi)-piridin-3-il]-metanona como se describe en el documento WO 2009/071476 en la página 62 en el ejemplo 75.

Compuesto Q1

Se preparó [6-(5-metil-3-fenil-isoxazol-4-ilmetoxi)-piridin-3-il]-(2-oxa-6-aza-espiro[3.3]hept-6-il)-metanona como se describe en el documento WO 2009/071476 en la página 64 en el ejemplo 81.

Compuesto R1

Se preparó (1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona como se describe en el documento WO 2009/071476 en la página 75 en el ejemplo 112.

Compuesto S1

Se preparó [6-[3-(4-cloro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il]-morfolin-4-il-metanona como se describe en el documento WO 2009/071476 en la página 78 en el ejemplo 123.

Compuesto T1

Se preparó [6-(5-metil-3-piridin-2-il-isoxazol-4-ilmetoxi)-piridin-3-il]-morfolin-4-il-metanona como se describe en el documento WO 2009/071476 en la página 123 en el ejemplo 274.

Compuesto U1

Se preparó 6-[3-(5-fluoro-piridin-2-il)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-isopropil-nicotinamida como se describe en el documento WO 2009/071476 en la página 127 en el ejemplo 289.

Compuesto V1

Se preparó (1,1-dioxo-1λ6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(5-fluoro-piridin-2-il)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona como se describe en el documento WO 2009/071476 en la página 127 en el ejemplo 293.

Compuesto W1

Se preparó {6-[3-(5-cloro-piridin-2-il)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-tiomorfolin-4-il-metanona como se describe en el documento WO 2009/071476 en la página 132 en el ejemplo 310.

Se han medido las afinidades de unión de los compuestos farmacéuticos activos anteriores en los subtipos de receptor para GABA A mediante competencia por [³H]flumazenil (85 Ci/mmol; Roche) que se une a células HEK293 que expresan receptores de rata (transfectados de forma estable) o humanos (transfectados de forma transitoria) de la composición α1β2/3γ2, α2β3γ2, α3β3γ2 y α5β3γ2. Como se puede observar a partir de la tabla 2a, los compuestos farmacéuticos activos usados en la presente invención presentan afinidad alta en el subtipo de receptor con α5β3γ2 y selectividad buena frente a los subtipos de receptor con α1β2/3γ2, α2β3γ2 y α3β3γ2.

Como se puede observar a partir de la tabla 2b, los compuestos farmacéuticos activos usados en la presente invención también demuestran una selectividad funcional sustancial. Se determinaron los efectos selectivos de subtipo sobre los receptores clonados expresados en ovocitos de *Xenopus*. Los receptores para GABA A recombinantes humanos se expresaron en ovocitos de *Xenopus laevis*. Se provocaron las respuestas actuales en condición de fijación de voltaje con dos microelectrodos aplicando una CE10 de GABA antes y durante la aplicación conjunta del compuesto de prueba. Las amplitudes de respuesta en presencia del compuesto de prueba se expresan como porcentaje de las amplitudes antes de la adición del fármaco.

c. Composiciones farmacéuticas

Para los estudios en ratones, los compuestos farmacéuticos activos de la presente invención se formularon en leche con chocolate (Puleva, Barcelona, España). Se administraron p.o. los compuestos farmacéuticos activos de la presente invención o vehículo a una dosis de 20 mg/kg durante seis semanas. Su administración se prolongó durante los 30 días de la evaluación conductual.

Para su uso en seres humanos, se pueden preparar composiciones farmacéuticas o medicamentos que comprendan compuestos farmacéuticos activos como se describe anteriormente y un vehículo, diluyente o excipiente terapéuticamente inerte, así como procedimientos de uso de los compuestos de la invención para preparar dichas composiciones y medicamentos.

Las composiciones se formulan, dosifican y administran de una manera consistente con la buena práctica médica. Los factores que se deben tener en consideración en este contexto incluyen el trastorno particular que se trata, el mamífero particular que se trata, la afección clínica del paciente individual, la causa del trastorno, el sitio de administración del agente, el procedimiento de administración, la pauta de administración y otros factores conocidos por los médicos de cabecera.

Los compuestos farmacéuticos activos usados en la invención se pueden administrar mediante cualquier medio adecuado, incluyendo administración oral, tópica (incluyendo bucal y sublingual), rectal, vaginal, transdérmica, parenteral, subcutánea, intraperitoneal, intrapulmonar, intradérmica, intratecal y epidural e intranasal y, si se desean para tratamiento local, intralesional. Las infusiones parenterales incluyen administración intramuscular, intravenosa, intrarterial, intraperitoneal o subcutánea.

Los compuestos farmacéuticos activos usados en la invención se pueden administrar en cualquier forma de administración conveniente, por ejemplo, comprimidos, polvos, cápsulas, soluciones, dispersiones, suspensiones, jarabes, pulverizadores, supositorios, geles, emulsiones, parches, etc. Dichas composiciones pueden comprender componentes convencionales en las preparaciones farmacéuticas, por ejemplo, diluyentes, vehículos, modificadores de pH, conservantes, solubilizantes, estabilizadores, agentes humectantes, emulsionantes, edulcorantes, colorantes, saborizantes, sales para variar la presión osmótica, tampones, agentes de enmascaramiento, antioxidantes y otros agentes activos. Todavía también pueden comprender otras sustancias terapéuticamente valiosas.

Una composición farmacéutica típica se prepara mezclando un compuesto farmacéutico activo usado en la invención y un vehículo o excipiente. Se conocen bien los vehículos y excipientes adecuados por los expertos en la técnica y se describen en detalle, por ejemplo, en Ansel H.C. *et al.*, *Ansel's Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems* (2004), Lippincott, Williams & Wilkins, Filadelfia; Gennaro A.R. *et al.*, *Remington: The Science and Practice of Pharmacy* (2000), Lippincott, Williams & Wilkins, Filadelfia; y Rowe R.C., *Handbook of Pharmaceutical Excipients* (2005), Pharmaceutical Press, Chicago. Las composiciones farmacéuticas también pueden incluir uno o más tampones, agentes estabilizantes, tensioactivos, agentes humectantes, agentes lubricantes, emulsionantes, agentes de suspensión, conservantes, antioxidantes, agentes opacificantes, deslizantes, coadyuvantes tecnológicos, colorantes, edulcorantes, agentes perfumantes, agentes saborizantes, diluyentes y otros aditivos conocidos para proporcionar una presentación elegante del fármaco (es decir, un compuesto de la presente invención o composición farmacéutica del mismo) o para ayudar en la fabricación del producto farmacéutico (es decir, medicamento).

La dosificación a la que se pueden administrar los compuestos farmacéuticos activos usados en la invención puede variar dentro de límites amplios y, por supuesto, se ajustará a los requisitos individuales en cada caso particular. En general, en el caso de la administración oral, debería ser apropiada una dosificación diaria de aproximadamente 0,1 a 1500 mg, más en particular de 1 a 1000 mg, lo más en particular de 5 a 500 mg por persona de un compuesto farmacéutico activo usado en la invención, aunque también se puede superar el límite superior anterior cuando sea necesario.

Un ejemplo de una forma de dosificación oral adecuada es un comprimido que comprende aproximadamente de 100 mg a 500 mg de un compuesto farmacéutico activo usado en la invención compuesto de aproximadamente 90 a 30 mg de lactosa anhidra, aproximadamente de 5 a 40 mg de croscarmelosa de sodio, aproximadamente de 5 a 30 mg de polivinilpirrolidona (PVP) K30 y aproximadamente de 1 a 10 mg de estearato de magnesio. En primer lugar, se mezclan los ingredientes en polvo y, a continuación, se mezclan con una solución de PVP. La composición resultante se puede secar, granular, mezclar con el estearato de magnesio y comprimir en una forma de comprimido usando un equipo convencional.

Se puede preparar un ejemplo de una composición de aerosol disolviendo un compuesto farmacéutico activo usado en la invención, por ejemplo, de 10 a 100 mg, en una solución tampón adecuada, por ejemplo, un tampón fosfato, añadiendo un modificador de tonicidad, por ejemplo, una sal, tal como cloruro de sodio, si se desea. La solución se puede filtrar, por ejemplo, usando un filtro de 0,2 μ m, para retirar las impurezas y los contaminantes.

d. Análisis estadístico

Los datos se analizaron usando ANOVA bidireccionales ('genotipo' x 'tratamiento'). Los datos del laberinto acuático de Morris se analizaron usando un ANOVA bidireccional con medidas repetidas ('sesión' x 'genotipo' x 'tratamiento'). Las medias de cada grupo experimental se compararon *a posteriori* mediante la prueba de la *t* de Student si se compararon dos grupos o las pruebas de Bonferroni si se compararon más de dos grupos. Todos los análisis se realizaron usando SPSS para Windows versión 17.0 (SPSS AG, Zúrich, Suiza).

Breve descripción de las tablas:

Tabla 1. Grupos experimentales de los animales usados en la presente invención para los ejemplos de 1 a 6.

5 Tabla 2a. Afinidades de unión y selectividades de unión de los compuestos farmacéuticos activos usados en la presente invención.

10 Tabla 2b. Modulación de los subtipos de receptor para GABA A expresados en ovocitos de *Xenopus* por compuestos farmacéuticos activos. Efecto en los receptores con $\alpha 5$ para GABA A humanos: % de cambio de una respuesta submáxima (CE10) a GABA determinada a un valor de K_i de 30x a partir del ensayo de unión a flumazenil. Efecto en los receptores con $\alpha 1$, $\alpha 2$ y $\alpha 3$ para GABA A humanos: % de cambio de una respuesta submáxima (CE10) a GABA determinada a 3 μM o a un valor de K_i de 30x a partir del ensayo de unión a flumazenil, si K_i estaba por debajo de 0,1 μM .

15 Tabla 3. Batería de pruebas sensitivomotoras (puntuaciones medias $\pm$ EEM) de ratones Ts65Dn y de control tratados con 8581, R1 y vehículo.

20 Tabla 4. Resultados de la prueba del tablero con agujeros (puntuaciones medias $\pm$ EEM) de ratones Ts65Dn y de control tratados con R1, 8581 y vehículo. **: $p < 0,01$ Ts65Dn frente a control

Tabla 5. Concentración de 8581 en suero (ng/ml) de ratones Nf1+/- y de control 0,5, 3, 7 y 24 horas después de la inyección i.p.

Breve descripción de las figuras

25 Figura 1. Media $\pm$ EEM de la latencia de ratones Ts65Dn y de control tratados con 8581, R1 y vehículo que caen del rotarod a velocidades constantes diferentes.

30 Figura 2. Media $\pm$ EEM de la latencia de ratones Ts65Dn y de control tratados con 8581, R1 y vehículo que caen del rotarod durante el ciclo de aceleración.

Figura 3. Media $\pm$ EEM de la actividad espontánea realizada por ratones Ts65Dn y de control en tratamiento con vehículo, R1 u 8581 en su jaula hábitat en un ciclo completo de oscuridad-luz de 24 horas.

35 Figura 4. Media $\pm$ EEM de la actividad media realizada por ratones Ts65Dn y de control en tratamiento con vehículo, R1 u 8581 en la fase de luz y de oscuridad del ciclo.

40 Figura 5. Media $\pm$ EEM del número de cruces realizados por ratones Ts65Dn y de control tratados con R1, 8581 y vehículo en el centro y periferia del campo abierto. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$ pruebas de Bonferroni después de ANOVA significativo.

Figura 6. Media $\pm$ EEM del número de exploraciones erguidas realizadas por ratones Ts65Dn y de control tratados con R1, 8581 y vehículo en el campo abierto.

45 Figura 7. Media $\pm$ EEM de la latencia para alcanzar la plataforma durante las ocho sesiones de adquisición en el LAM.

Figura 8. Media $\pm$ EEM de la latencia para alcanzar la plataforma durante las ocho sesiones de adquisición por ratones Ts65Dn y de control tratados con vehículo, (A) 8581 (B) y R1 y por ratones Ts65Dn (C) y de control (D) tratados con vehículo y 8581. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ Prueba de la t después de ANOVA significativos.

50 Figura 9. Media $\pm$ EEM de la latencia para alcanzar la plataforma durante las ocho sesiones de adquisición por ratones Ts65Dn (A) y de control (B) tratados con vehículo y 8581 y por ratones Ts65Dn (C) y de control (D) tratados con vehículo y R1. *: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$ prueba de la t después de ANOVA significativos.

55 Figura 10. Media $\pm$ EEM de la latencia para alcanzar la plataforma durante las sesiones con pistas. *: $p < 0,05$ Ts65Dn frente a control; #: $p < 0,05$; ###: $p < 0,01$ 8581 y R1 frente a vehículo.

60 Figura 11. 8581 revierte la deficiencia en la potenciación a largo plazo en cortes del hipocampo de ratones Ts65Dn después del tratamiento prolongado. Los datos se presentan como medias $\pm$ EEM del PPSE provocado registrado a partir de cortes del hipocampo de ratones Ts65Dn (TS) y de control (CO) tratados con vehículo y 8581. Después de un periodo inicial estable de 20 min, se aplicó estimulación tetánica a los cortes del hipocampo para inducir la PLP. Las pendientes de PPSE de campo se normalizaron y presentaron como media $\pm$ EEM ($n = 5-7$ / grupo). * $p < 0,05$ frente a vehículo (V).

65 Figura 12. R1 revierte la deficiencia en la potenciación a largo plazo en cortes del hipocampo de ratones Ts65Dn después del tratamiento prolongado. Los datos se presentan como medias $\pm$ EEM del PPSE provocado registrado a

partir de cortes del hipocampo de ratones TS y CO tratados con vehículo y R1. Después de un periodo inicial estable de 20 min, se aplicó estimulación tetánica a los cortes del hipocampo para inducir la PLP. Las pendientes de PPSE de campo se normalizaron y presentaron como media $\pm$ EEM ($n = 5-7$ / grupo). * $p < 0,05$ frente a vehículo (V).

Figura 13. 8581 rescata la proliferación neuronal en el hipocampo de ratones TS y CO. Los datos se expresan como medias $\pm$ EEM de la densidad de células Ki67+ en ratones TS y CO tratados con vehículo y 8581. ANOVA 'genotipo': $F(1,20)=7,39$, $p=0,024$; 'tratamiento': $F(1,20)=6,30$, $p=0,033$; 'genotipo x tratamiento': $F(1,20)=1,81$, $p=0,21$. **: $p<0,01$ TS frente a CO; #: $p<0,05$, ##: $p<0,01$ ratones tratados con vehículo frente a 8581; pruebas de Bonferroni después de ANOVA significativos.

Figura 14. 8581 rescató la densidad de células granulosas en el hipocampo de ratones TS. Los datos se expresan como medias $\pm$ EEM de la densidad de células DAPI+ en la capa de células granulosas de ratones TS y CO tratados con vehículo y 8581 (A). ANOVA 'genotipo': $F(1,20)=0,51$, $p=0,49$; 'tratamiento': $F(1,20)=7,09$, $p=0,026$; 'genotipo x tratamiento': $F(1,20)=4,00$, $p=0,076$. *: $p<0,05$ TS frente a CO; ##: $p<0,01$ ratones tratados con vehículo frente a 8581; pruebas de Bonferroni después de ANOVA significativos. (B) Imágenes representativas de la inmunotinción con DAPI de ratones TS y CO tratados con vehículo y 8581.

Figura 15. 8581 normalizó el porcentaje de área ocupada por botones GAD+ en el hipocampo de ratones TS. Los datos se expresan como medias $\pm$ EEM del porcentaje de área ocupada por botones GAD+ en el hipocampo de ratones TS y CO tratados con vehículo y 8581 (A). ANOVA 'genotipo': $F(1, 20)=0,085$, $p=0,77$; 'tratamiento': $F(1,20)=1,14$, $p=0,30$; 'genotipo x tratamiento': $F(1,20)=7,15$, $p=0,017$. *: $p<0,05$ TS frente a CO; #: $p<0,05$ ratones tratados con vehículo frente a 8581; pruebas de Bonferroni después de ANOVA significativos. (B) Imágenes representativas de la inmunotinción con GAD de ratones TS y CO tratados con vehículo y RO4938581.

Figura 16. 8581 (1 mg/kg) rescata las deficiencias en el aprendizaje espacial de ratones Nf1+/- . Porcentaje medio de tiempo invertido en cada cuadrante durante un ensayo de prueba (IC: izquierda de cuadrante diana; CD: cuadrante diana; DC: derecha de cuadrante diana; OC: opuesto al cuadrante diana).

Figura 17. 8581 (1 mg/kg) rescata las deficiencias en el aprendizaje espacial de ratones Nf1+/- . Proximidad promedio con respecto a la plataforma diana durante un ensayo de prueba.

Figura 18. 8581 (1 mg/kg) no afecta al desempeño de los ratones Nf1+/- en condiciones que ocluyan sus deficiencias conductuales. Porcentaje medio de tiempo invertido en cada cuadrante durante un ensayo de prueba (IC: izquierda de cuadrante diana; CD: cuadrante diana; DC: derecha de cuadrante diana; OC: opuesto al cuadrante diana).

Figura 19. 8581 (1 mg/kg) no afecta al desempeño de los ratones Nf1+/- en condiciones que ocluyan sus deficiencias conductuales. Proximidad promedio con respecto a la plataforma diana durante un ensayo de prueba.

Figura 20. Condicionamiento contextual: Curva de respuesta a la dosis (0,3, 1,0 y 3,0 mg/kg) de ratones de control tratados con 8581 ($P<0,05$).

Figura 21. Condicionamiento contextual de ratones de control cuando se les administró 8581 (1 mg/kg) durante dos días consecutivos.

Figura 22. Desempeño de los ratones de control tratados con vehículo u 8581 (1 mg/kg) en el Rotarod.

Figura 23. Desempeño de los ratones Nf1+/- tratados con vehículo u 8581 (1 mg/kg) en el Rotarod.

Abreviaturas

ANOVA	= análisis de la varianza
BZD	= benzodiacepina
SNC	= sistema nervioso central
CO	= control
SD	= síndrome de Down
F	= valor de la prueba de la F
GABA	= ácido gamma-aminobutírico
i.p.	= intraperitoneal

	PLP	= potenciación a largo plazo
	MANOVA	= análisis multivariante de la varianza
5	LAM	= laberinto acuático de Morris
	p	= probabilidad
	p.o.	= por vía oral
10	EEM	= error estándar de la media
	TS	= Ts65Dn
15	veh	= vehículo

Ejemplo 1. Pruebas sensitivomotoras

Se realizó una batería de pruebas sensitivomotoras siguiendo el procedimiento descrito por Rueda N *et al.* [*Neurosci Lett* (2008) 433(1):22-27]. En la prueba de reflejo de colocación visual, se evaluaron las funciones cerebelosas y vestibulares. En 3 ensayos consecutivos, los ratones se hicieron descender con cuidado por la cola hacia una superficie plana desde una altura de 15 cm. La respuesta de la extensión de las patas delanteras se puntuó en una escala de 0-4 [4: el animal extiende las patas delanteras cuando se colocó a la altura más alta; 3: patas delanteras extendidas antes de tocar la superficie con las vibrisas; 2: patas delanteras extendidas después de que las vibrisas tocaran la superficie; 1: patas delanteras extendidas después de que el hocico tocara la superficie; 0: sin extensión].

Para evaluar la sensibilidad auditiva, se midió la respuesta de sobresalto a un estímulo auditivo repentino. Los ratones se colocaron orientados hacia la pared de una jaula desconocida y se generó el estímulo auditivo golpeando entre sí dos pinzas de acero inoxidable (7 cm de largo). Se asignó una puntuación (0-3 puntos) en base a la magnitud de la respuesta: salto de más de 1 cm (3 puntos); salto de menos de 1 cm (2 puntos); retracción de las orejas (reflejo de Preyer, 1 punto); o sin respuesta (0 puntos).

Se analizó el reflejo de colocación de vibrisa observando la reacción de reflexión al tocar las vibrisas con un bastoncillo de algodón. En tres ensayos consecutivos, se asignó una puntuación de 1 a los animales que tocaron las vibrisas estimuladas con una pata ipsilateral y 0 si no hubo ninguna respuesta.

Se evaluó la fuerza de sujeción cuantificando la resistencia a separarse de una tapa de barras de aluminio (2 mm) cuando se arrastró por la cola (0: sin resistencia, pérdida total de fuerza de sujeción; resistencia 1: leve; 2: moderada; 3: activa; 4: extremadamente activa, fuerza de sujeción normal).

A fin de evaluar el equilibrio, se realizaron cuatro ensayos de equilibrio de 20 s en una barra elevada (40 cm de alto), horizontal (50 cm de largo). Los ensayos 1 y 2 se realizaron en una barra de madera plana (9 mm de ancho); los ensayos 3 y 4 se realizaron en una barra de aluminio cilíndrica (1 cm de diámetro). En cada ensayo, los animales se colocaron en una zona central marcada (10 cm) en la barra elevada. Se daba una puntuación de 0 si el animal caía en 20 s, 1 si estaba en la zona central durante > 20 s, 2 si abandonaba la zona central y 3 si alcanzaba uno de los extremos de la barra.

El reflejo prensil (tres ensayos de 5 s) se midió como la capacidad del animal para permanecer suspendido por las patas delanteras al agarrar un cable horizontal elevado (2 mm de diámetro). Se logró la puntuación máxima posible de 3 cuando el animal permaneció suspendido por las patas delanteras en los tres ensayos (un punto por ensayo). Al mismo tiempo, se puntuó la capacidad de tracción evaluando el número de extremidades traseras que el animal levantó para alcanzar el alambre (0: ninguna; 1: una extremidad; 2: dos extremidades).

La tabla 3 muestra la puntuación de los ratones Ts65Dn y de control tratados con 8581, R1 y vehículo en las pruebas sensitivomotoras diferentes. El tratamiento con 8581 o R1 no modificó ninguna de las capacidades sensitivomotoras sometidas a prueba en ratones Ts65Dn o de control (visión, audición, fuerza, reflejo prensil de equilibrio, capacidad de tracción o coordinación motora en la prueba de suspensión del pelaje).

Ejemplo 2. Coordinación motora: Rotarod

Se evaluó la coordinación motora usando un dispositivo rotarod (Ugo Basile; Comerio, Italia), que consiste en una barra de plástico de 3 cm de diámetro y 37 cm de largo que gira a velocidades diferentes. En una única sesión, se realizaron 4 ensayos con una duración máxima de 60 s cada uno. En las tres primeras pruebas, la barra giró a velocidades constantes de 5, 25 y 50 rpm, respectivamente. El último ensayo consistió en un ciclo de aceleración, en el que la barra giraba progresivamente más rápido y el animal tenía que adaptarse a las crecientes demandas de la prueba. Se registró el tiempo que cada animal estuvo en el rotarod.

Como se muestra en las figuras 1 y 2, la coordinación motora en el rotarod no se modificó en ratones de ningún genotipo después del tratamiento con 8581 o R1. Los ratones Ts65Dn y de control no difirieron en la latencia para caer del rotarod a velocidades constantes diferentes (ANOVA 'genotipo': vel 2: $F(1,76)=0,63$, $p=0,42$; vel 3: $F(1,76)=1,54$, $p=0,21$) o durante el ciclo de aceleración ($F(1,76)=1,87$, $p=0,17$).

Además, no se encontró ninguna diferencia entre los ratones Ts65Dn o de control tratados con 8581 o R1 y vehículo en la latencia para caer a las velocidades constantes diferentes (ANOVA 'tratamiento' vel 2: $F(1,76)=0,08$, $p=0,92$; vel 3: $F(1,76)=1,42$, $p=0,24$) o durante el ciclo de aceleración ($F(1,76)=1,40$, $p=0,25$).

MANOVA reveló que no hubo ninguna interacción significativa de los factores 'genotipo' y 'tratamiento' en ninguna de las condiciones sometidas a prueba en el rotarod (vel 2: $F(1,76)=0,31$, $p=0,72$; vel 3: $F(1,76)=0,48$, $p=0,61$; aceleración: $F(1,76)=0,43$, $p=0,64$).

Ejemplo 3. Actividad espontánea: actimetría

En esta prueba, se evaluó la variación circadiana de la actividad locomotora espontánea de los animales durante un ciclo completo de luz-oscuridad de 24 horas. El aparato es un dispositivo (Acti-system II, Panlab, Barcelona) que detecta los cambios producidos en un campo magnético por el movimiento de los ratones. Registra los movimientos de los animales durante un ciclo continuo de 24 horas (12 horas de luz y 12 horas de oscuridad).

Las figuras 3 y 4 muestran que los ratones Ts65Dn y de control (ANOVA 'genotipo' oscuridad: $F(1,76)=2,79$, $p=0,10$; luz: $F(1,76)=2,24$, $p=0,14$) en tratamiento con vehículo, R1 u 8581 (ANOVA 'tratamiento' oscuridad: $F(1,76)=2,20$, $p=0,12$; luz: $F(1,76)=0,27$, $p=0,76$; ANOVA 'genotipo x tratamiento': oscuridad: $F(1,76)=0,79$, $p=0,45$; luz: $F(1,76)=0,39$, $p=0,67$) no difirió en la cantidad de actividad espontánea realizada en su jaula hábitat durante la fase de oscuridad o de luz del ciclo.

Ejemplo 4. Campo abierto

Se evaluaron la conducta exploratoria y ansiedad usando un campo abierto de forma cuadrada (55 cm x 55 cm, rodeado de una cerca de 25 cm de altura), dividido en 25 cuadrados iguales. Los animales se colocaron en el centro del campo y se puntuó el número de actividades verticales (exploración erguida) y cruces horizontales (de cuadrado a cuadrado, subdivididos en cruces de centro frente a periféricos) en un único ensayo de 5 min.

En la prueba de campo abierto, no se encontró ninguna diferencia significativa en la actividad realizada por ratones de ambos genotipos en el centro del laberinto (ANOVA 'genotipo': $F(1,76)=2,77$, $p=0,10$; figura 5) o en el número de exploraciones erguidas ($F(1,76)=0,01$, $p=0,90$; figura 6). Sin embargo, los ratones Ts65Dn tratados con vehículo eran hiperactivos cuando se compararon con los ratones de control en el mismo tratamiento, como se muestra mediante el incremento de la actividad en la periferia (ANOVA 'genotipo': $F(1,76)=15,86$, $p<0,001$; figura 5), y en la actividad total ($F(1,76)=17,39$, $p<0,001$; figura 6).

MANOVA reveló que el tratamiento con R1 u 8581 no afectó significativamente a la actividad horizontal (ANOVA 'tratamiento': periferia: $F(1,76)=1,08$, $p=0,34$; número total de cruces: $F(1,76)=1,27$, $p=0,28$) o vertical (exploraciones erguidas $F(1,76)=1,75$, $p=0,18$) en ratones de cualquier genotipo. El hecho de que la administración prolongada de estos dos compuestos no afectara a la actividad en el centro del laberinto (ANOVA 'tratamiento': centro: $F(1,76)=2,42$, $p=0,096$) sugiere que estos compuestos no produjeron un efecto ansiogénico en los ratones ni en ningún genotipo.

No se encontró ninguna interacción significativa entre 'genotipo' y 'tratamiento' en la actividad horizontal (centro $F(1,44)=0,64$, $p=0,71$; periferia: $F(1,76)=1,06$, $p=0,35$; total: $F(1,76)=1,00$, $p=0,37$), pero ANOVA reveló un efecto significativo de estos dos factores sobre el número de exploraciones erguidas ($F(1,76)=3,36$, $p=0,04$).

Ejemplo 5. Actividad exploratoria: tablero con agujeros

El tablero con agujeros es una caja de madera (32 x 32 x 30 cm) con cuatro agujeros. El suelo se divide en nueve cuadrados de 10 cm. En un único ensayo de 5 minutos, se midió el número de exploraciones, el tiempo invertido explorando cada agujero y la actividad global en el aparato. También se calculó un índice de repetición (exploración de agujeros previamente explorados) como una función del número de alternancias de ABA.

La tabla 4 muestra las puntuaciones de los ratones Ts65Dn y de control tratados con R1, 8581 y vehículo en la prueba del tablero con agujeros. Los ratones Ts65Dn en todos los tratamientos realizaron un número más grande de cruces que los ratones de control. El tratamiento con 8581 y R1 redujo esta hiperactividad mostrada por los ratones Ts65Dn. Los ratones Ts65Dn también mostraron un incremento del número de exploraciones realizadas en todas las condiciones de tratamiento. No se encontró ninguna diferencia en la actividad vertical en este laberinto entre los ratones Ts65Dn y de control en los tratamientos diferentes. No se encontró ninguna diferencia significativa entre los ratones de ambos genotipos y tratamientos en el tiempo que invirtieron explorando los agujeros. Los ratones Ts65Dn mostraron una atención alterada, puesto que repitieron un número más grande de veces la exploración de los agujeros

explorados recientemente (índice ABA). Después del tratamiento con 8581 (pero no después de R1), se normalizó el índice ABA para los ratones Ts65Dn.

Ejemplo 6. Aprendizaje espacial: laberinto acuático de Morris

Para evaluar el aprendizaje espacial se usó el laberinto acuático de Morris. El aparato era un depósito circular de 110 cm de diámetro, lleno de agua (22-24 °C) hecho opaco mediante la adición de leche en polvo. En el interior del depósito, se ocultó una plataforma 1 cm por debajo del nivel del agua.

Los animales se sometieron a prueba al final del periodo de tratamiento en 12 sesiones diarias consecutivas: 8 sesiones de adquisición (plataforma sumergida), seguidas de 4 sesiones con pistas (plataforma visible). Todos los ensayos se grabaron en video con una cámara localizada 2 m por encima del nivel del agua. Se usó un sistema de rastreo computarizado SMART (Panlab S.A., Barcelona, España) para analizar las trayectorias de los ratones, medir la latencia de escape, la distancia recorrida y la velocidad de nado para cada animal en cada ensayo.

Sesiones de entrenamiento

En las sesiones de adquisición (S1-S8), se ocultó la plataforma 1 cm por debajo del nivel del agua. De una sesión diaria a la siguiente, la plataforma se colocó en una localización diferente (E, SO, centro y NO); cada posición se usó una vez cada cuatro sesiones diarias consecutivas. Cada una de las 8 sesiones de adquisición y 4 con pistas (una sesión por día) consistió en cuatro pares de ensayos, con una diferencia de 30-45 min. Para cada par de ensayos, los ratones se iniciaron al azar desde una de cuatro posiciones (N, S, E, O), que se mantuvo constante para ambos ensayos. El primer ensayo de un par terminó cuando el ratón localizó la plataforma o cuando habían transcurrido 60 s; el segundo ensayo comenzó tras un periodo de 20 s, durante el que se dejó que el animal estuviera en la plataforma. Varias pistas fijas fuera del laberinto eran visibles constantemente desde la piscina.

Sesiones con pistas

Durante las sesiones con pistas, la plataforma era visible: el nivel del agua estaba 1 cm por debajo de la plataforma y su posición se indicaba con una bandera. Se realizaron ocho ensayos durante cada sesión, siguiendo el mismo procedimiento experimental que en las sesiones de adquisición.

Como se muestra en la figura 7, todos los grupos de ratones aprendieron la posición de la plataforma durante las sesiones de adquisición, puesto que redujeron la latencia para alcanzar la plataforma (ANOVA 'sesión': $F(7,65)=26,8$, $p<0,001$).

Los ratones Ts65Dn mostraron una pronunciada deficiencia en el aprendizaje en el LAM (ANOVA 'genotipo': $F(1,65)=39,26$, $p<0,001$; figura 8A), pero la diferencia entre las curvas de aprendizaje de Ts65Dn y control se redujo después de 8581 (ANOVA 'genotipo': $F(1,18)=4,69$, $p<0,05$; figura 8B) y después del tratamiento con R1 (ANOVA 'genotipo': $F(1,26)=13,57$, $p<0,01$).

Como se muestra en la figura 9A, el tratamiento con 8581 mejoró significativamente el desempeño de los ratones Ts65Dn (ANOVA 'tratamiento': $F(1,24)=32,43$, $p<0,001$). El tratamiento prolongado con R1 también mejoró la cognición de los ratones Ts65Dn ($F(1,24)=9,2$, $p<0,01$; figura 9C). 8581 (figura 9B) o R1 (figura 9D) no afectó significativamente al desempeño de los ratones de control.

Durante las sesiones con pistas (figura 10), los ratones Ts65Dn tratados con vehículo mostraron una latencia incrementada para alcanzar la plataforma con respecto a los ratones de control (ANOVA 'genotipo': $F(1,46)=5,35$, $p=0,024$). El tratamiento con R1 y 8581 redujo la latencia para alcanzar la plataforma (ANOVA 'tratamiento': $F(1,46)=6,52$, $p=0,003$) en Ts65Dn, pero no en ratones de control (ANOVA 'genotipo x tratamiento': $F(1,46)=3,44$, $p=0,038$).

Ejemplo 7. Potenciación a largo plazo (PLP)

Se evaluó el efecto de la administración prolongada de 8581 y R1 sobre la PLP en el modelo de ratón Ts65Dn de síndrome de Down. Se administró 8581, R1 (20 mg/kg p.o.) o vehículo durante seis semanas. Los ratones se decapitaron 1 hora después de la última administración y los cerebros se extirparon rápidamente. Se disecaron los hipocampos y se realizaron cortes de 400 μ m con un cortador mecánico de tejidos. Se dejó que los cortes se recuperaran durante al menos 1 hora en una cámara de interfase a TA con líquido cefalorraquídeo artificial (LCRA) que contenía (en mM): NaCl 120, KCl 3,5, CaCl₂ 2,5, MgSO₄ 1,3, NaH₂PO₄ 1,25, NaHCO₃ 26 y D-glucosa 10, saturado con un 95 % de O₂ y un 5 % de CO₂. Los potenciales postsinápticos excitadores de campo (PPSEc) se registraron en el *stratum radiatum* en CA1 con una micropipeta de vidrio (1-4 M Ω) que contenía NaCl 2 M y se provocaron mediante la estimulación de las colaterales de Schaffer con electrodos de platino/iridio bipolares aislados a > 500 μ m del electrodo de registro. Se ajustó la fuerza del estímulo para provocar PPSEc iguales a un 50 % de la amplitud máxima relativa sin aumento súbito de la población superpuesto. Después de los registros iniciales estables (duración de los pulsos de 100 μ s, 0,033 Hz), se indujo una potenciación a largo plazo (PLP) mediante TBS (10 series de 5 pulsos a

100 Hz e intervalos de 200 ms). La duración de los pulsos de estimulación se duplicó durante la contracción tetánica. Después de 20 min de un registro inicial, se indujo la PLP y se registró durante 80 min en cada corte del hipocampo individual. Las señales de los electrodos de registro se amplificaron y se filtraron con banda pasante (1 Hz-1 kHz) y se almacenaron en un ordenador usando el programa Spike 2 (Spike2, Cambridge Electronic Design, Cambridge, Reino Unido). Para el análisis, las pendientes de PPSEc se expresaron como un porcentaje de los valores iniciales registrados. Los resultados de varios cortes se expresaron como media $\pm$ EEM. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante MANOVA de medidas repetidas (MR) ('tiempo' x 'tratamiento' x 'genotipo'). Todos los análisis se realizaron usando SPSS para Windows versión 18.0.

Como se muestra en la figura 11 y 12, los cortes del hipocampo de ratones Ts65Dn tratados con vehículo presentaron deficiencias en la PLP. En cambio, la PLP inducida en cortes del hipocampo de animales tratados con 8581 o R1 no fue diferente de la inducida en cortes del hipocampo de ratones de control (figura 11 y 12, respectivamente). Esto sugiere que el tratamiento prolongado a los ratones Ts65Dn con 8581 o R1 rescata la deficiencia en la PLP probablemente reduciendo la inhibición mediada por GABA en exceso observada en estos animales.

Ejemplo 8. Neurogénesis rescatada

Las alteraciones en la morfología del hipocampo, tales como las reducciones de la densidad de células granulosas y de la neurogénesis del hipocampo, también han estado implicadas en las deficiencias en el aprendizaje mostradas por los ratones Ts65Dn. Se sabe que el aprendizaje espacial depende de la integridad funcional del hipocampo, una estructura que desempeña un papel clave en la codificación y recuperación de la información en el SNC. Se ha estudiado la población de células recién formadas en el giro dentado (GD) marcando células en proliferación con anti-Ki67, un marcador de células que experimentan la fase G1 tardía y las fases G2 y M. Se confirmó que la neurogénesis del hipocampo se redujo en estos ratones y se mostró que la administración prolongada de 8581 restableció por completo la densidad de las células en proliferación en ratones TS ($p=0,033$; figura 13). Además, también se normalizó la supervivencia neuronal de las células que han experimentado una maduración en ratones TS, como se muestra mediante el incremento de las células DAPI+ encontradas en ratones TS después de la administración prolongada de 8581 ($p=0,026$; figura 14).

Por lo tanto, este compuesto facilita la proliferación de las células y la supervivencia de las neuronas que han experimentado una maduración. Puesto que las neuronas recién formadas y las neuronas maduras parecen estar implicadas en el aprendizaje y la memoria dependientes del hipocampo, es probable que el restablecimiento de la proliferación y de la densidad de las neuronas maduras esté implicado en los efectos potenciadores cognitivos de 8581 en ratones TS.

Además, se encontró que en el hipocampo de ratón TS existe una potenciación en el número de sinapsis GABAérgicas en comparación con los animales de control. Es importante destacar que el tratamiento prolongado con 8581 rescata esta alteración, ya que el número de botones GAD positivos disminuyó drásticamente después del tratamiento prolongado con este MAN de $\alpha 5$ para GABAA selectivo ($p=0,017$; figura 15). Este tratamiento produjo una tendencia no significativa a incrementar el número de estas sinapsis en ratones CO.

Ejemplo 9. Aprendizaje espacial de ratones Nf1+/- en el laberinto acuático de Morris

1 semana después de la manipulación, se entrenaron los ratones con dos ensayos consecutivos por día durante 8-9 días, 30 minutos, después de la inyección i.p. de 8581 o vehículo. En cada ensayo, se les dio 60 s a los ratones para encontrar la plataforma. Después de cada ensayo, los ratones se dispusieron en la plataforma durante 15 s. El día del ensayo de prueba (día 3, día 5, día 7 y día 9) se realizaron 60 s de ensayo de prueba después del entrenamiento. En el ensayo de prueba 1 (día 3), ninguno de los grupos sometido a prueba aprendió a buscar específicamente en el cuadrante diana; los ensayos de prueba 3 y 4 (días 7 y 9) mostraron que el grupo Nf1/veh estaba deteriorado significativamente en comparación con CO/veh (ANOVA bidireccional, interacción cuadrante x genotipo, $F(3,51)=5,662$, $P<0,01$). Es importante destacar que los ratones Nf1+/- tratados con 8581 muestran un desempeño comparable con los animales de control en todos los ensayos de prueba, lo que sugiere que 8581 rescató las deficiencias en el aprendizaje espacial de los ratones Nf1+/- . Dos medidas diferentes de aprendizaje espacial (% de búsqueda en cuadrante (figura 16) y proximidad promedio con respecto a la plataforma diana (figura 17)) muestran de forma similar que los compuestos farmacéuticos activos usados en la presente invención rescatan las deficiencias en el aprendizaje espacial de ratones Nf1+/- (CO/veh (n=10), Nf1/veh (n=9), CO/8581 (n=10) y Nf1/8581 (n=11)).

Se sometieron a prueba los efectos de los compuestos farmacéuticos activos usados en la presente invención sobre el desempeño de los ratones Nf1+/- en condiciones en las que el aprendizaje espacial de los mutantes era indistinguible de los controles (menor extinción debido al número más bajo de ensayos de prueba). Se representa el porcentaje medio de tiempo invertido en cada cuadrante durante un ensayo de prueba en la figura 18. La proximidad promedio con respecto al cuadrante diana se representa en la figura 19. Los resultados muestran que los ratones Nf1+/- tratados con vehículo eran indistinguibles de los ratones de control tratados de forma similar. Las comparaciones entre el % de búsqueda en el cuadrante diana y la proximidad con respecto al cuadrante diana no revelaron ninguna diferencia entre los grupos. En el ensayo de prueba 1 y 2 (días 5 y 7), todos los grupos buscaron selectivamente en el cuadrante diana ($p<0,01$), y no existió ninguna diferencia entre los grupos.

Ejemplo 10. Condicionamiento del miedo

Los ratones de control (B16;129F1) se entrenaron con un protocolo de condicionamiento del miedo contextual usando un ensayo por día durante un día (figura 20) o bien dos días consecutivos (figura 21). El día del entrenamiento, 30 minutos después de la inyección i.p. de 8581 o vehículo, se colocaron los ratones en la cámara de entrenamiento. Se administró una descarga en la parte inferior de la pata (1 s, 0,4 mA) 40 s después de la colocación. La respuesta condicionada (porcentaje de tiempo de inmovilización de los ratones) se registró 24 h después del entrenamiento usando procedimientos automatizados. Se representaron los niveles de inmovilización promedio durante los primeros 30 s de cada día de entrenamiento y 24 h después del último ensayo de entrenamiento.

La curva de respuesta a la dosis (0,3, 1,0 y 3,0 mg/kg) como se muestra en la figura 20 revela un incremento dependiente de la dosis en el condicionamiento del miedo contextual en los ratones de control. 3 mg/kg de 8581 potenciaron significativamente la inmovilización a las 24 h después del entrenamiento ($p < 0,05$). Como se puede observar a partir de la figura 21, 1 mg/kg de 8581 también provocó un incremento significativo del condicionamiento contextual cuando los ratones se entrenaron durante dos días consecutivos. Los ratones tratados con el fármaco se inmovilizan significativamente más en comparación con el grupo de control/vehículo ($F(1,18)=5,254$, $p=0,034$).

Ejemplo 11. Rotarod

Se trataron ratones de control (B16;129F1) y ratones Nf1+/- con vehículo o con 8581 ($n=10$ para cada uno de los 4 grupos). 30 minutos después de la inyección i.p. de 8581 (1 mg/kg) o vehículo, los ratones se sometieron a prueba con un protocolo de rotarod usando velocidades en aceleración (4-40 rpm, duración máxima de 300 s) durante cuatro ensayos con un intervalo entre ensayos de 30 min. La figura 22 visualiza el desempeño de los ratones de control en el Rotarod y la figura 23 ilustra el desempeño de los ratones Nf1+/- en el Rotarod. 8581 no afectó al desempeño tanto de los ratones mutantes Nf1+/- como de control.

Tabla 1:

	Control	Ts65Dn
8581	10	10
R1	16	15
Vehículo	13	13

Tabla 2a:

Compuesto	hKi $\alpha 5$ [nM]	hKi $\alpha 1$ [nM]	hKi $\alpha 2$ [nM]	hKi $\alpha 3$ [nM]	hKi $\alpha 1/\text{hKi } \alpha 5$	hKi $\alpha 2/\text{hKi } \alpha 5$	hKi $\alpha 3/\text{hKi } \alpha 5$
8580	9,1	43,9	25,4	26,2	5	3	3
8581	4,6	174,3	185,4	79,6	38	40	17
8582	16,5	256,5	246,3	105,8	16	15	6
8583	1,6	28,3	13,9	10,5	18	9	7
8584	2,5	125,3	181,0	116,7	50	72	47
8585	0,3	3,8	1,5	0,7	14	5	2
8586	2,1	15,3	23,7	14,0	7	12	7
8587	10,9	249,8	141,4	105,8	23	13	10
8588	1,1	20,5	40,1	16,0	19	37	15
8589	6,1	225,9	228,7	215,8	37	37	35
8590	0,5	2,1	3,7	3,9	4	7	8
8591	7,1	624,0	668,6	515,4	88	94	73
O1	1,3	504,3	100,5	110,2	388	77	85
P1	29,9						
Q1	15,1	633,0	437,9	399,6	42	29	26
R1	4,7	984,6	501,5	489,1	209	107	104
S1	5,4	550,8	209,3	220,2	102	39	41
T1	14,6	467,9	292,8	387,1	32	20	27
U1	0,3	45,8	7,2	7,5	153	24	25
V1	1,2	143,3	53,3	76,1	119	44	63
W1	0,4	34,6	10,7	17,7	87	27	44

Tabla 2b:

Compuesto	Eficacia [%] de $\alpha 5\beta 3\gamma 2$ para GABA A	Eficacia [%] de $\alpha 1\beta 2/3\gamma 2$ para GABA A	Eficacia [%] de $\alpha 2\beta 3\gamma 2$ para GABA A	Eficacia [%] de $\alpha 3\beta 3\gamma 2$ para GABA A
8580	-35			
8581	-46	-1	-11	-1
8582	-37	-21		
8585	-41	-37		
8586	-33	-5	+2	+7
8587	-42	-28		
8591	-31	+4	-7	+23
O1	-50	-19	-34	-43
Q1	-35	-11	-18	-17
R1	-39	-4	-6	-2
T1	-31	-3	+5	+9
U1	-33	-15	-34	-21
V1	-33	0	+9	+16

Tabla 3:

	Vehículo		8581		R1		MANOVA 'genotipo x tratamiento'		
	Ts65Dn	control	Ts65Dn	control	Ts65Dn	control	genotipo F (1,76)	tratamiento F (2,76)	gen x tratamiento
Visión	8,23 ± 0,60	8,54 ± 0,57	7,67 ± 0,88	7,64 ± 0,47	9,19 ± 0,54	8,40 ± 0,52	0,09, p=0,76	1,74, p=0,18	0,53, p=0,58
Sobresalto auditivo	1,15 ± 0,19	1,31 ± 0,24	1,33 ± 0,17	1,00 ± 0,13	1,31 ± 0,18	1,00 ± 0,20	1,07, p=0,30	0,10, p=0,90	0,92, p=0,40
Reflejo de enderezamiento	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,00	3,00 ± 0,0			
Fuerza de sujeción	1,62 ± 0,24	2,00 ± 0,28	2,00 ± 0,24	1,55 ± 0,21	1,75 ± 0,19	2,2 ± 0,22	0,74, p=0,39	0,63, p=0,53	2,33, p=0,10
Barra de madera de equilibrio	3,08 ± 0,37	2,4 ± 0,24	3,55 ± 0,38	2,8 ± 0,38	3,19 ± 0,31	2,53 ± 0,24	7,58, p=0,008	0,80, p=0,45	0,02, p=0,97
Latencia para caer de la barra de madera	20,0 ± 0,0	19,8 ± 0,19	17,77 ± 2,22	20,00 ± 0,00	20,00 ± 0,0	20,00 ± 0,0	1,62, p=0,20	1,62, p=0,20	1,89, p=0,15
Barra de aluminio de equilibrio	2,31 ± 0,54	1,38 ± 0,43	1,00 ± 0,44	1,36 ± 0,45	1,13 ± 0,33	0,80 ± 0,34	0,50, p=0,48	2,09, p=0,13	0,80, p=0,45
Latencia para caer de la barra de aluminio	15,15 ± 1,55	13,42 ± 1,33	12,11 ± 2,07	14,73 ± 1,27	13,71 ± 1,32	11,16 ± 1,57	0,10, p=0,74	0,64, p=0,52	1,39, p=0,25
Reflejo prensil	2,92 ± 0,83	2,69 ± 0,17	2,67 ± 0,24	2,45 ± 0,31	2,75 ± 0,17	2,53 ± 0,22	1,63, p=0,20	0,67, p=0,51	0,00, p=1,00
Capacidad de tracción	2,67 ± 0,62	2,31 ± 0,63	1,67 ± 0,62	1,82 ± 0,55	2,50 ± 0,57	1,80 ± 0,45	0,39, p=0,53	0,72, p=0,48	0,25, p=0,77
Número de cruces en suspensión del pelaje	3,67 ± 0,34	3,62 ± 0,96	3,33 ± 0,50	2,64 ± 0,43	3,19 ± 0,73	2,73 ± 0,36	1,76, p=0,18	1,36, p=0,26	0,71, p=0,49
Entrada de latencia en suspensión del pelaje	32,42 ± 6,16	36,00 ± 5,62	35,44 ± 5,76	46,45 ± 5,79	37,37 ± 4,91	30,93 ± 5,16	0,34, p=0,55	0,85, p=0,42	1,22, p=0,29

Tabla 4:

	Vehículo		8581		R1		MANOVA 'genotipo x tratamiento'			
	Ts65Dn	control	Ts65Dn	control	Ts65Dn	control	genotipo F(1,76)	tratamiento (2,76)	gen x tratamiento	
Cruces	127,15** ± 11,86	79,00 ± 5,24	106,11 ± 9,80	73,27 ± 8,31	93,19 ± 7,50	72,13 ± 7,05	23,55, p<0,001	3,27, p=0,04	1,42, p=0,24	
	13,77 ± 2,55	11,54 ± 1,98	20,67 ± 5,69	17,73 ± 3,06	13,19 ± 2,20	13,86 ± 2,01	0,41, p=0,52	2,77, p=0,07	0,24, p=0,78	
Exploraciones erguidas										
Número de inmersiones de cabeza	22,62 ± 2,21	18,15 ± 1,84	18,22 ± 1,96	14,82 ± 2,00	20,50 ± 1,95	16,13 ± 1,71	6,18, p=0,015	1,71, p=0,18	0,03, p=0,96	
Tiempo explorando agujeros	37,88 ± 7,55	33,92 ± 6,63	26,28 ± 4,17	30,43 ± 6,83	37,58 ± 5,07	28,28 ± 4,62	0,36, p=0,54	0,68, p=0,50	0,58, p=0,56	
Índice ABA	5,23 ± 0,60	3,23 ± 0,53	3,89 ± 0,72	2,64 ± 0,86	4,25 ± 0,72	4,06 ± 0,56	4,21, p=0,044	1,10, p=0,33	1,02, p=0,36	

Tabla 5:

Dosis (mg/kg)	0,1		1	
	Nf1+/-	control	Nf1+/-	control
0,5 h	10,97±1,73	9,45±3,05	192±35	271±1
3 h	<0,5	<0,5	8,945±0,5	11,89±2,51
7 h	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5
24 h	<0,5	<0,5	<0,5	<0,5

REIVINDICACIONES

1. Un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A seleccionado de:

(1,1-dioxo-1,6-tiomorfolin-4-il)-{6-[3-(4-fluoro-fenil)-5-metil-isoxazol-4-ilmetoxi]-piridin-3-il}-metanona;

o una sal farmacéuticamente aceptable de la misma;

para su uso en el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de afecciones del SNC provocadas por anomalías en el desarrollo neurológico que dan como resultado una inhibición GABAérgica en exceso en la corteza e hipocampo, en el que la afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en síndrome de Down, en autismo, en neurofibromatosis de tipo I o después de accidente cerebrovascular.

2. Un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso como en la reivindicación 1, en el que dicha afección del SNC se selecciona de deficiencias cognitivas en síndrome de Down, en autismo o en neurofibromatosis de tipo I.

3. Un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 para su uso como en las reivindicaciones 1 o 2, en el que dicha afección del SNC es una deficiencia cognitiva en síndrome de Down.

4. Un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 para su uso como en las reivindicaciones 1 o 2, en el que dicha afección del SNC es una deficiencia cognitiva en autismo.

5. Un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2 para su uso como en las reivindicaciones 1 o 2, en el que dicha afección del SNC es una deficiencia cognitiva en neurofibromatosis de tipo I.

6. Un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A de acuerdo con la reivindicación 1 para su uso como en la reivindicación 1, en el que dicha afección del SNC es una deficiencia cognitiva después de accidente cerebrovascular.

7. Un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 para su uso como en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que dicho modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A se une al subtipo de receptor con $\alpha 5\beta 3\gamma 2$ para GABA A humano con una selectividad de unión de un factor de 10 o más en comparación con las afinidades de unión a los subtipos de receptor con $\alpha 1\beta 2/3\gamma 2$, $\alpha 2\beta 3\gamma 2$ y $\alpha 3\beta 3\gamma 2$ para GABA A humano.

8. Un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 o 7 para su uso como en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que dicho modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A presenta una selectividad funcional actuando como agonista inverso en el subtipo de receptor con $\alpha 5\beta 3\gamma 2$ para GABA A humano reduciendo el efecto de GABA en más de un 30 % y, además, afectando al efecto de GABA en los subtipos de receptor con $\alpha 1\beta 2/3\gamma 2$, $\alpha 2\beta 3\gamma 2$ y $\alpha 3\beta 3\gamma 2$ para GABA A humano en menos de un 15 %.

9. Un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 para su uso como en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que dicho modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A se usa separada, secuencial o simultáneamente en combinación con un segundo compuesto farmacéutico activo.

10. Una composición farmacéutica que comprende un modulador alostérico negativo de $\alpha 5$ para GABA A de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 en una forma farmacéuticamente aceptable para su uso en el tratamiento, prevención y/o retraso de la evolución de deficiencias cognitivas en síndrome de Down, en autismo, en neurofibromatosis de tipo I o después de accidente cerebrovascular.

Figura 1:

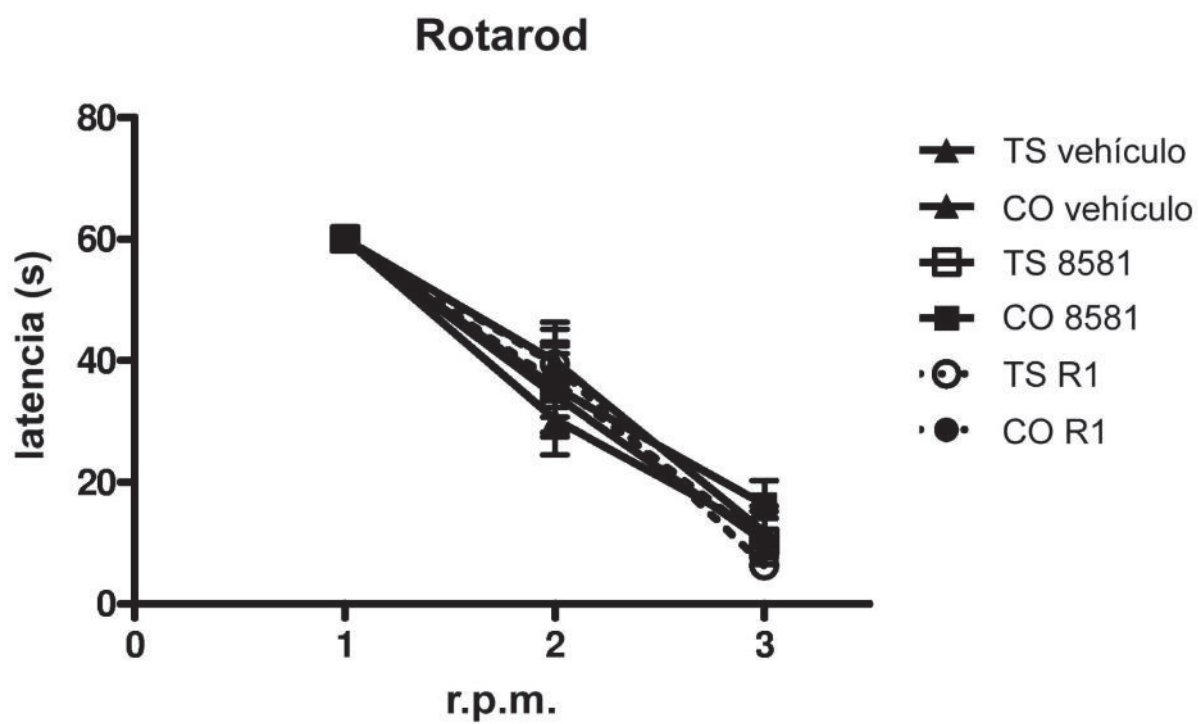


Figura 2:



Figura 3:

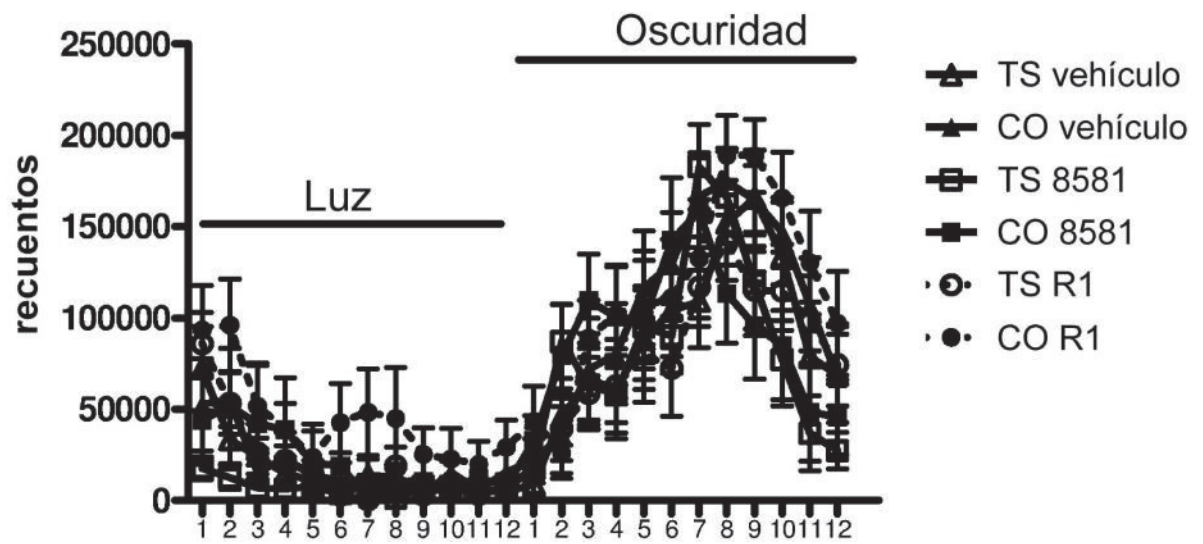


Figura 4:

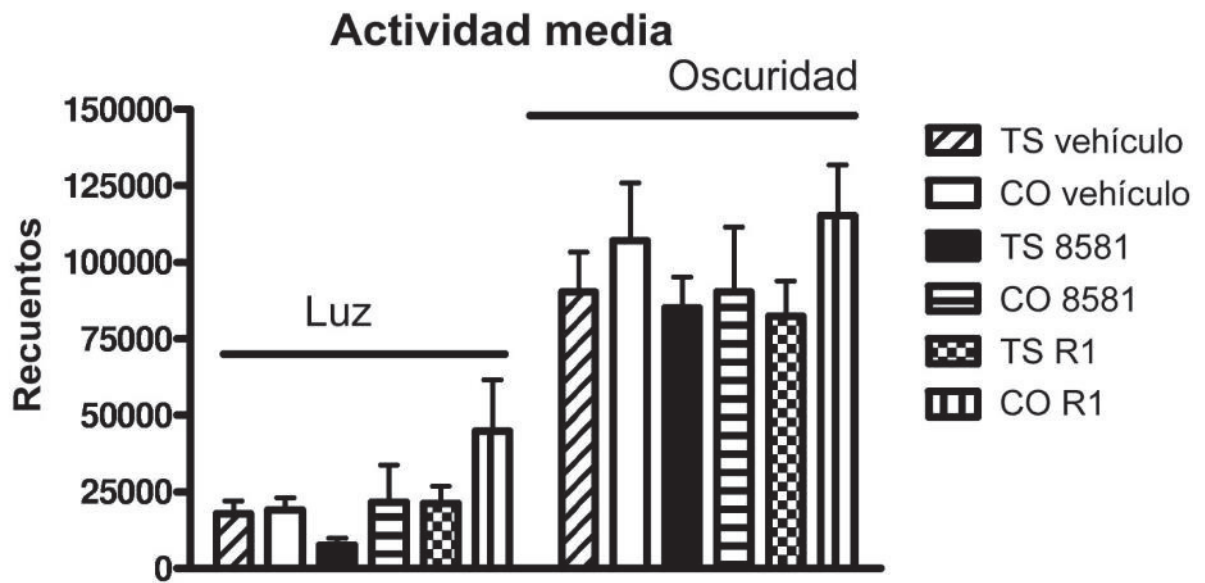


Figura 5:

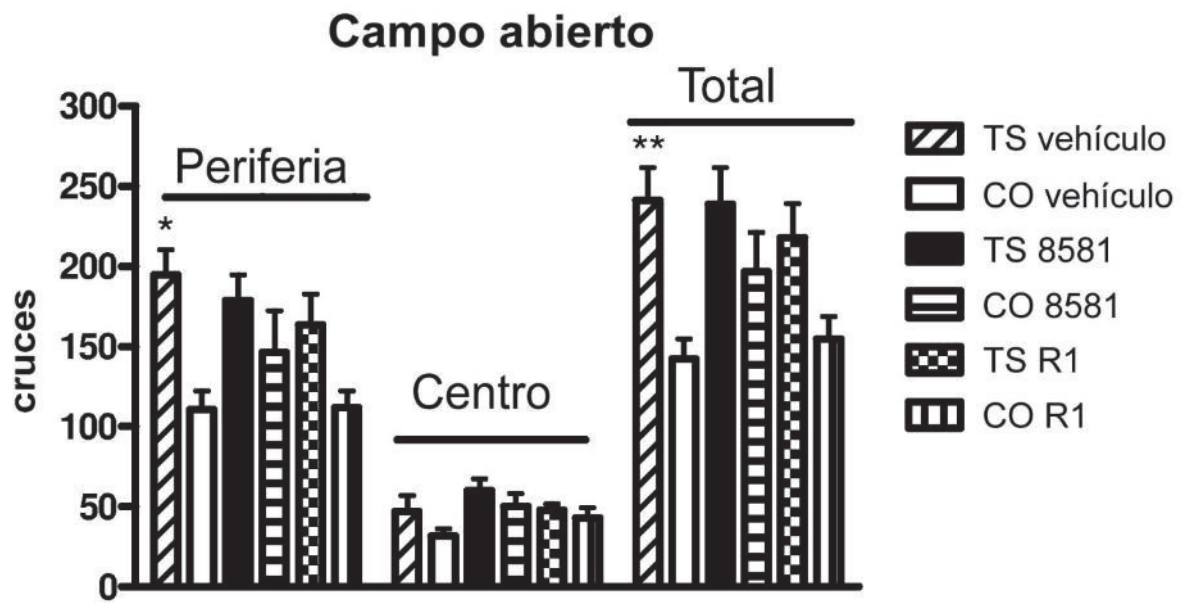


Figura 6:

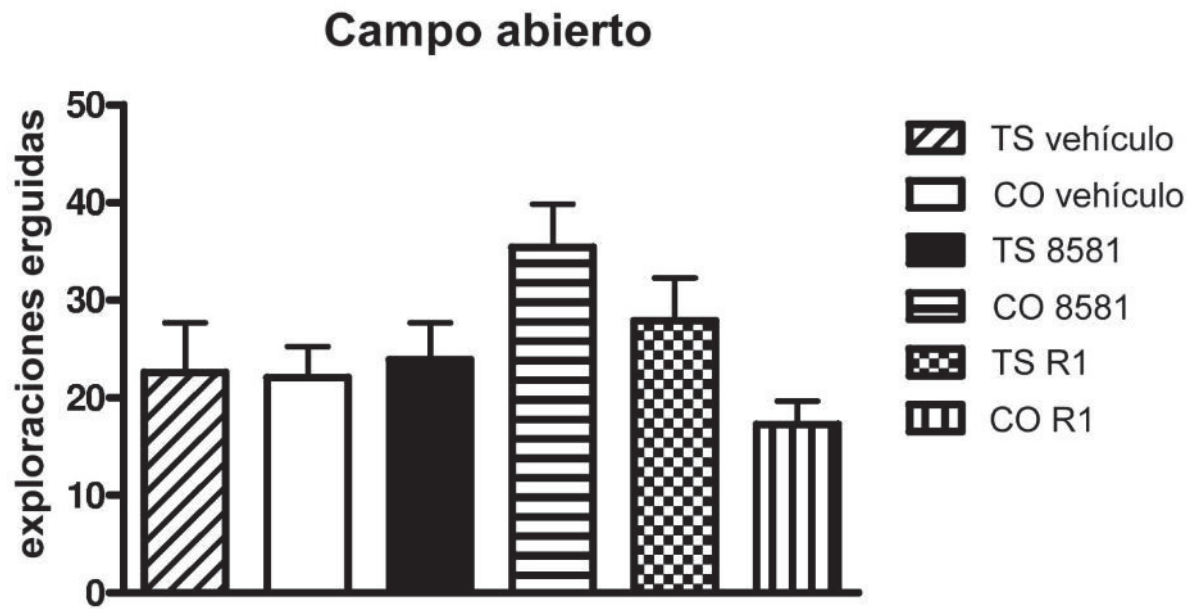


Figura 7:

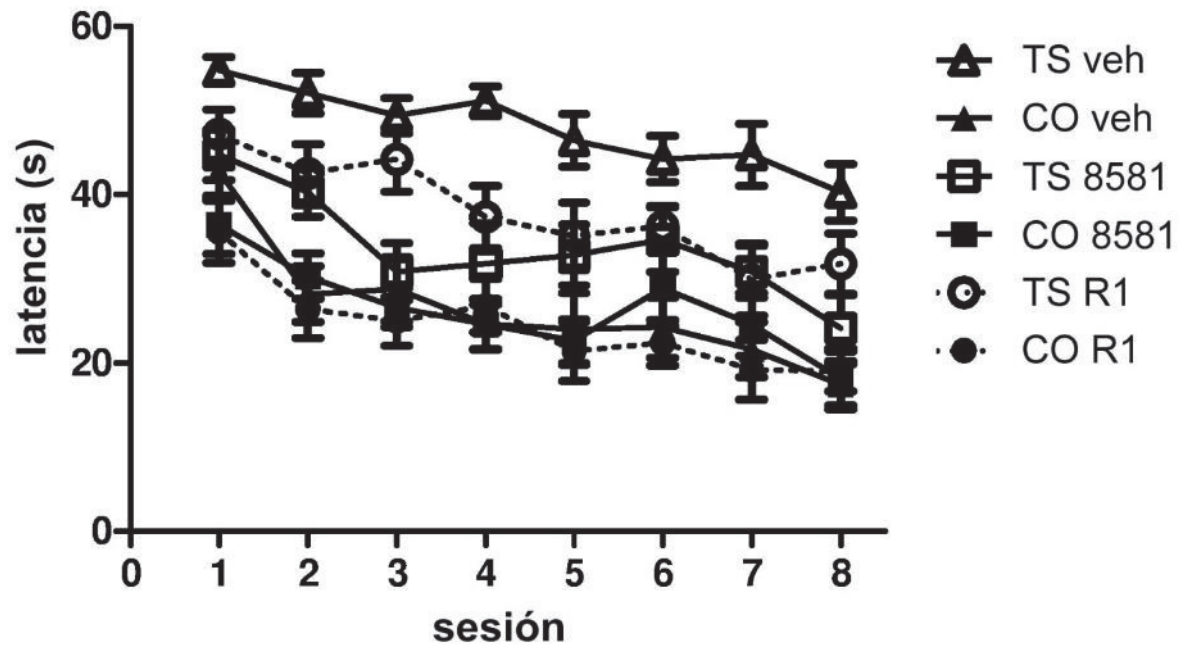


Figura 8:

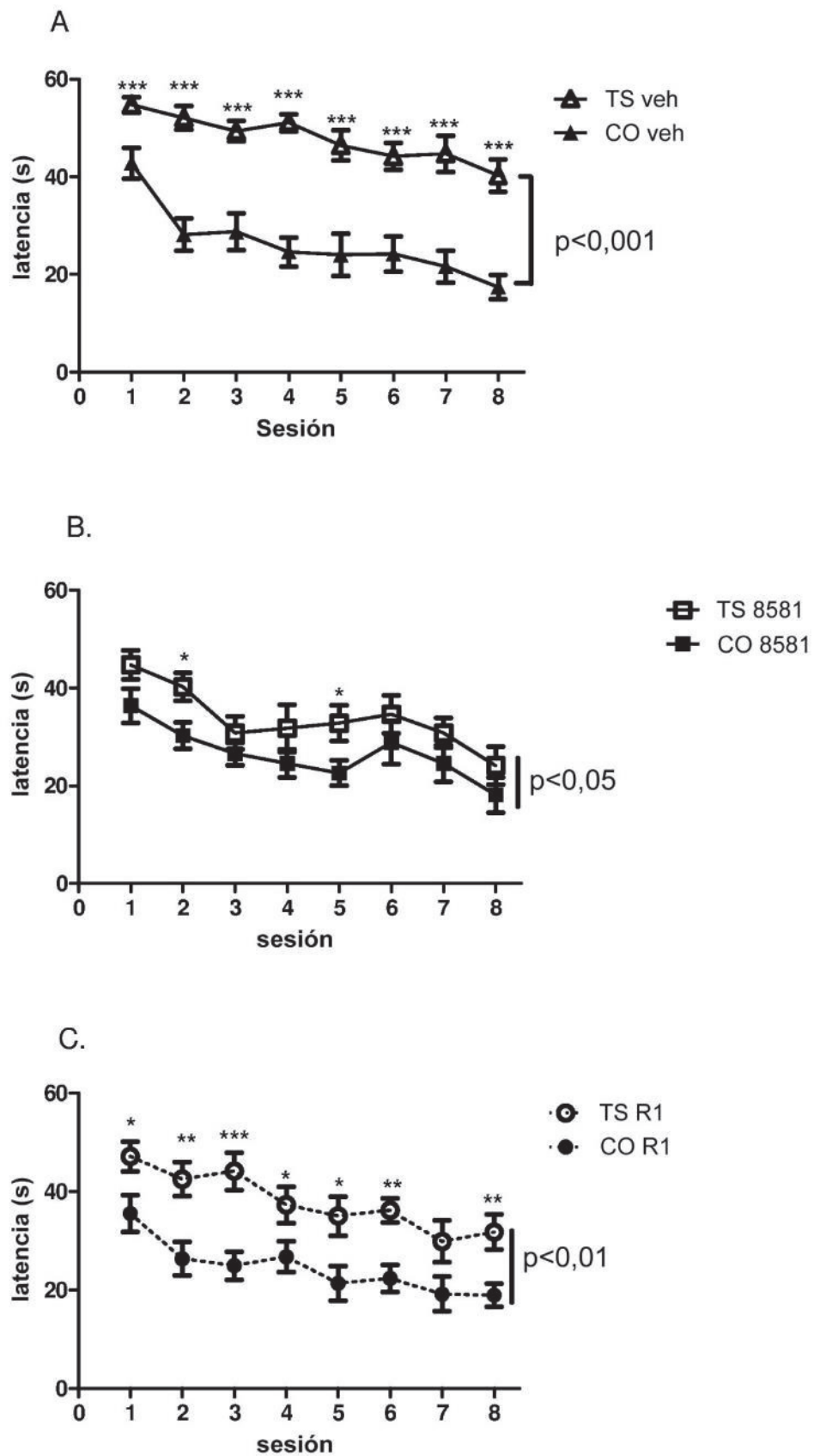


Figura 9:

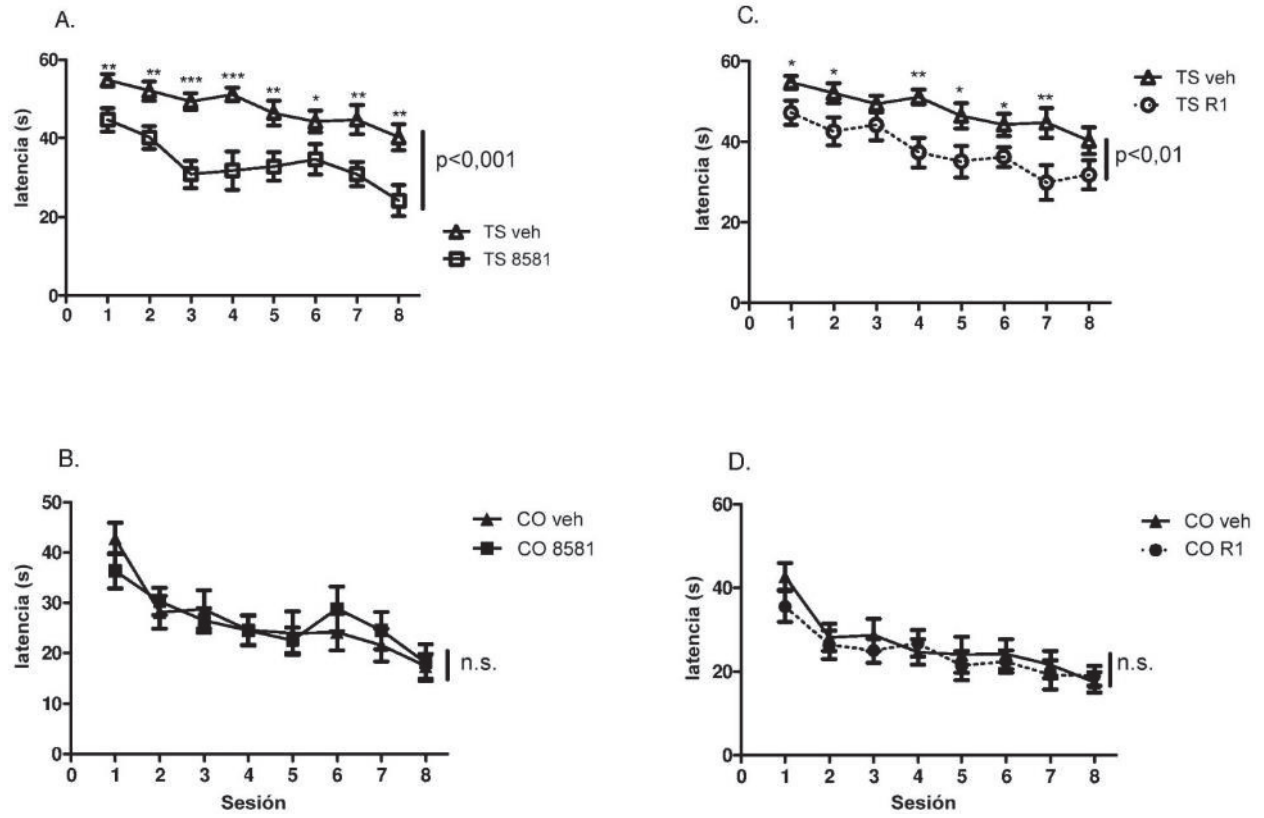


Figura 10:



Figura 11

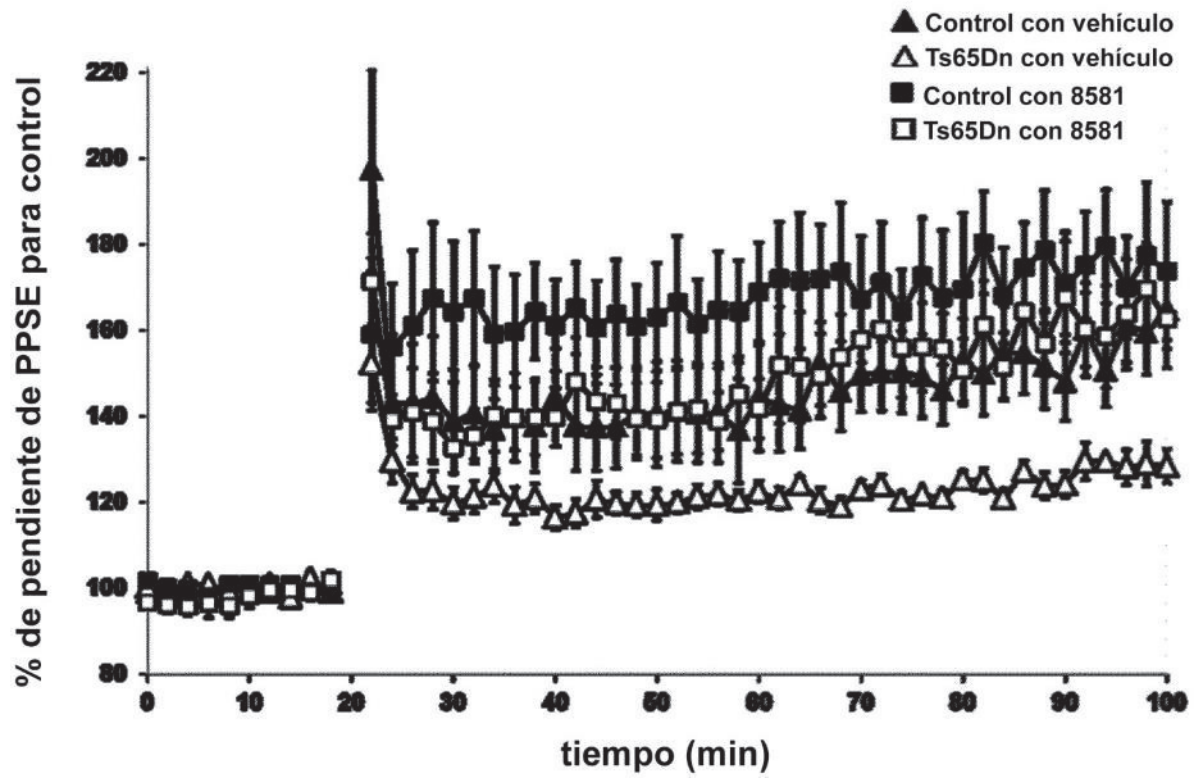


Figura 12

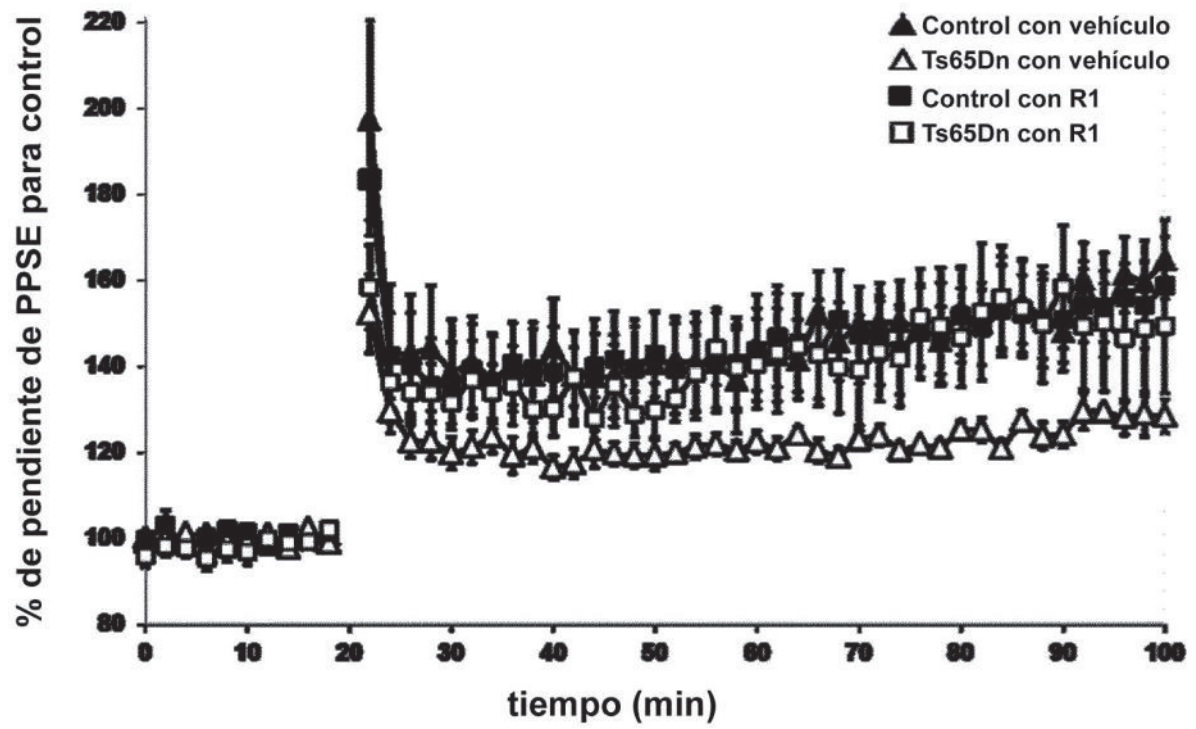


Figura 13.

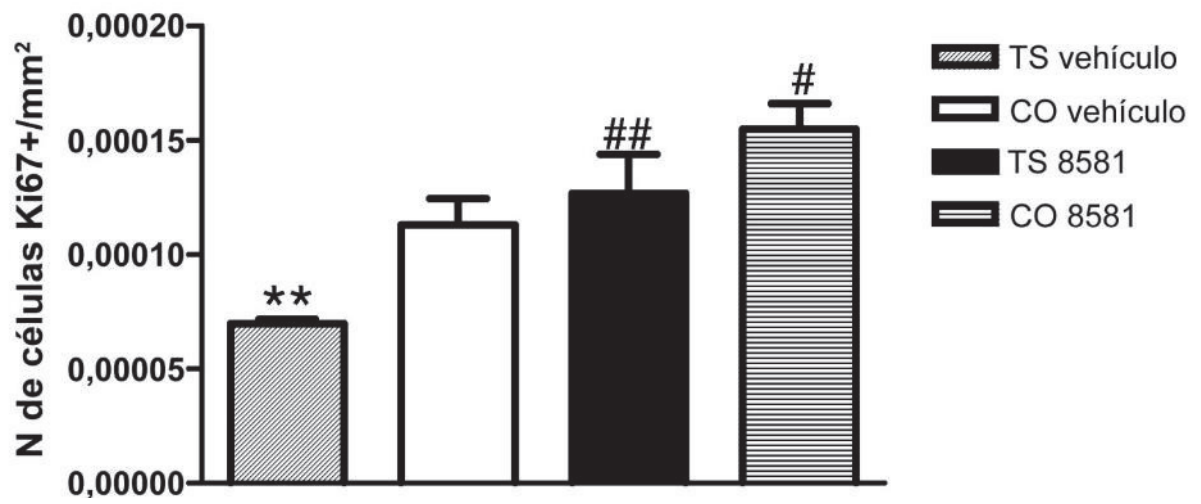
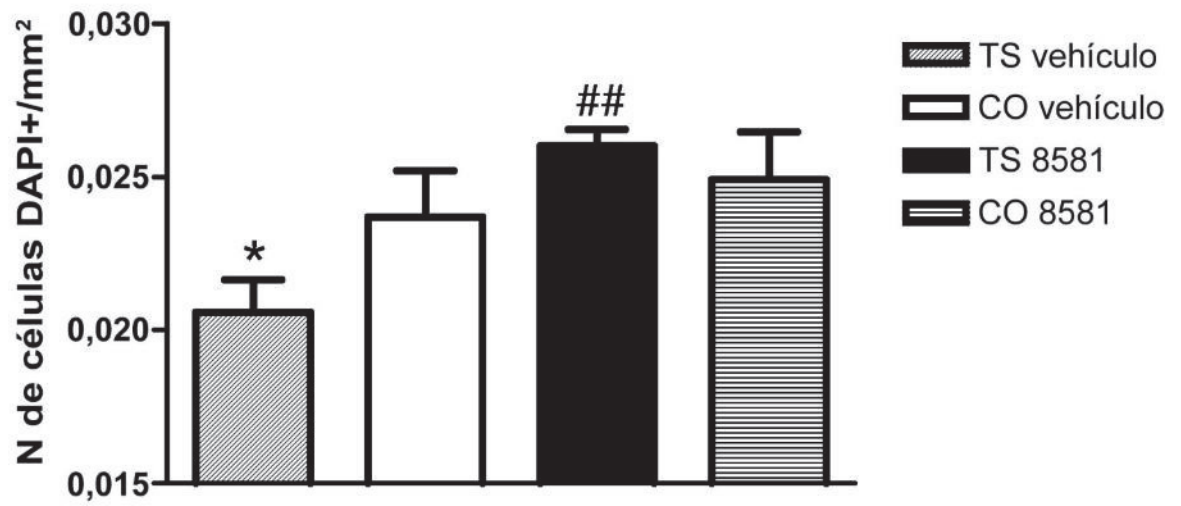


Figura 14.

(A)



5

(B)

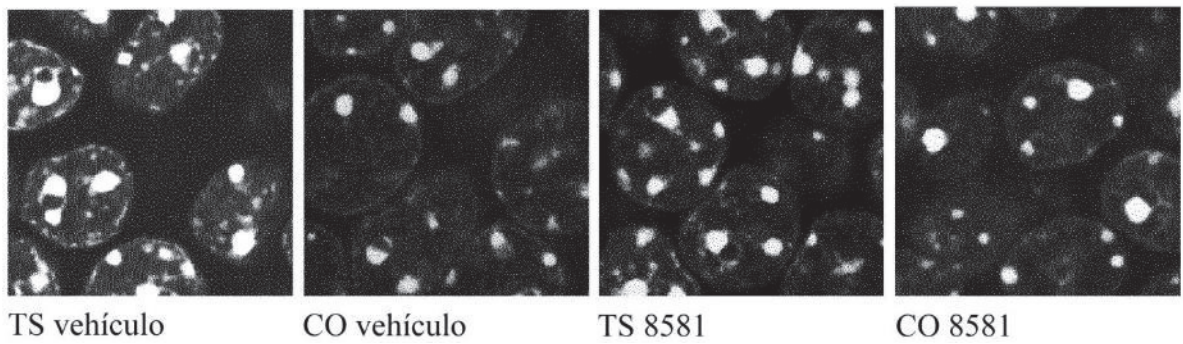
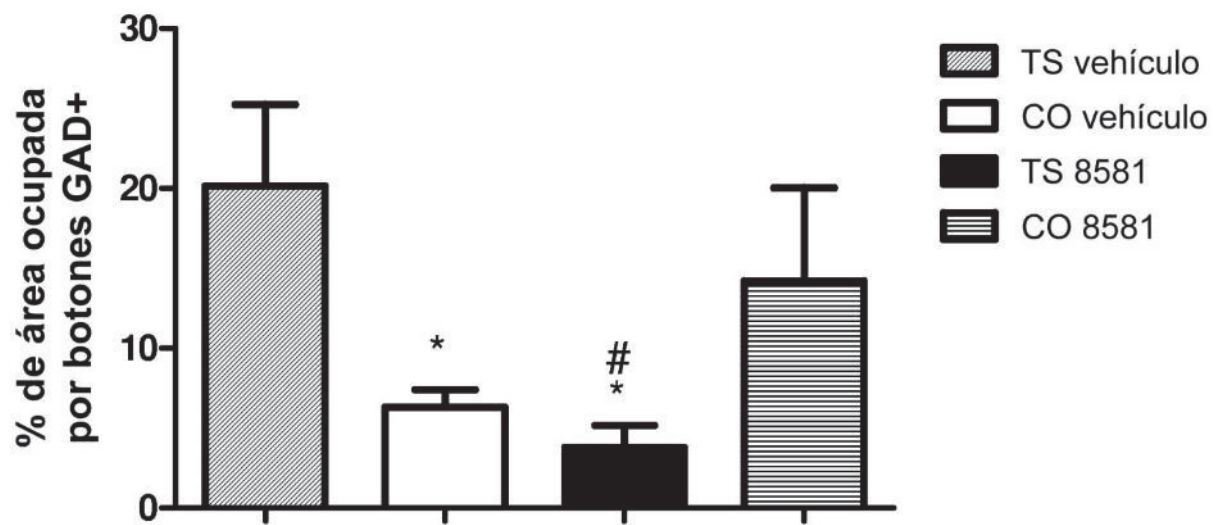


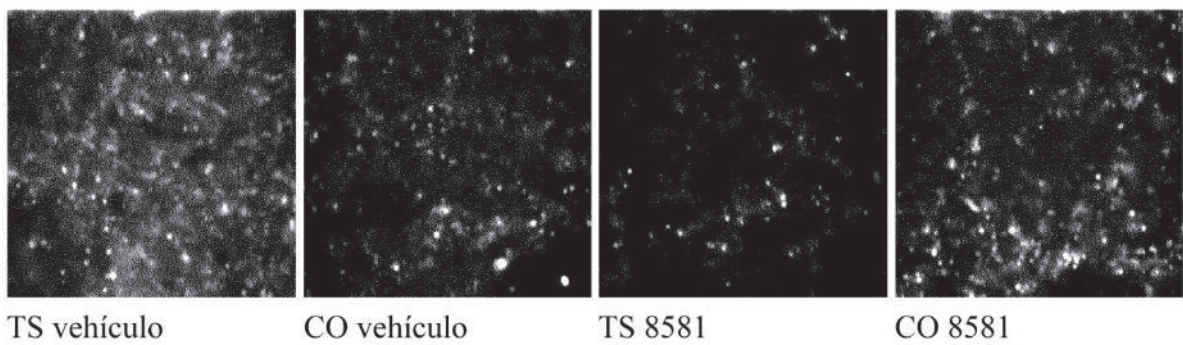
Figura 15.

(A)



5

(B)



TS vehículo

CO vehículo

TS 8581

CO 8581

Figura 16:

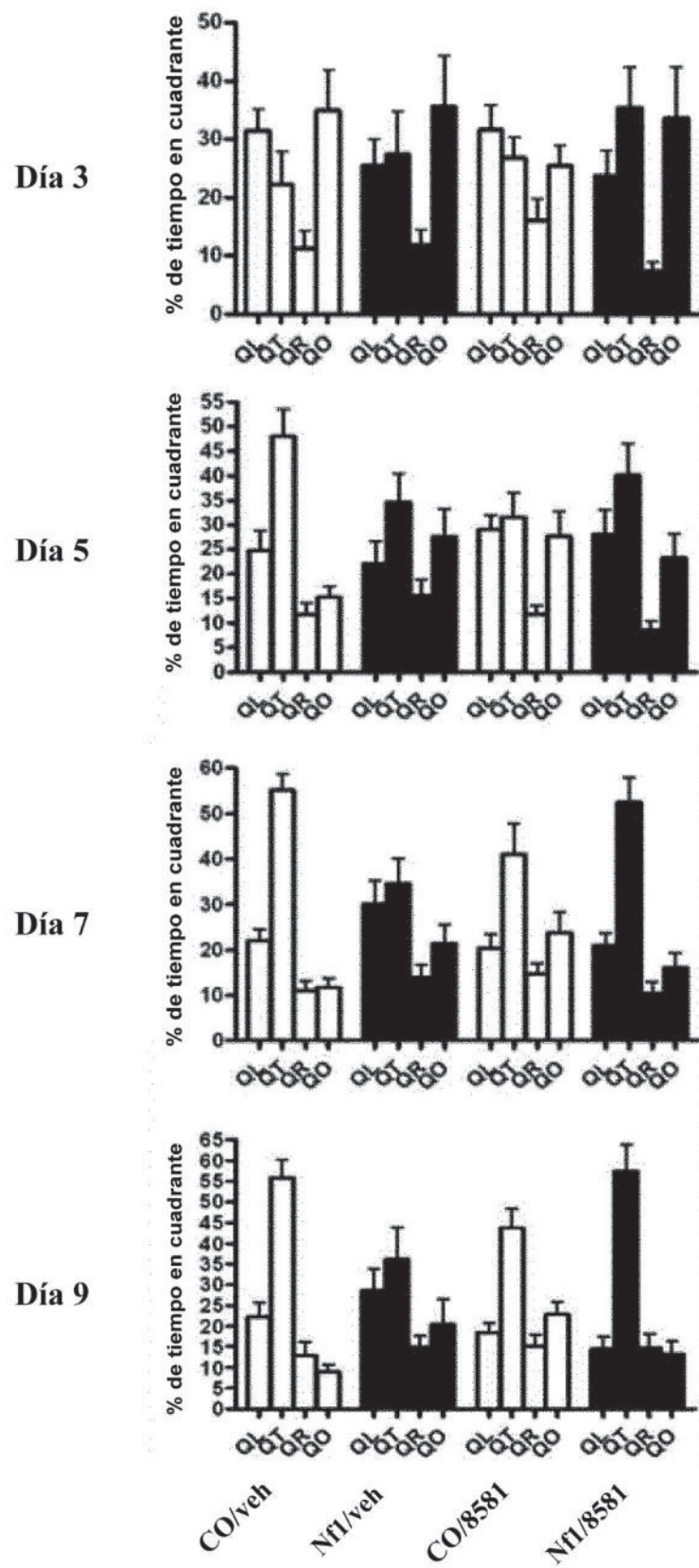


Figura 17:

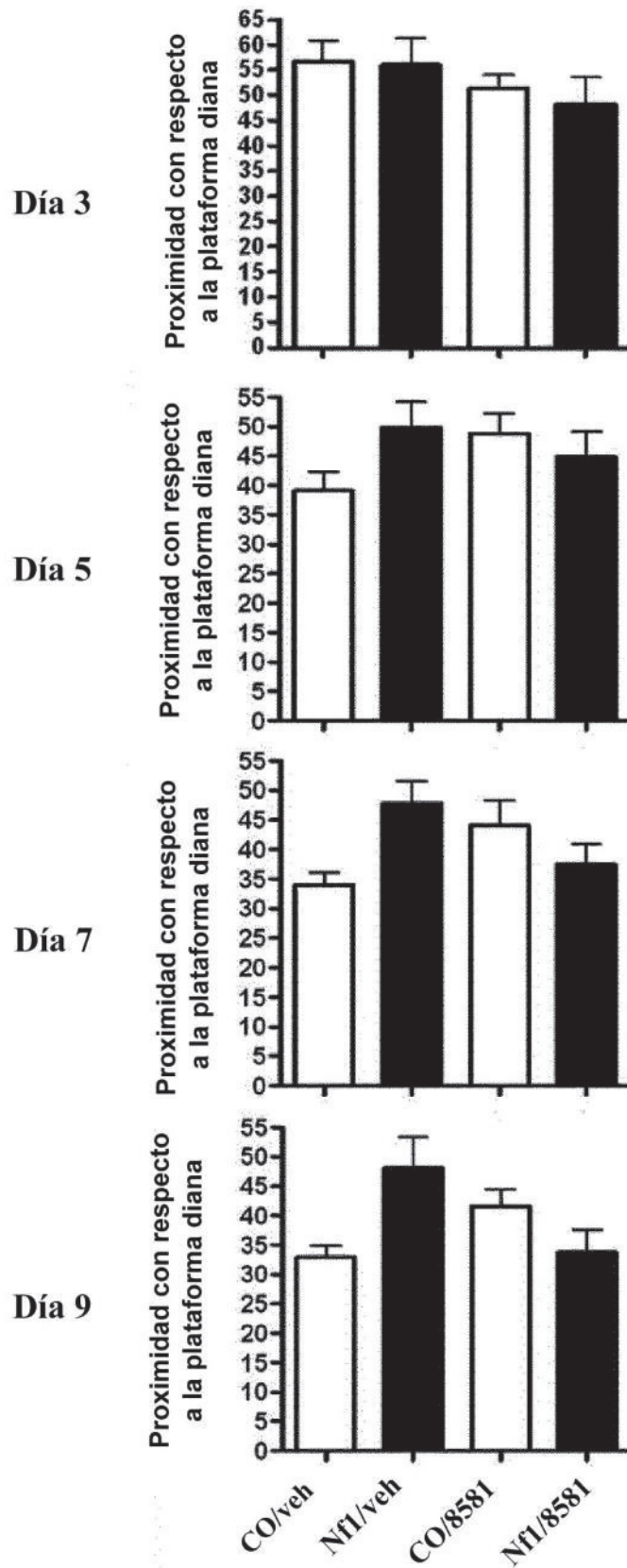
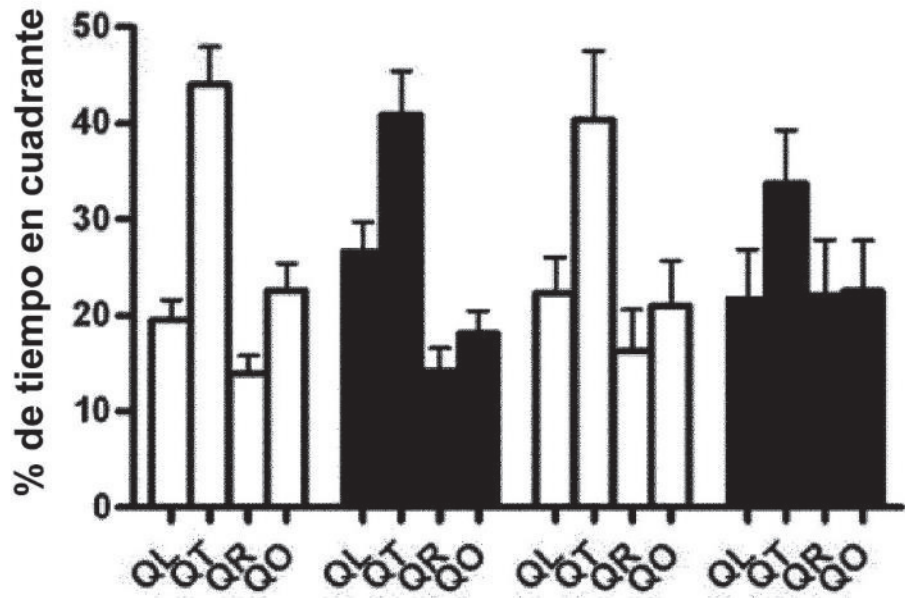
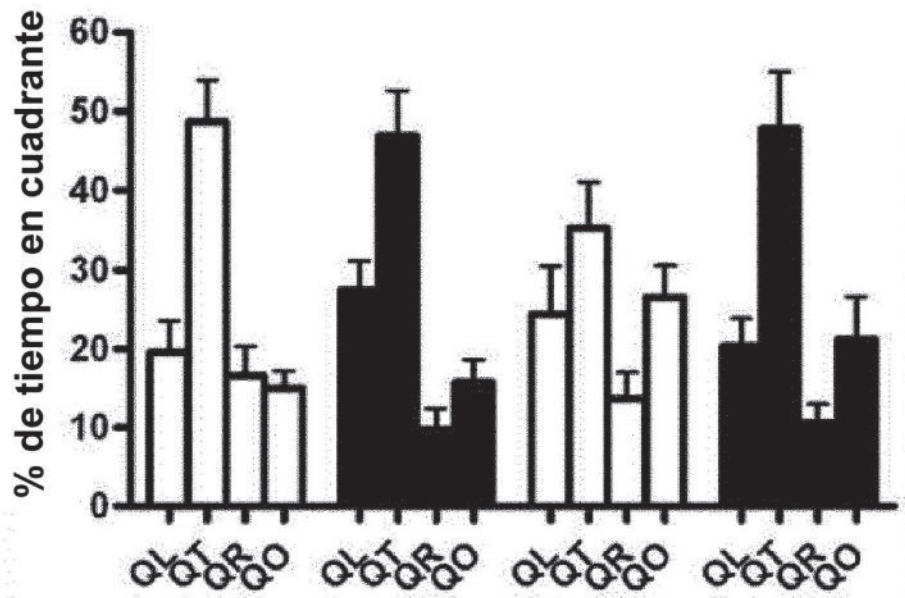


Figura 18:

Día 7



Día 9



CO/veh
Nf1/veh
CO/8581
Nf1/8581

Figura 19:

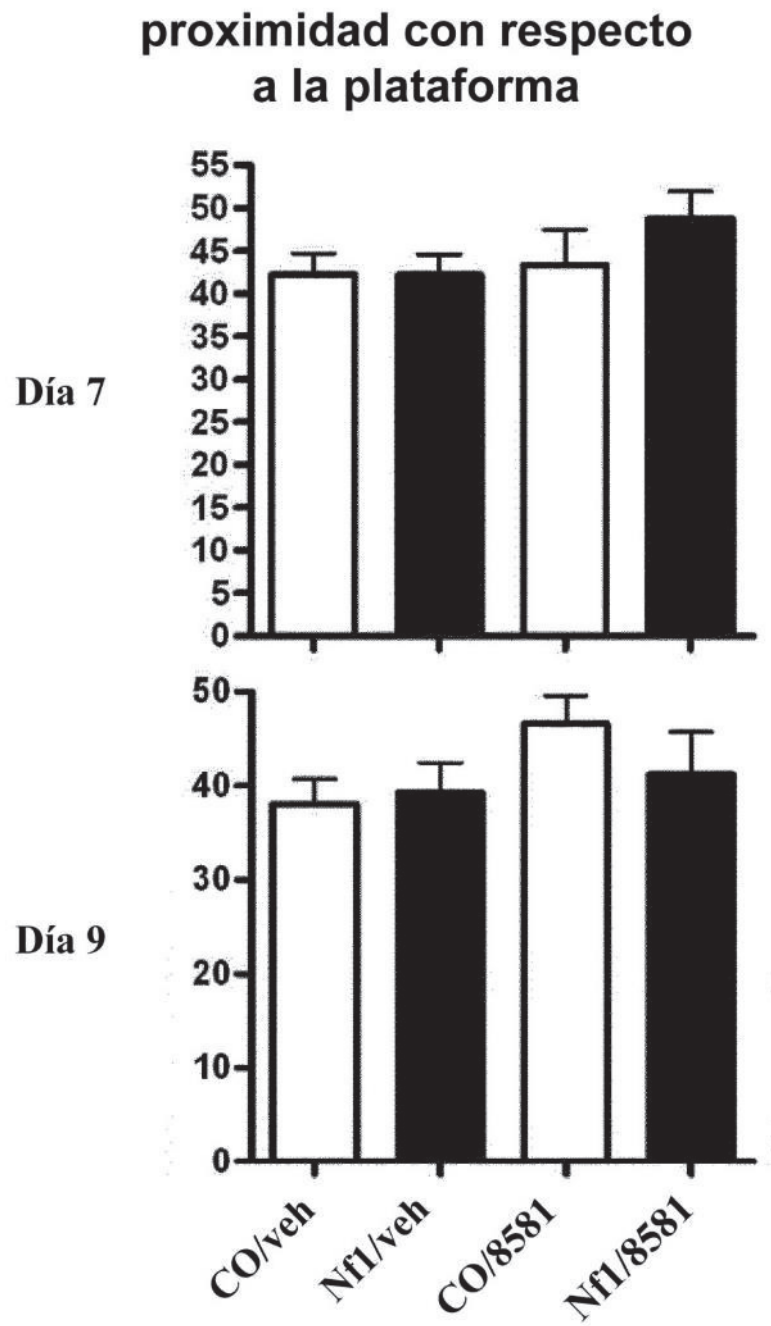


Figura 20:

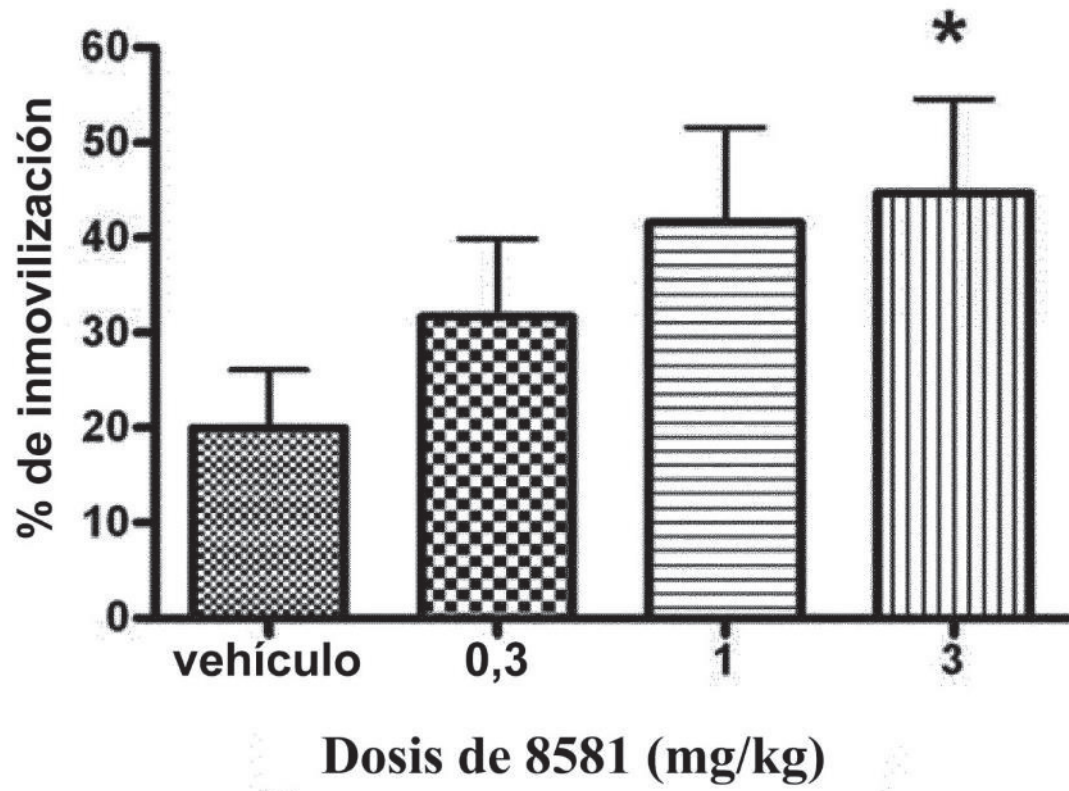


Figura 21:

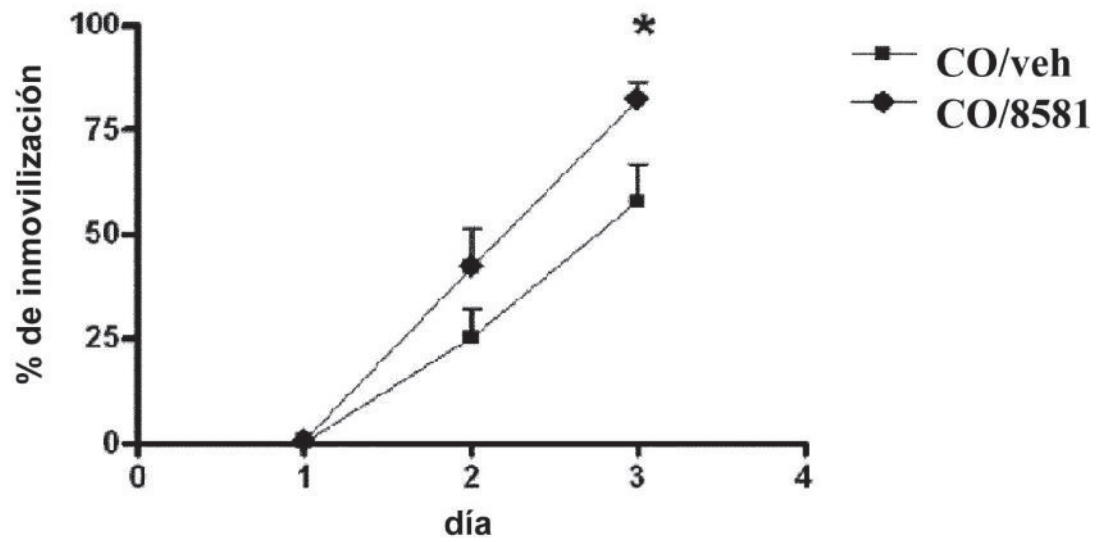


Figura 22:

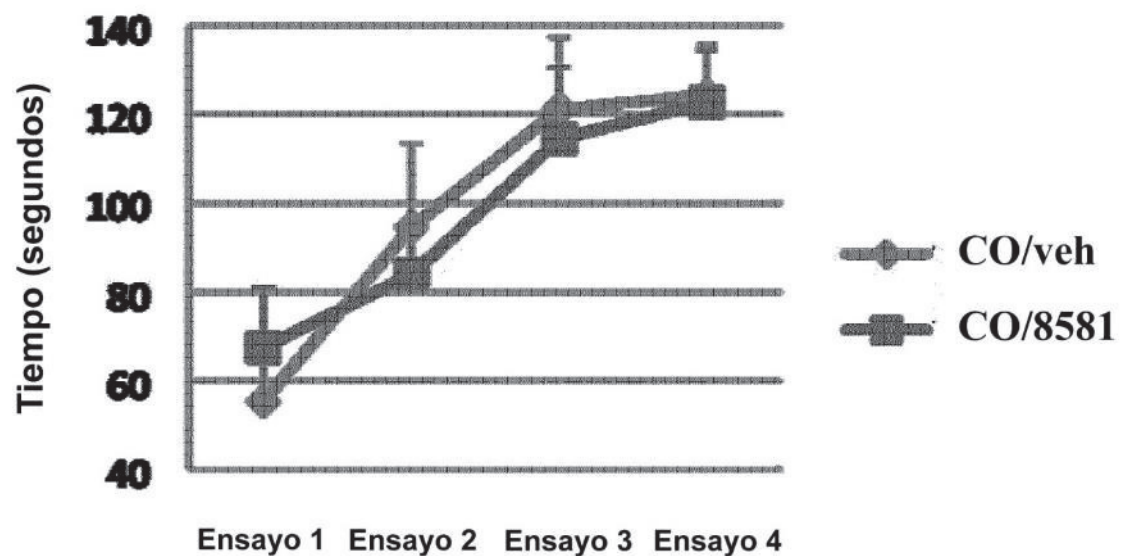


Figura 23:

