



(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 273 008**

(51) Int. Cl.:

C07D 471/04 (2006.01)

A61K 31/437 (2006.01)

A61P 25/00 (2006.01)

G01N 33/566 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

(86) Número de solicitud europea: **03736638 .2**

(86) Fecha de presentación : **15.05.2003**

(87) Número de publicación de la solicitud: **1506194**

(87) Fecha de publicación de la solicitud: **16.02.2005**

(54)

Título: **Derivados de imidazol con anillos fusionados sustituidos: ligandos de receptores GABA sbA/sb.**

(30)

Prioridad: **17.05.2002 US 381302 P**

(73)

Titular/es: **NEUROGEN CORPORATION**
35 N.E. Industrial Road
Branford, Connecticut 06405, US

(45)

Fecha de publicación de la mención BOPI:
01.05.2007

(72)

Inventor/es: **Maynard, George, D.;**
Yuan, Jun;
Luke, George, P. y
Currie, Kevin

(45)

Fecha de la publicación del folleto de la patente:
01.05.2007

(74)

Agente: **Ponti Sales, Adelaida**

ES 2 273 008 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

Derivados de imidazol con anillos fusionados sustituidos: ligandos de receptores GABA sbA/sb.

5 **Campo de la invención**

La presente invención se refiere a derivados de imidazol con anillos fusionados sustituidos. Más específicamente, se refiere a compuestos de imidazolil metil imidazol con anillos fusionados. La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y a la utilización de dichos compuestos en el tratamiento de las enfermedades del sistema nervioso central (SNC).

Referencia cruzadas con solicitudes relacionadas

Esta solicitud reclama la prioridad de la Solicitud Provisional de Estados Unidos 60/381.302, presentada el 17 de mayo del 2002.

Antecedentes de la invención

La superfamilia del receptor GABA_A representa una de las clases de receptores a través de los cuales actúa el neurotransmisor inhibitor principal, ácido γ -aminobutírico, o GABA. Ampliamente, aunque no uniformemente, distribuido a lo largo del cerebro de mamífero, el GABA media en muchas de sus acciones a través de un complejo de proteínas llamado receptor GABA_A, que provoca la alteración en la conductancia de cloro y la polarización de membrana. Además de ser el sitio de acción del neurotransmisor, un conjunto de fármacos que incluyen las benzodiazepinas ansiolíticas y sedantes se unen a este receptor. El receptor GABA_A comprende un canal de cloro que generalmente, pero no invariablemente, se abre en respuesta al GABA, permitiendo que el cloro entre en la célula. Éste, a su vez, realiza una ralentización de la actividad neuronal a través de la hiperpolarización del potencial de la membrana celular.

Los receptores GABA_A están compuestos de cinco subunidades de proteínas. Se han clonado un conjunto de ADNcs para estas subunidades de receptores GABA_A y se han determinado sus estructuras primarias. Aunque estas subunidades comparten un motivo básico de 4 hélices que abarcan la membrana, existe una diversidad de secuencia suficiente para clasificarlas en varios grupos. Hasta ahora, por lo menos se ha identificado las subunidades 6α , 3β , 3γ , 1ϵ , 1δ , y 2ρ . Los receptores GABA_A nativos están habitualmente compuestos de subunidades 2α , 2β y 1γ (Prichett & Seeburg *Science* 1989; 245: 1389-1392, y Knight *et al.*, *Recept. Channels* 1998, 6: 1-18). Varias líneas de evidencia (tales como la distribución del mensaje, la localización del genoma y los resultados de estudios bioquímicos) sugieren que las principales combinaciones de receptores naturales son $\alpha_1\beta_2\beta_2$, $\alpha_2\beta_3\gamma_2$ y $\alpha_3\beta_3\gamma_2$ y $\alpha_5\beta_3\gamma_2$ (Moler *et al.*, *Neuroch. Res* 1995; 20 (5): 631-36).

Los sitios de unión del receptor GABA_A a GABA (2 por complejo receptor) están formados por aminoácidos de las subunidades α y β . Los aminoácidos de las subunidades α y γ juntos forman un sitio de benzodiazepina por receptor. Las benzodiazepinas ejercen sus acciones farmacológicas mediante la interacción con los sitios de unión a benzodiazepina asociados con el receptor GABA_A. Además del sitio de benzodiazepina (a veces denominado como el receptor de benzodiazepina o BDZ), el receptor GABA_A contiene sitios de interacción para varias otras clases de fármacos. Éstas incluyen un sitio de unión a esteroide, un sitio de picrotoxina, y un sitio de barbiturato. El sitio de benzodiazepina del receptor GABA_A es un sitio distinto en el complejo receptor que no se solapa con el sitio de interacción para otras clases de fármacos que se unen al receptor o para GABA (véase, por ejemplo, Cooper *et al.*, *The Biochemical Basis of Neuropharmacology*, 6th ed., 1991, páginas 145-148, Oxford University Press, Nueva York).

En un mecanismo alostérico clásico, la unión de un fármaco al sitio de benzodiazepina aumenta la afinidad del receptor GABA por el GABA. Las benzodiazepinas y los fármacos relacionados que potencian la capacidad del GABA para abrir los canales del receptor GABA_A son conocidos como agonistas o agonistas parciales dependiendo del nivel de potenciación del GABA. Otros tipos de fármacos, tales como derivados de β -carbolina, que ocupan el mismo sitio y modulan negativamente la acción del GABA se denominan agonistas inversos. Existe un tercer tipo de compuestos que ocupan el mismo sitio que los agonistas y agonistas inversos y aún tienen un efecto pequeño o ningún efecto sobre la actividad del GABA. Sin embargo, estos compuestos bloquearán la acción de agonistas o agonistas inversos y se denominan de este modo como antagonistas del receptor GABA_A.

Los importantes efectos moduladores alostéricos de fármacos que actúan en el sitio de benzodiazepina se reconocieron rápidamente y la distribución de las actividades de receptores de diferentes subtipos ha sido un área de intenso descubrimiento farmacológico. Los agonistas que actúan en el sitio de benzodiazepina son conocidos por exhibir efectos ansiolíticos, sedantes e hipnóticos, mientras que los compuestos que actúan como agonistas inversos en este sitio obtienen efectos ansiogénicos, potenciadores de la cognición y proconvulsivos. Aunque las benzodiazepinas han disfrutado de un largo uso farmacéutico como ansiolíticos, estos compuestos son conocidos por exhibir un conjunto de efectos secundarios no deseados. Entre estos se pueden incluir la alteración cognitiva, la sedación, la ataxia, la potenciación de los efectos del alcohol y la tendencia a la tolerancia y dependencia del fármaco.

Los ligandos selectivos de GABA_A también pueden actuar para potenciar los efectos de ciertos otros compuestos activos del SNC. Por ejemplo, existe la evidencia de que los inhibidores de recaptación de serotonina (SSRIs) selectivos pueden mostrar una mayor actividad antidepresiva cuando se utilizan combinados con ligandos selectivos de GABA_A que cuando se utilizan solos.

Los benzamidazoles, piridilimidazoles y compuestos heteroarilo bicíclicos relacionados se describen en WO 02/50062. Los compuestos se unen con una selectividad elevada y una afinidad elevada al sitio de benzodiazepina de los receptores GABA_A. También se describen las composiciones farmacéuticas que comprenden dichos compuestos y la utilización de dichos compuestos en el tratamiento de ciertas enfermedades del sistema nervioso central (SNC). Los procesos para la preparación de compuestos de Fórmula 1 se describen junto con la utilización de benzimidazoles, piridilimidazoles y compuestos heteroarilo bicíclicos relacionados combinados con uno o más de otros agentes del SNC para potenciar los efectos de los otros agentes de SNC. Dichos compuestos son útiles como sondas para la localización de receptores GABA_A en secciones de tejido.

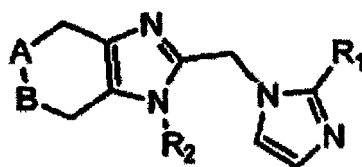
En WO 96/39404 se describen compuestos adicionales. Los compuestos son agonistas, antagonistas o agonistas inversos altamente selectivos para receptores GABA_A del cerebro o profármacos de agonistas, antagonistas o agonistas inversos para receptores GABA_A del cerebro. Estos compuestos son útiles en el diagnóstico y tratamiento de la ansiedad, trastornos del sueño y trastornos convulsivos, sobredosis con fármacos de benzodiazopina y para la potenciación de la memoria.

WO 97/26243 da a conocer compuestos que son agonistas, antagonistas o agonistas inversos altamente selectivos para receptores GABA_A del cerebro. Estos compuestos son útiles en el diagnóstico y tratamiento de la ansiedad, trastornos del sueño y trastornos convulsivos, sobredosis con fármacos de benzodiazopina y para la potenciación de la memoria.

Descripción resumida de la invención

La presente invención proporciona derivados de imidazol con anillos fusionados sustituidos. Los compuestos de la presente invención se unen a receptores GABA_A, incluyendo receptores GABA_A humanos, y actúan como agonistas, antagonistas o agonistas inversos de dichos receptores. Por lo tanto, estos receptores son útiles en el tratamiento de un conjunto de trastornos del SNC. Los compuestos preferentes se unen con una selectividad elevada y/o afinidad elevada a receptores GABA_A.

En un aspecto amplio, la presente invención proporciona compuestos representados por la Fórmula I y sales farmacéuticamente aceptables o profármacos del mismo.



Formula I

En la fórmula I

R₁ representa arilo o heteroarilo de 5 a 10 miembros, cada uno no sustituido o sustituido con 1 a 4 grupos seleccionados independientemente de R₅;

R₂ representa alquilo C₁-C₈, alqueniilo C₂-C₈, alquiniilo C₂-C₈, cicloalquilo C₃-C₁₀ o (cicloalquil C₃-C₁₀)alquilo C₁-C₈, cada uno no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R₅;

o bien:

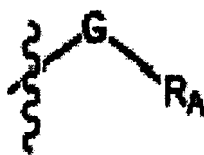
(a) A es CH₂ y B es NR₃ o CR₃R₆; o

(b) B es CH₂ y A es NR₃ o CR₃R₆;

R₃ se selecciona de entre:

(a) hidrógeno, halógeno, nitro y ciano; y

(b) grupos de fórmula:



5

en la que:

10 (i) G es un enlace, alquileo C_1-C_8 , $-NH-$, $-N(R_B)-$, $(R_B)N-$, $-O-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)NR_B-$, $-S(O)_m-$, $-CH_2C(=O)-$, $-S(O)_mNH-$, $-S(O)_mNR_B-$, $-NHC(=O)-$, $-C(=NR_B)-$, $HC=N-$, $-NR_BC(=O)-$, $-NHS(O)_m-$ o $-NR_BS(O)-$;

15 (ii) R_A y R_B se seleccionan independientemente de entre alquilo C_1-C_8 , alqueno C_2-C_8 , alquino C_2-C_8 y carbociclos y heterociclos de 3 a 12 miembros, saturados, parcialmente insaturados y aromáticos que tienen 1 anillo o 2 fusionados, anillos colgantes y/o espiro, donde cada anillo está no sustituido o sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R_5 ; y

(iii) m es 0, 1 ó 2;

20 con la condición de que si A o B son NR_3 , entonces R_3 no es halógeno y G no es $-NH-$, $-N(R_B)-$, $-O-$, $-NHC(=O)-$, $-NR_BC(=O)-$, $-NHS(O)_m$ o $-NR_BS(O)-$;

25 cada R_5 se selecciona independientemente de entre halógeno, hidroxilo, nitro, ciano, amino, alquilo C_1-C_8 , alcoxi C_1-C_8 , mono- y di-(alquil C_1-C_8) amino, cicloalquilo C_3-C_{10} , (cicloalquil C_3-C_{10}) alquilo, (cicloalquil C_3-C_{10}) alcoxi, heterocicloalquilo C_3-C_9 , alqueno C_2-C_8 , alquino C_2-C_8 , halo alquilo (C_1-C_8), halo alcoxi (C_1-C_8), oxo, amino alquilo (C_1-C_8) y mono- y di-(alquil C_1-C_8) amino alquilo C_1-C_8 ; y

R_6 es hidrógeno o alquilo C_2-C_6 .

30 La presente invención proporciona además composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto tal y como se ha descrito anteriormente combinado con un portador, disolvente o excipiente farmacéuticamente aceptable. También se proporcionan preparaciones farmacéuticas envasadas que comprenden dicha composición farmacéutica en un recipiente e instrucciones para utilizar la composición para tratar un paciente que padece un trastorno del SNC, tal como ansiedad, depresión, trastorno del sueño, trastorno del déficit de atención o la demencia de Alzheimer, o para mejorar la memoria a corto plazo.

35 Los compuestos de la presente invención son útiles en procedimientos para el tratamiento de pacientes que padecen ciertos trastornos de SNC (tal como ansiedad, depresión, trastorno del sueño, trastorno del déficit de atención o la demencia de Alzheimer), que comprenden la administración a un paciente que necesita dicho tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto tal y como se ha descrito anteriormente. El paciente puede ser un humano u otro mamífero. La presente invención abarca el tratamiento de humanos, animales de compañía domesticados (animales domésticos) o animales de ganado que padecen ciertos trastornos del SNC con una cantidad eficaz de un compuesto de la invención.

45 También son útiles en procedimientos para aumentar la memoria a corto plazo en un paciente, que comprende la administración a un paciente que necesita dicho tratamiento de una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto tal y como se ha descrito anteriormente. El paciente puede ser un humano u otro mamífero.

50 Los compuestos también son útiles en procedimientos para potenciar un efecto terapéutico de un agente de SNC que comprende la administración a un paciente de un agente de SNC y un compuesto tal y como se ha descrito anteriormente.

55 También se proporcionan procedimientos para determinar la presencia o ausencia de receptor $GABA_A$ en una muestra (por ejemplo, una sección de tejido) que comprenden las etapas de: (a) poner en contacto una muestra con un compuesto tal y como se ha descrito anteriormente en condiciones que permiten la unión del compuesto a receptor $GABA_A$; y (b) detectar un nivel de compuesto unido a receptor $GABA_A$.

60 Los compuestos de la presente invención son además útiles en procedimientos para alterar la actividad de transducción de la señal de receptor $GABA_A$, que comprende poner en contacto una célula que expresa el receptor $GABA_A$ con un compuesto tal y como se ha descrito anteriormente en una cantidad suficiente para alterar de forma detectable la electrofisiología de la célula.

Estos y otros aspectos de la presente invención serán evidentes tras la referencia a la siguiente descripción detallada.

65 Descripción detallada de la invención

Tal y como se ha indicado anteriormente, la presente invención proporciona derivados de imidazol con anillos fusionados sustituidos que se unen (preferiblemente con una afinidad elevada y/o selectividad elevada) a receptor

GABA_A, incluyendo receptor GABA_A humano. Sin desear unirse a ninguna teoría particular, se cree que la interacción de los compuestos proporcionados en la presente invención con el sitio de benzodiazepina da lugar a la actividad biológica de estos compuestos. Los compuestos proporcionados en la presente invención se pueden utilizar en un conjunto de contextos *in vivo* e *in vitro*, tal y como se ha describe con mayor detalle a continuación.

Definiciones

Los compuestos de la presente invención se describen generalmente utilizando nomenclatura estándar. La referencia a la estructura de un compuesto comprende generalmente sales de adición, hidratos y profármacos acilados de la estructura indicada. Los compuestos de la presente invención descritos pueden tener uno más centros o planos asimétricos. Muchos isómeros geométricos de olefinas, dobles enlaces C=N, y similares también pueden estar presentes en los compuestos descritos en la presente invención, y todos dichos isómeros estables se consideran en la presente invención. Se describen los isómeros geométricos *cis* y *trans* de los compuestos de la presente invención y se pueden aislar como una mezcla de isómeros o como formas isoméricas separadas. Se engloban todas las formas quirales y racémicas (enantioméricas y diastereoméricas), así como las formas isoméricas geométricas de una estructura, a menos que se indique específicamente una estequiometría o una forma isomérica específica.

En la presente invención se describen ciertos compuestos que utilizan una fórmula general que incluye variables. A menos que se especifique lo contrario, cada variable dentro de dicha fórmula se define independientemente de todas las otras variables, y cualquier variable que aparece más de una vez en una fórmula se define independientemente en cada situación. De este modo, por ejemplo, si un grupo se describe por estar sustituido con 0-2R*, entonces el grupo puede estar no sustituido o sustituido con hasta dos grupos R* y la definición de cualquier R* se selecciona independientemente de la definición de cualquier otro R*. Además, será evidente que las combinaciones de sustituyentes y/o variables son admisibles sólo si dichas combinaciones dan lugar a compuestos estables.

Cuando cualquier grupo, tal como un grupo arilo, grupo heteroarilo, carbociclo o heterociclo, se dice que está “sustituido por uno o más sustituyentes”, ese grupo puede contener de 1 hasta el número máximo de sustituyentes posibles sin sobrepasar la valencia de los átomos del grupo sustituido. En ciertas realizaciones, dichos grupos están sustituidos con 1 a 4 sustituyentes o de 1 a 3 sustituyentes. En realizaciones adicionales, dichos grupos no están sustituidos o están sustituidos con un sustituyente oxo. Un grupo “opcionalmente sustituido” puede estar no sustituido o sustituido con 1 hasta el número máximo de sustituyentes indicados.

Tal y como se utiliza en la presente invención, “alquilo” se refiere a grupos de hidrocarburos de cadena lineal o ramificada. Entre los grupos alquilo se incluyen alquilo C₁-C₈ (es decir grupos alquilo que tienen de 1 a 8 átomos de carbono), tales como alquilo C₁-C₆ y alquilo C₁-C₄. Entre los ejemplos de alquilo se incluyen, pero no se limitan a, metilo, etilo, n-propilo, i-propilo, n-butilo, s-butilo, t-butilo, n-pentilo, isopentilo, s-pentilo, hexilo, 2-hexilo, 3-hexilo y 5-metilpentilo. Un grupo alquilo puede estar unido a un átomo en una molécula de interés a través de cualquier parte químicamente adecuada del grupo alquilo.

El término “cicloalquilo” pretende incluir grupos anulares saturados que tienen el número especificado de átomos de carbono, tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo o cicloheptilo. Los grupos cicloalquilo C₃-C₁₀ tienen de 3 a 10 miembros en el anillo; ciertos grupos cicloalquilo tienen de 4 a 8 o de 5 a 7 miembros en el anillo.

“Heterocicloalquilo” se refiere a grupos anulares saturados que comprenden por lo menos un heteroátomo (es decir, N, S u O) con carbono en el resto de miembros del anillo. Los grupos heterocicloalquilo contienen habitualmente de 3 a 10, de 4 a 8 o de 5 a 7 miembros en el anillo. Los grupos heterocicloalquilo contienen habitualmente 1, 2 ó 3 heteroátomos; preferiblemente no más de un átomo de S y un átomo de O están presentes en un grupo heterocicloalquilo. Entre los grupos heterocicloalquilo se incluyen, por ejemplo, morfolinilo, piperidinilo, piperazinilo, tiomorfolinilo, y pirrolidinilo.

En el término “(cicloalquil) alquilo” o (cicloalquil C₃-C₁₀) alquilo C₁-C₈, cicloalquilo y alquilo son tal y como se han definido anteriormente y el punto de unión está en el grupo alquilo. Este término comprende, pero no se limita a, ciclopropilmetilo, ciclobutilmetilo, ciclopentilmetilo, ciclohexilmetilo y cicloheptilmetilo. “(Heterocicloalquil) alquilo” se refiere a dichos grupos que comprenden por lo menos un heteroátomo en el anillo, tal y como se ha descrito anteriormente.

Tal y como se utiliza en la presente invención, “alcoxi” representa un grupo alquilo tal y como se ha definido anteriormente unido a través de un oxígeno puente. Ciertos grupos alcoxi tienen de 1 a 8 átomos de carbono (es decir, alcoxi C₁-C₈), 1 a 6 átomos de carbono (alcoxi C₁-C₆) o 1 a 4 átomos de carbono (alcoxi C₁-C₄). Entre los ejemplos de alcoxi se incluyen, pero no se limitan a, metoxi, etoxi, n-propoxi, i-propoxi, n-butoxi, 2-butoxi, t-butoxi, n-pentoxi, 2-pentoxi, 3-pentoxi, isopentoxi, neopentoxi, n-hexoxi, 2-hexoxi, 3-hexoxi y 3-metilpentoxi.

“Alquenilo” pretende incluir cadenas de hidrocarburos de configuración lineal o ramificada que comprenden uno o más enlaces carbono-carbono insaturados que pueden aparecer en cualquier punto estable a lo largo de la cadena, tales como etenilo y propenilo. Los grupos alquenilo habitualmente tienen de 2 a aproximadamente 8 átomos de carbono, más habitualmente de 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono. Un “punto estable” está unido de manera que, cuando está insaturado, da lugar a un compuesto químicamente estable (es decir, un compuesto que se puede aislar, caracterizar y ensayar su actividad biológica).

“Alquinilo” pretende incluir cadenas de hidrocarburos de configuración lineal o ramificada que comprenden uno o más triples enlaces carbono-carbono que pueden aparecer en cualquier punto estable a lo largo de la cadena, tales como etinilo y propinilo. Los grupos alquinilo habitualmente tienen de 2 a aproximadamente 8 átomos de carbono, más habitualmente de 2 a aproximadamente 6 átomos de carbono.

5

Un “carbociclo” es un grupo que comprende por lo menos un anillo formado completamente por enlaces carbono-carbono (denominado en la presente invención como anillo carbocíclico). A menos que se especifique lo contrario, dicho anillo puede ser aromático o no aromático. Un carbociclo generalmente tiene de 1 a 3 anillos carbocíclicos fusionados o colgantes, preferiblemente un anillo o dos anillos carbocíclicos fusionados. Habitualmente, cada anillo contiene de 3 a 8 (preferiblemente de 5 a 7) miembros en el anillo; los carbociclos que comprenden sistemas anulares fusionados o colgantes contienen habitualmente de 9 a 12 miembros en el anillo. Ciertos carbociclos son grupos cicloalquilo saturados, tal y como se han descrito anteriormente. Otros carbociclos están “parcialmente saturados” (es decir, comprende uno o más dobles o triples enlaces en el anillo, pero no son aromáticos) o grupos arilo (es decir, grupos aromáticos que tienen 1 o más anillos, en los que todos los miembros del anillo o anillos aromáticos son carbono). Entre los grupos arilo preferidos se incluyen grupos de 5 a 10 miembros (es decir, anillos únicos de 5 a 7 miembros o grupos bicíclicos de 7 a 10 miembros), tales como fenilo y naftilo. Los grupos “arilalquilo” (en los que arilo y alquilo son tal y como ha definido anteriormente y el punto de unión está en el grupo alquilo) también se comprenden en el término “carbociclo”. Entre dichos grupos se incluyen, pero no se limitan a, bencilo y fenetilo. Los átomos de carbono presentes en un anillo carbociclo pueden naturalmente unirse adicionalmente a un conjunto de sustituyentes de anillo, tales como (pero sin limitarse a) hidrógeno, un halógeno, hidroxilo, nitró, ciano, amino, alquilo C₁-C₈, alcoxi C₁-C₈, mono- y di(alquil C₁-C₈) amino, cicloalquilo C₃-C₁₀, (cicloalquil C₃-C₁₀) alquilo, (cicloalquil C₃-C₁₀) alcoxi, heterocicloalquilo C₂-C₉, alquenilo C₁-C₈, alquinilo C₁-C₈, halo alquilo (C₁-C₈), halo alcoxi (C₁-C₈), oxo, amino (C₁-C₈) alquilo y mono- y di (alquil C₁-C₈) amino alquilo C₁-C₈.

Un “heterociclo” es un grupo que comprende por lo menos un anillo en el que por lo menos un átomo del anillo es un heteroátomo (es decir, N, O o S) y el resto de los átomos del anillo son carbono. Dicho anillo se denomina como anillo heterocíclico. Preferiblemente, un anillo heterocíclico comprende 1-4 heteroátomos; en ciertas realizaciones se prefieren 1 ó 2 heteroátomos. Un heterociclo tiene generalmente de 1 a 3 anillos fusionados o colgantes (por lo menos uno de los cuales es heterocíclico), preferiblemente un anillo o dos anillos fusionados. Habitualmente, cada anillo contiene de 3 a 8 miembros en el anillo (preferiblemente de 5 a 7 miembros en el anillo); heterociclos que comprenden anillos fusionados o colgantes contienen habitualmente de 9 a 12 miembros en el anillo. Se prefieren grupos heterocíclicos de 3 a 10 miembros que contienen 1 anillo heterocíclico o 2 anillos fusionados (por lo menos uno de los cuales es heterocíclico; para un total de 3 a 10 miembros en el anillo). Los heterociclos se pueden sustituir opcionalmente con uno o más sustituyentes tal y como se ha descrito anteriormente para carbociclos. A menos que se especifique lo contrario, un heterociclo puede estar saturado (es decir, heterocicloalquilo, tal y como se ha descrito anteriormente), parcialmente saturado o aromático (heteroarilo). Tal y como se utiliza en la presente invención, por el término “heteroarilo” se entiende anillos aromáticos monocíclicos de 5 a 7 miembros y bicíclicos de 7 a 10 miembros, que consisten en átomos de carbono y de 1 a 4 heteroátomos en el anillo seleccionados independientemente del grupo que consiste en N, O y S. Se prefiere que el número total de átomos de S y O en el grupo heteroarilo, es decir, en el sistema anular, no es superior a 1. En el término “heteroarilalquilo”, heteroarilo y alquilo son tal y como se han definido anteriormente y el punto de unión al sistema parental está en el grupo alquilo.

Entre los ejemplos de grupos heteroarilo se incluyen, pero no se limitan a, pirimidinilo, piridilo, quinolinilo, benzo-tienilo, indolilo, piridazinilo, pirazinilo, isoindolilo, isoquinolilo, quinazolinilo, quinoxalinilo, ftalazinilo, imidazolilo, isoxazolilo, pirazolilo, oxazolilo, tienilo, tiazolilo, indolizínilo, indazolilo, benzotiazolilo, benzimidazolilo, benzofuranilo, benzoisoxolilo, dihidrobenzodioxinilo, furanilo, pirrolilo, oxadiazolilo, tiadiazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxazopiridinilo, imidazopiridinilo, isotiazolilo, naftiridinilo, cinnolinilo, carbazolilo, beta-carbolinilo, isocromanilo, cromanonilo, cromanilo, tetrahidroisoquinolinilo, isoindolinilo, isobenzotetrahidrofuranilo, isobenzotetrahidrotienilo, isobenzotienilo, benzoxazolilo, piridopiridinilo, benzotetrahidrofuranilo, benzotetrahidrotienilo, purinilo, benzodioxolilo, triazinilo, fenoxazinilo, fenotiazinilo, pteridinilo, benzotiazolilo, imidazopiridinilo, imidazotiazolilo, dihidrobenzisoxazinilo, benzisoxazinilo, benzoxazinilo, dihidrobenzisotiazinilo, benzopirranilo, benzotipirranilo, coumarinilo, isocoumarinilo, cromanilo, tetrahidroquinolinilo, dihidroquinolinilo, dihidroquinolinonilo, dihidroisoquinolinonilo, dihidrocoumarinilo, dihidroisocoumarinilo, isoindolinonilo, benzodioxanilo, benzoxazolinonilo, pirrolil N-óxido, pirimidinil N-óxido, piridazinil N-óxido, pirazinil N-óxido, quinolinil N-óxido, indolil N-óxido, indolinil N-óxido, isoquinolil N-óxido, quinazolinil N-óxido, quinoxalinil N-óxido, ftalazinil N-óxido, imidazolil N-óxido, isoxazolil N-óxido, oxazolil N-óxido, tiazolil N-óxido, indolizínil N-óxido, indazolil N-óxido, benzotiazolil N-óxido, benzimidazolil N-óxido, pirrolil N-óxido, oxadiazolil N-óxido, tiadiazolil N-óxido, triazolil N-óxido, tetrazolil N-óxido, benzotipirranil S-óxido, y benzotipirranil S,S-dióxido. Los grupos heteroarilo se incluyen, por ejemplo, imidazolilo, pirrolilo, piridilo, tiazolilo, pirazolilo, tiazolilo, isoxazolilo, triazolilo, tetrazolilo, oxadiazolilo, pirimidinilo y oxazolilo.

60

El término “halógeno” incluye flúor, bromo, cloro y yodo.

Tal y como se utiliza en la presente invención, “haloalquilo” se refiere a grupos alquilo que están sustituidos con 1 o más halógenos (por ejemplo -C_vF_w, donde v es un número entero de 1 a 3 y w es un número entero de 1 a (2v + 1)). Entre los ejemplos de grupos haloalquilo se incluyen, pero no se limitan a, mono-, di- y tri-fluorometilo; mono-, di- y tri-clorometilo; mono-, di-, tri-, tetra- y pentafluoroetilo; y mono-, di-, tri-, tetra- y pentacloroetilo. Los grupos “halo alquilo C₁-C₈” tienen de 1 a 8 átomos de carbono. Los grupos haloalquilo preferidos tienen de 1 a 4 átomos de carbono.

65

El término “haloalquilo” se refiere a un grupo haloalquilo, tal y como se ha definido anteriormente, unido a través de un oxígeno puente. Los grupos “halo alcoxi C₁-C₈” tienen de 1 a 8 átomos de carbono. Entre los ejemplos de grupos haloalquilo se incluyen, pero no se limitan a, mono-, di- y tri-fluorometoxi. Los grupos haloalcoxi preferidos tienen de 1 a 4 átomos de carbono.

El término “oxo”, tal y como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo ceto (C=O). Un grupo oxo que es un sustituyente de un anillo no aromático da lugar a una conversión de -CH₂- a -C(=O)-. Será evidente que la introducción de un sustituyente oxo en un anillo aromático destruye la aromaticidad.

Un “sustituyente”, tal y como se utiliza en la presente invención, se refiere a un grupo molecular que está covalentemente unido a un átomo de una molécula de interés. Por ejemplo, un “sustituyente de anillo” puede ser un grupo, tal como un halógeno, un grupo alquilo, un grupo alcoxi, un grupo haloalquilo u otro grupo tal y como se describe en la presente que está covalentemente unido a un átomo (preferiblemente un átomo de carbono o nitrógeno) que es un miembro del anillo. El término “sustitución” se refiere a la sustitución de un átomo de hidrógeno en una estructura molecular por un sustituyente tal y como se ha descrito anteriormente, de manera que no se supera la valencia en el átomo designado, y de manera que a partir de la sustitución se obtiene un compuesto químicamente estable (es decir, un compuesto que se puede aislar, caracterizar, y ensayar su actividad biológica). Entre los sustituyentes representativos se incluyen, pero no se limitan a, halógeno, hidroxilo, nitro, ciano, amino, alquilo C₁-C₈, alcoxi C₁-C₈, mono- y di (alquil C₁-C₈) amino, cicloalquilo C₃-C₁₀, (cicloalquil C₃-C₁₀) alquilo, (cicloalquil C₃-C₁₀) alcoxi, heterocicloalquilo C₂-C₉, alquenilo C₁-C₈, alquinilo C₁-C₈, halo alquilo (C₁-C₈), halo alcoxi (C₁-C₈), oxo, amino (C₁-C₈) alquilo y mono- y di (alquil C₁-C₈) amino alquilo C₁-C₈.

Un guión “-” que no está entre dos letras o símbolos se utiliza para indicar un punto de unión para un sustituyente. Por ejemplo, -CONH₂- se une al sistema parental a través del átomo de carbono.

El término “receptor GABA_A” se refiere a un complejo de proteínas que se une de forma detectable al GABA y media en una alteración dependiente de la dosis en la conductancia de cloruros y polarización de membrana. Generalmente se prefieren receptores que comprenden subunidades de receptor GABA_A naturales humanas (especialmente de humano o rata), aunque la subunidades se pueden modificar con la condición de que ninguna modificación inhiba sustancialmente la capacidad del receptor de unirse al GABA (es decir, se mantiene por lo menos un 50% de afinidad de unión del receptor al GABA). La afinidad de unión de un receptor GABA_A candidato a GABA se puede evaluar utilizando un ensayo de unión de ligando estándar tal y como se proporciona en la presente invención. Será evidente que existe una variedad de subtipos de receptor GABA_A que están dentro del alcance del término “receptor GABA_A”. Entre estos subtipos se incluyen, pero no se limitan a, subtipos de receptor $\alpha_2\beta_3\gamma_2$, $\alpha_3\beta_3\gamma_2$, $\alpha_5\beta_3\gamma_2$ y $\alpha_1\beta_2\gamma_2$. Los receptores GABA_A se pueden obtener de una variedad de fuentes, tales como preparaciones de córtex de rata o de células que expresan receptores GABA_A humanos clonados. Los subtipos particulares se pueden preparar fácilmente utilizando técnicas estándar (por ejemplo, introduciendo ARNm que codificaba las subunidades deseadas en una célula huésped, tal y como se describe en la presente).

Un “profármaco” es un compuesto que puede que no cumpla todas las condiciones estructurales de los compuestos proporcionados de la presente invención, pero se modifica *in vivo*, tras la administración a un paciente, para producir un compuesto activo de la presente invención. Por ejemplo, un profármaco puede ser un derivado acilado de un compuesto tal y como se proporciona en la presente. Entre los profármacos se incluyen compuestos en los que grupos hidroxilo, amina o sulfhidrilo están unidos a cualquier grupo que, cuando se suministran a un sujeto mamífero, se dividen para formar un grupo hidroxilo, amino o sulfhidrilo libre, respectivamente. Entre los ejemplos de profármacos se incluyen, pero no se limitan a, derivados de acetato, formiato y benzoato de grupos funcionales de alcohol y amina en los compuestos proporcionados en la presente invención.

Un “paciente” es cualquier individuo tratado con un compuesto proporcionado en la presente invención. Entre los pacientes se incluyen humanos, así como otros animales, tales como animales de compañía y ganado. Los pacientes pueden estar afectados de un trastorno del SNC o pueden estar libres de dicha condición (es decir, el tratamiento puede ser profiláctico).

Un “trastorno del SNC” es una enfermedad o condición del sistema nervioso central que es sensible a la modulación del receptor GABA_A en el paciente. Entre dichos trastornos se incluyen trastornos de ansiedad (por ejemplo, trastorno de pánico, trastorno compulsivo obsesivo, agorafobia, fobia social, fobia específica, distimia, trastornos de adaptación, ansiedad por separación, ciclotimia y trastorno de ansiedad generalizado), trastornos por estrés (por ejemplo, trastorno por estrés post-traumático, trastorno de estrés agudo por ansiedad anticipatoria y trastorno de estrés agudo), trastornos depresivos (por ejemplo, depresión, depresión atípica, trastorno bipolar y fase depresiva del trastorno bipolar), trastornos del sueño (por ejemplo, insomnio primario, trastorno de sueño del ritmo circadiano, disomnia NOS, parasomnias que incluyen trastorno por pesadillas, trastorno por terror en el sueño, trastornos del sueño secundarios a la depresión, ansiedad y/u otros trastornos mentales y trastorno del sueño inducido por sustancias), trastornos cognitivos (por ejemplo, discapacidad cognitiva leve (MCI), declive cognitivo relacionado con la edad (ARCD), daño cerebral traumático, Síndrome de Down, enfermedades neurodegenerativas, tal como enfermedad de Alzheimer y enfermedad de Parkinson y apoplejía), demencia asociada al SIDA, demencia asociada con la depresión, ansiedad o psicosis, trastornos del déficit de atención (por ejemplo, trastorno del déficit de atención y trastorno del déficit de atención e hiperactividad), trastornos convulsivos (por ejemplo, epilepsia), sobredosis de benzodiazepina y adicción al alcohol y drogas.

Un “agente de SNC” es cualquier fármaco utilizado para tratar o prevenir un trastorno de SNC. Entre los agentes de SNC se incluyen, por ejemplo: agonistas y antagonistas de receptor de serotonina (por ejemplo, 5-HT_{1A}) y inhibidores de recaptación de serotonina (SSRIs) selectivos; antagonistas de receptor de neuroquinina; antagonistas del receptor del factor liberador de corticotropina (CRF₁); agonistas del receptor de melatonina; agonistas nicotínicos; agentes muscarínicos; inhibidores de acetilcolinesterasa y agonistas de receptor de dopamina.

Los compuestos preferidos de la presente invención se unen con una selectividad elevada y afinidad elevada a receptores GABA_A.

Se dice que un compuesto tiene una “afinidad elevada” si la K_i en un receptor GABA_A es inferior a 1 micromolar, preferiblemente inferior a 100 nanomolar o inferior a 10 nanomolar. En el Ejemplo 3 de la presente invención se proporciona un ensayo representativo para determinar la K_i en un receptor GABA_A. Será evidente que la K_i puede depender del subtipo de receptor utilizado en el ensayo. En otras palabras, un compuesto de afinidad elevada puede ser de “subtipo específico” (es decir, la K_i es por lo menos 10 veces superior para un subtipo que para otro subtipo). Se dice que dichos compuestos tienen una afinidad elevada para el receptor GABA_A si la K_i para por lo menos un subtipo de receptor GABA_A cumple los criterios anteriores.

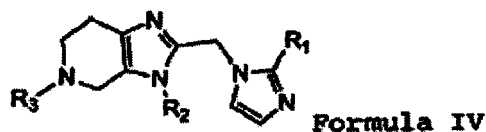
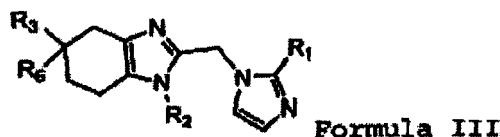
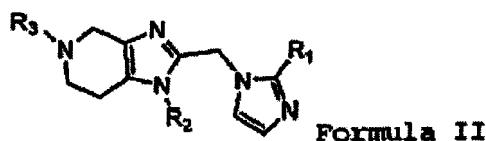
Se dice que un compuesto tiene una “selectividad elevada” si se une a un receptor GABA_A con una K_i que es por lo menos 10 veces inferior, preferiblemente por lo menos 100 veces inferior, que la K_i para unirse a otros receptores unidos a la membrana. En particular, el compuesto debería tener una K_i que es por lo menos 10 veces superiores en los siguientes receptores que en un receptor GABA_A: serotonina, dopamina, galanina, VR1, C5a, MCH, NPY, CRF, bradiquinina, NK-1, NK-3 y taquiquinina. Los ensayos para determinar la K_i en otros receptores se pueden realizar utilizando protocolos de ensayo de unión estándar.

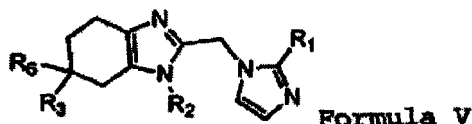
Los compuestos preferidos de Fórmula I son aquellos en los que R₁ es un anillo aromático de 5 ó 6 miembros, no sustituidos o sustituidos con 1 a 4 grupos seleccionados independientemente de R₅. Entre los grupos representativos tales como R₁ se incluyen fenilo, piridilo, pirimidilo y tiazolilo, no sustituidos o sustituidos con 1 a 3 grupos seleccionados independientemente de entre halógeno, alquilo C₁-C₆, halo alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆ y halo alcoxi C₁-C₆. Por ejemplo, los grupos R₁ pueden comprender uno o dos sustituyentes halógenos (por ejemplo, flúor).

R₂ en la Fórmula I es, en ciertas realizaciones, alquilo C₁-C₆ o halo alquilo C₁-C₆. Por ejemplo, R₂ puede ser alquilo C₁-C₄, (por ejemplo, etilo o propilo).

En ciertas realizaciones, R₃ en la fórmula I se selecciona de entre hidrógeno, halógeno, alquilo C₁-C₆, alcoxi C₁-C₆, halo alquilo C₁-C₆, y carbociclos y heterociclos aromáticos de 5 a 7 miembros que están no sustituidos o sustituidos con 1 a 3 entre grupos halógeno, nitro, ciano, trifluorometilo o metilo. Entre dichos grupos R₃ se incluyen, por ejemplo, alquilo C₁-C₄ (tal como metilo, etilo y propilo), así como fenilo, piridilo o pirimidilo, no sustituidos o sustituidos con 1 a 2 de entre grupos halógeno, nitro, ciano, trifluorometilo o metilo.

Ciertos compuestos proporcionados en la presente invención cumplen las Fórmulas II, III, IV o V, en las que las posiciones variables se definen tal y como se indica a continuación:





5

En ciertas realizaciones de fórmulas II-V, R_1 es un arilo (tal como fenilo o naftilo) o heteroarilo de 5 ó 6 miembros (por ejemplo, piridilo, pirimidilo o tiazolilo), en el que cada uno está opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R_5 . Entre los grupos R_5 preferidos se incluyen halógeno, alquilo C_1-C_6 , halo alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 y halo alcoxi C_1-C_6 .

10

En otro aspecto, R_1 puede ser piridilo, pirimidilo o tiazolilo, cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con uno o dos halógenos.

15

R_2 , en ciertas realizaciones de las Fórmulas II-V, es alquilo C_1-C_6 o halo alquilo C_1-C_6 . Más preferiblemente, R_2 es alquilo C_1-C_4 .

20

R_3 , en ciertas realizaciones de las Fórmulas II-V, es hidrógeno, halógeno, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , halo alquilo C_1-C_6 , o un carbociclo aromático (por ejemplo, fenilo) o un heterociclo aromático de 5 a 7 miembros (por ejemplo, piridilo o pirimidilo), cada uno de los cuales está opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes elegidos independientemente de entre halógeno, nitro, ciano, trifluorometilo o metilo.

25

En ciertas realizaciones de la Fórmula II o IV, R_3 no es un grupo halógeno, o ciano, nitro, alcoxi o amino; los grupos R_3 en dichas realizaciones incluyen, por ejemplo, hidrógeno y metilo.

30

En otro aspecto, la presente invención proporciona compuestos de Fórmulas II-V, en los que

35

cada R_5 se selecciona independientemente de entre halógeno, hidroxilo, nitro, ciano, amino, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , mono- y di-(alquil C_1-C_6) amino, cicloalquilo C_3-C_7 , (cicloalquil C_3-C_7) alquilo C_1-C_4 , (cicloalquil C_3-C_7) alcoxi C_1-C_4 , heterocicloalquilo C_5-C_6 , alquenilo C_2-C_6 , alquinilo C_2-C_6 , halo alquilo (C_1-C_4), halo alcoxi (C_2-C_4), oxo, amino alquilo (C_1-C_6) y mono- y di-(alquil C_1-C_6) amino alquilo C_1-C_6 ; y

40

R_6 es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 .

45

En un aspecto más preferido, R_5 y R_6 son tal y como se han definido inmediatamente arriba y

50

R_1 es un arilo (tal como fenilo o naftilo) o heteroarilo de 5 ó 6 miembros (por ejemplo, piridilo, pirimidilo o tiazolilo), en el que cada uno está opcionalmente sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R_5 .

55

Aún más preferiblemente, R_5 , R_6 y R_1 son tal y como se han definido inmediatamente arriba y

60

R_2 es alquilo C_1-C_6 o halo alquilo C_1-C_4 . Estos compuestos se denominarán a partir de ahora como compuestos de fórmulas IIa-Va. Los compuestos más preferidos de fórmulas IIa-Va son compuestos en los que R_2 es alquilo C_1-C_4 . Incluso más preferiblemente, R_2 es etilo.

65

Entre los compuestos más preferidos de las fórmulas IIa-Va se incluyen compuestos en los que

70

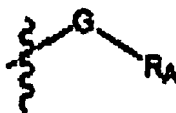
R_3 se selecciona de entre:

75

(a) hidrógeno, halógeno, nitro y ciano; y

(b) grupos de fórmula

80



85

en los que:

(i) G es un enlace o alquilenos C_1-C_8 ;

90

(ii) R_A son carbociclos y heterociclos de 3 a 12 miembros saturados, parcialmente saturados y aromáticos que tienen un anillo o 2 fusionados, anillos colgantes o espiro, donde cada anillo está no sustituido o sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R_5 ;

con la condición de que si A o B son NR_3 , entonces R_3 no es halógeno y G no es $-\text{NH}-$, $-\text{N}(\text{R}_\text{B})-$, $-\text{O}-$, $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{NR}_\text{B}\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{NHS}(\text{O})_\text{m}$ o $-\text{NR}_\text{B}\text{S}(\text{O})-$.

Más preferiblemente, R_A se selecciona del grupo que consiste en piridilo, pirimidilo, pirazinilo, quinolinilo, imidazolilo, indolilo, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, o cicloalquilo C_3-C_6 ; donde cada uno está no sustituido o sustituido con 1 a 4 grupos R_5 . Aún más preferiblemente, R_A es piridilo, pirimidilo, o fenilo, donde cada uno está no sustituido o sustituido con 1 a 4 grupos R_5 . Incluso más preferiblemente, G es alquilo C_1-C_4 .

Entre otros compuesto preferidos de fórmula IIa-Va se incluyen compuestos en los que

R_3 se selecciona de entre:

(a) hidrógeno, halógeno, nitro y ciano; y

(b) grupos de fórmula



en los que:

(i) G es un enlace, $-\text{NH}-$, $-\text{N}(\text{R}_\text{B})-$, $-(\text{R}_\text{B})\text{N}-$, $-\text{O}-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NH}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_\text{B}-$, $-\text{S}(\text{O})_\text{m}-$, $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_\text{m}\text{NH}-$, $-\text{S}(\text{O})_\text{m}\text{NR}_\text{B}-$, $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{NR}_\text{B})-$, $\text{HC}=\text{N}-$, $-\text{NR}_\text{B}\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{NHS}(\text{O})_\text{m}-$ o $-\text{NR}_\text{B}\text{S}(\text{O})-$;

(ii) R_A y R_B se seleccionan independientemente de entre alquilo C_1-C_8 , alqueno C_2-C_8 , alquino C_2-C_8 y carbociclos y heterociclos de 12 miembros, saturados, parcialmente insaturados y aromáticos que tienen 1 anillo o 2 fusionados, anillos colgantes o espiro, donde cada anillo está no sustituido o sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R_5 ; y

(iii) m es 0, 1 ó 2;

con la condición de que si A o B son NR_3 , entonces R_3 no es halógeno y G no es $-\text{NH}-$, $-\text{N}(\text{R}_\text{B})-$, $-\text{O}-$, $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{NR}_\text{B}\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{NHS}(\text{O})_\text{m}$ o $-\text{NR}_\text{B}\text{S}(\text{O})-$.

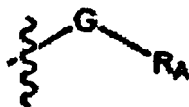
Más preferiblemente, R_A se selecciona del grupo que consiste en piridilo, pirimidilo, pirazinilo, quinolinilo, imidazolilo, indolilo, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, o cicloalquilo C_3-C_6 ; donde cada uno está no sustituido o sustituido con 1 a 4 grupos R_5 . Aún más preferiblemente, R_A es piridilo, pirimidilo, o fenilo, donde cada uno está no sustituido o sustituido con 1 a 4 grupos R_5 .

Aún otros compuestos preferidos de las fórmulas IIa-Va se incluyen compuestos en los que

R_3 se selecciona de entre:

(a) hidrógeno, halógeno, nitro y ciano; y

(b) grupos de fórmula



en los que:

(i) G es $-\text{NH}-$, $-\text{N}(\text{R}_\text{B})-$, $-(\text{R}_\text{B})\text{N}-$, $-\text{C}(=\text{O})\text{NR}_\text{B}-$, $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_\text{m}\text{NH}-$, $-\text{S}(\text{O})_\text{m}\text{NR}_\text{B}-$, $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{C}(=\text{NR}_\text{B})-$, $\text{HC}=\text{N}-$, $-\text{NR}_\text{B}\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{NHS}(\text{O})_\text{m}-$ o $-\text{NR}_\text{B}\text{S}(\text{O})-$;

(ii) R_A y R_B se seleccionan independientemente de entre alquilo C_1-C_8 , alqueno C_2-C_8 , alquino C_2-C_8 y carbociclos y heterociclos de 3 a 12 miembros, saturados, parcialmente insaturados y aromáticos que tienen 1 anillo o 2 fusionados, anillos colgantes o espiro, donde cada anillo está no sustituido o sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R_5 ; y

(iii) m es 0, 1 ó 2;

con la condición de que si A o B son NR_3 , entonces R_3 no es halógeno y G no es $-\text{NH}-$, $-\text{N}(\text{R}_\text{B})-$, $-\text{O}-$, $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{NR}_\text{B}\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{NHS}(\text{O})_\text{m}$ o $-\text{NR}_\text{B}\text{S}(\text{O})-$.

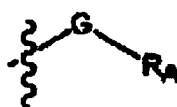
Más preferiblemente, R_B se selecciona de entre alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, alqueno $\text{C}_2\text{-C}_8$, alquino $\text{C}_2\text{-C}_8$. Aún más preferiblemente, R_A se selecciona entonces del grupo que consiste en piridilo, pirimidilo, pirazinilo, quinolinilo, imidazolilo, indolilo, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, o cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$; donde cada uno está no sustituido o sustituido con 1 a 4 grupos R_5 . Aún más preferiblemente, R_A es piridilo, pirimidilo, o fenilo, donde cada uno está no sustituido o sustituido con 1 a 4 grupos R_5 .

Aún otros compuestos preferidos de las fórmulas IIa-Va se incluyen compuestos en los que

R_3 se selecciona de entre:

(c) hidrógeno, halógeno, nitro y ciano; y

(d) grupos de fórmula



en los que:

(i) G es $-\text{O}-$, $-\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{S}(\text{O})_\text{m}-$ o $-\text{CH}_2\text{C}(=\text{O})-$;

(ii) R_A se selecciona de entre alquilo $\text{C}_1\text{-C}_8$, alqueno $\text{C}_2\text{-C}_8$, alquino $\text{C}_2\text{-C}_8$ y carbociclos y heterociclos de 3 a 12 miembros, saturados, parcialmente insaturados y aromáticos que tienen 1 anillo o 2 fusionados, anillos colgantes o espiro, donde cada anillo está no sustituido o sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R_5 ; y

(iii) m es 0, 1 ó 2;

con la condición de que si A o B son NR_3 , entonces R_3 no es halógeno y G no es $-\text{NH}-$, $-\text{N}(\text{R}_\text{B})-$, $-\text{O}-$, $-\text{NHC}(=\text{O})-$, $-\text{NR}_\text{B}\text{C}(=\text{O})-$, $-\text{NHS}(\text{O})_\text{m}$ o $-\text{NR}_\text{B}\text{S}(\text{O})-$.

Más preferiblemente, R_A se selecciona del grupo que consiste en piridilo, pirimidilo, pirazinilo, quinolinilo, imidazolilo, indolilo, fenilo, naftilo, tetrahidronaftilo, o cicloalquilo $\text{C}_3\text{-C}_6$; donde cada uno está no sustituido o sustituido con 1 a 4 grupos R_5 . Aún más preferiblemente, R_A es piridilo, pirimidilo, o fenilo, donde cada uno está no sustituido o sustituido con 1 a 4 grupos R_5 .

En otro aspecto, la presente invención proporciona compuestos de fórmula I, en los que

R_1 es fenilo, piridilo o pirimidilo, cada uno está no sustituido o sustituido con 1 a 3 grupos seleccionados independientemente de entre halógeno, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, halo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_6$ y halo alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_6$;

R_2 es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$;

R_3 es fenilo, piridilo o pirimidilo opcionalmente sustituido; y

R_4 es hidrógeno.

En aún otro aspecto, la presente invención proporciona compuestos de fórmula I, en los que

R_1 es tiazolilo;

R_2 es alquilo $\text{C}_1\text{-C}_4$;

R_3 es fenilo, piridilo o pirimidilo opcionalmente sustituido; y

R_4 es hidrógeno.

En aún otro aspecto, la presente invención proporciona compuestos de fórmula I, en los que

R_1 es fenilo, piridilo o pirimidilo, cada uno está no sustituido o sustituido con 1 a 3 grupos seleccionados independientemente de entre halógeno, alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, halo alquilo $\text{C}_1\text{-C}_6$, alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_6$ y halo alcoxi $\text{C}_1\text{-C}_6$;

R₂ es alquilo C₁-C₄;

A o B son CR₃R₆; y

- 5 R₃ y R₆ se seleccionan independientemente de entre hidrógeno y metilo (preferiblemente R₆ es hidrógeno).

Los compuestos proporcionados en la presente invención alteran (modulan) de forma detectable el ligando que se une a receptores GABA_A, según se determina utilizando un ensayo estándar *in vitro* de unión al receptor. Las referencias en la presente invención a “ensayo de unión de ligando a receptores GABA_A” pretenden referirse al ensayo estándar *in vitro* de unión al receptor proporcionado en el Ejemplo 3. Brevemente, un ensayo de competición se puede llevar a cabo en que una preparación de receptor GABA_A se incuba con ligando marcado (por ejemplo, ³H), tal como Flumazenil, y compuesto de prueba no marcado. La incubación con un compuesto que modula de forma detectable el ligando que se une al receptor GABA_A dará lugar a un descenso o aumento en la cantidad de marca unida a la preparación de receptor GABA_A, en relación con la cantidad de marca unida en ausencia de compuesto. Preferiblemente, dicho compuesto mostrará una K_i en el receptor GABA_A inferior a 1 micromolar, más preferiblemente inferior a 500 nM, 100 nM, 20 nM o 10 nM. El receptor GABA_A utilizado para determinar la unión *in vitro* se puede obtener a partir de un conjunto de fuentes, por ejemplo a partir de preparaciones de córtex de rata o a partir de células que expresan receptores GABA_A humanos clonados.

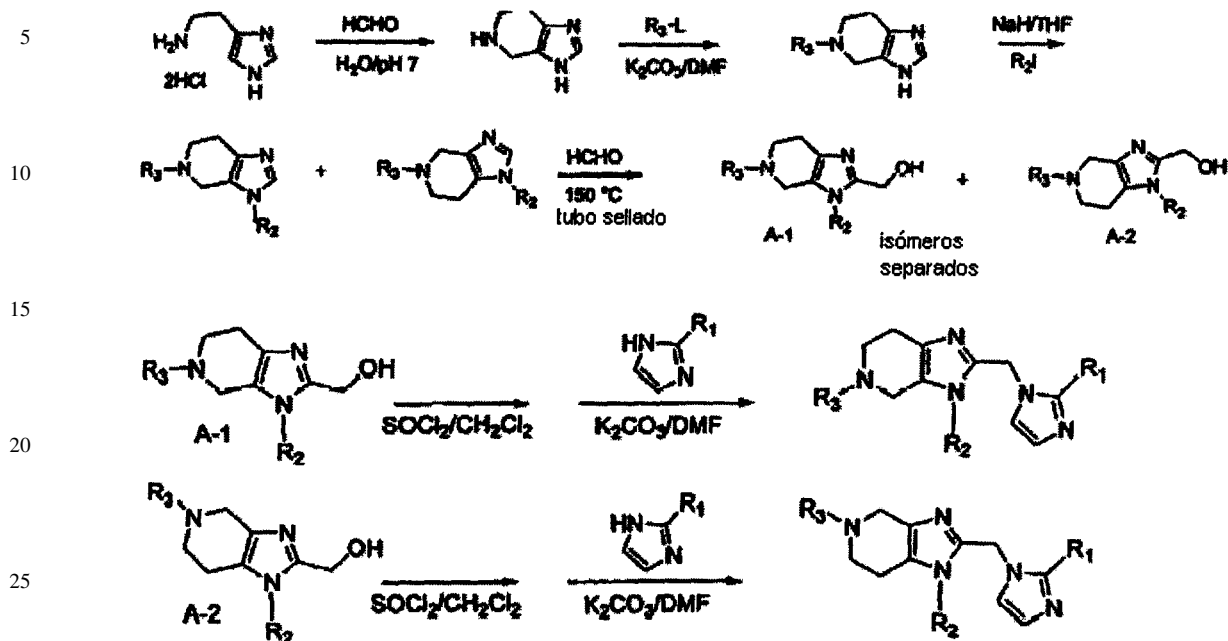
Si se desea, en los compuestos proporcionados en la presente invención se pueden evaluar ciertas propiedades farmacológicas que incluyen, pero no se limitan a, la solubilidad, biodisponibilidad oral, toxicidad, unión de proteína del suero, falta de efecto de EKG clínicamente relevante y el tiempo de vida medio *in vitro* e *in vivo*. Se pueden utilizar ensayos rutinarios que son bien conocidos en la técnica para evaluar estas propiedades e identificar compuestos superiores para un uso particular. Por ejemplo, la solubilidad en soluciones acuosas es preferiblemente de como mínimo 500 ng/ml. Entre los ensayos utilizados para predecir la biodisponibilidad se incluyen monocapas de células intestinales humanas a través del transporte, incluyendo monocapas de células Caco-2. La toxicidad se puede evaluar utilizando cualquier procedimiento estándar, tal como el ensayo que detecta un efecto en la producción de ATP celular proporcionado en el Ejemplo 5, o la toxicidad en hepatocitos cultivados. La penetración de la barrera hemato-encefálica de un compuesto en humanos se puede predecir a partir de los niveles en el cerebro del compuesto en animales de laboratorio, tras la administración intravenosa del compuesto. La unión de proteína del suero se puede predecir a partir de ensayos de unión de albúmina. Dichos ensayos se describen en una revisión de Oravcová, *et al.* (Journal of Chromatography B (1996) volumen 677, páginas 1-27). La vida media del compuesto es inversamente proporcional a la frecuencia de la dosis de un compuesto. Las vidas medias *in vitro* se pueden predecir a partir de ensayos de vida media microsomal según se describe por Kuhn y Gieschen (Drug Metabolism and Disposition, (1998) volumen 26, páginas 1120-1127).

Para los objetivos de detección, tal y como se describe a continuación con más detalle, los compuestos proporcionados en la presente invención se pueden marcar o radiomarcarse isotópicamente. Dichos compuestos son idénticos a los descritos anteriormente, pero por el hecho de que uno o más átomos se sustituyen por un átomo que tiene una masa atómica o número en masa diferente de la masa atómica o el número en masa hallados habitualmente en la naturaleza. Entre los ejemplos de isótopos que se pueden incorporar en compuestos proporcionados en la presente invención se incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, flúor y cloro, tales como ²H, ³H, ¹¹C, ¹³C, ¹⁴C, ¹⁵N, ¹⁸O, ¹⁷O, ³¹P, ³²P, ³⁵S, ¹⁸F y ³⁶Cl. Además, la sustitución con isótopos pesados, tales como deuterio (es decir, ²H) puede permitir ciertas ventajas terapéuticas resultantes de una mayor estabilidad metabólica, por ejemplo una mayor vida media o menor necesidad de dosis y, por lo tanto, se puede preferir en ciertas circunstancias.

Preparación de compuestos

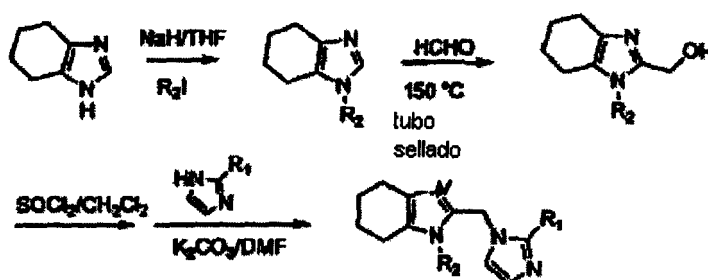
Los compuestos proporcionados en la presente invención se pueden preparar generalmente utilizando procedimientos sintéticos estándar. Los materiales de partida están generalmente fácilmente disponibles de fuentes comerciales, tales como Sigma-Aldrich Corp. (St Louis, MO) o se pueden preparar tal y como se describe en la presente. Los procedimientos representativos adecuados para la preparación de compuestos de Fórmula I se resumen en los Esquemas I y II, que no deben interpretarse como limitantes en el ámbito de la invención o espíritu de los reactivos específicos y condiciones mostradas en la misma. Los expertos en la materia entenderán que los reactivos y condiciones se pueden variar y se pueden utilizar etapas adicionales para producir compuestos comprendidos en la presente invención. En algunos casos, la protección de las funciones de los reactivos puede ser necesaria para conseguir las transformaciones deseadas. En general, dicha necesidad de proteger los grupos, así como las condiciones necesarias de unir y eliminar dichos grupos, serán evidentes para los expertos en síntesis orgánica. A menos que se afirme lo contrario en los siguientes esquemas, las variables son como se definen en la Fórmula I.

Esquema I



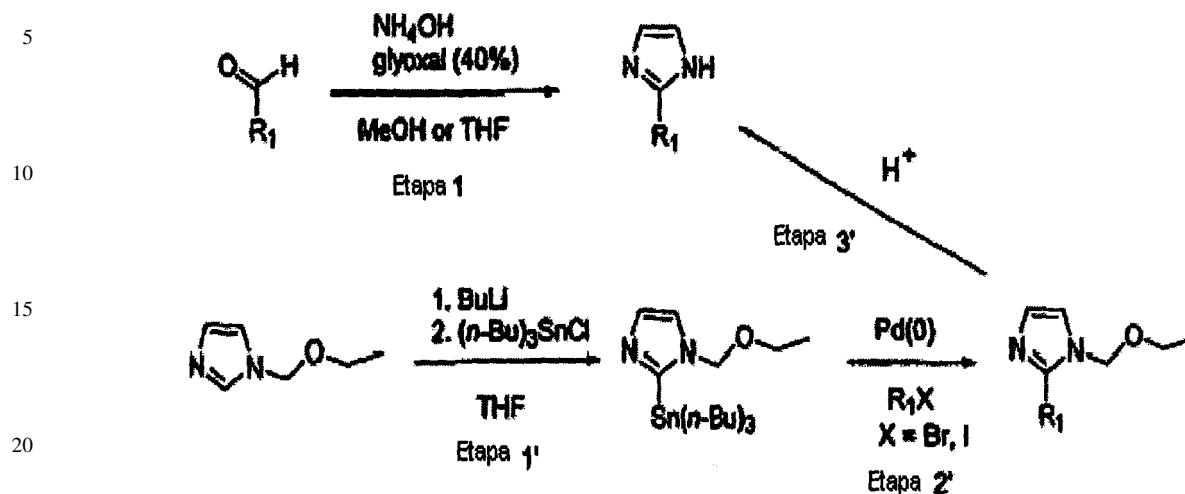
El esquema I ilustra la preparación de derivados de imidazol con anillos fusionados representativos, donde A o B son N. Brevemente, la reacción de 2-(1H-imidazol-4-il)-etilamina (diclorhidrato de histamina; Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) con formaldehído produce diclorhidrato de 4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazol[4,5-c]piridina. A continuación se pueden añadir varios grupos R_3 mediante la reacción con el electrófilo alquilo o arilo apropiado en presencia de una base (R_3-L , en el que L es un halógeno u otro grupo saliente). Los expertos en la materia entenderán que se pueden introducir una gran variedad de grupos R_3 mediante procedimientos sencillos alternativos que utilizan diclorhidrato de 4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazol[4,5-c]piridina como material de partida. Los grupos R_2 se pueden añadir mediante la reacción con un yoduro adecuado (por ejemplo, yodoetano). El calentamiento en formaldehído da lugar a alcoholes isoméricos de metanol mostrados como A-1 y A-2. A continuación, estos isómeros se pueden separar (por ejemplo, mediante cromatografía en columna en gel de sílice). A continuación, el grupo hidroxilo se convierte en un grupo saliente, tal como, por ejemplo, un haluro, y el grupo saliente es desplazado entonces por un derivado de imidazol que transporta el grupo R_1 deseado (preparado tal y como se muestra en el Esquema III).

Esquema II



El esquema II ilustra la preparación de derivados de imidazol con anillos fusionados representativos, donde A es CH_2 y B es CR_3R_6 , donde R_3 y R_6 son ambos hidrógeno. Brevemente, la reacción de 4,5,6,7-tetrahidro-1H-benzimidazol (para la preparación, véase Chem. Ber. (1962) 95:2049, 2052-53) con un yoduro adecuado (por ejemplo, yodoetano) da lugar a la adición de R_2 . El calentamiento en formaldehído da lugar al derivado de metanol. Cuando R_3 no es hidrógeno, los isómeros resultantes se pueden entonces separar (por ejemplo, mediante cromatografía en columna en gel de sílice). A continuación, el grupo hidroxilo se convierte en un grupo saliente, tal como, por ejemplo, un haluro, y el grupo saliente es desplazado entonces por un derivado de imidazol que transporta el grupo R_1 deseado (preparado tal y como se muestra en el Esquema III).

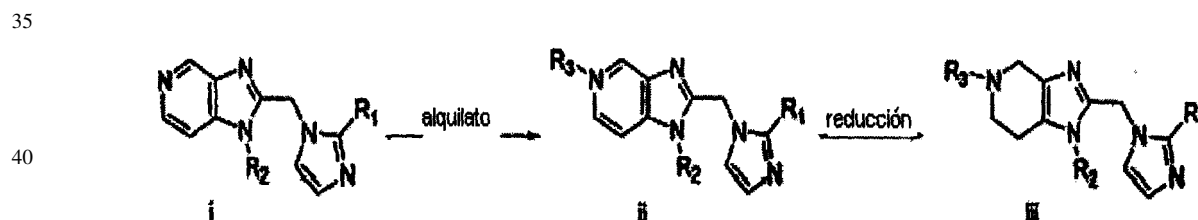
Esquema III



25 El esquema III ilustra dos rutas de síntesis de intermedios de R_1 -imidazol utilizados en los Esquemas I y II. En la Etapa 1, un arilo o heteroarilo aldehído se trata con glioal e hidróxido amónico para formar el intermedio R_1 -imidazol. En la etapa 1', se trata 1-etoximetil-1H-imidazol con butilitio seguido de cloruro de tri-n-butilestano para obtener el derivado de tri-n-butilestannanilo, que debe manipularse con cuidado para evitar la descomposición. En la etapa 2', el derivado de tri-n-butilestannanilo se utiliza en una reacción de acoplamiento cruzado de paladio con haluro de arilo o heteroarilo para unir R_1 al imidazol. El tratamiento posterior con ácido en la Etapa 3' proporciona el intermedio R_1 -imidazol.

30

Esquema IV



45 El esquema IV ilustra otro procedimiento de preparación de los compuestos de la presente invención. En el esquema IV, la imidazo [4,5-c]piridina, i, se alquila para formar el compuesto ii. Entre los agentes de alquilación adecuados se incluyen haluros de alquilo, arilalquilhaluros, triflatos de alquilo, arilalquiltriflatos, y otros agentes alquilantes que son obvios para un experto en la materia. El material alquilado, ii, se reduce a continuación para formar la tetrahidro imidazo[4,5-c]piridina. Entre los agentes reductores adecuados se incluyen agentes reductores de hidruros, tales como borohidruro sódico, o $LiAlH_4$, o catalizadores de metales de transición e hidrógeno, tales como PtO o Pd/C. Otros agentes reductores útiles son conocidos por los expertos en la materia.

50

Será evidente que los materiales de partida pueden variarse y utilizar etapas adicionales para producir los compuestos variados comprendidos por la presente invención.

55 En ciertas situaciones, los compuestos proporcionados en la presente invención pueden contener uno o más átomos de carbono asimétricos, de manera que los compuestos pueden existir en diferentes formas estereoisoméricas. Estos compuestos pueden ser, por ejemplo, racematos o formas óptimamente activas. Tal y como se ha indicado anteriormente, todos los estereoisómeros están comprendidos en la presente invención. Sin embargo, puede ser deseable obtener enantiómeros únicos (es decir, formas óptimamente activas). Entre los procedimientos estándar para la preparación de enantiómeros únicos se incluyen la síntesis asimétrica y la resolución de los racematos. La resolución de los racematos se puede llevar a cabo mediante procedimientos convencionales, tales como la cristalización en presencia de un agente de resolución, o cromatografía utilizando, por ejemplo, una columna de HPLC quiral.

60

65 Tal y como se ha indicado anteriormente, la presente invención comprende sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos descritos en la presente invención. Tal y como se utiliza en la presente, una "sal farmacéuticamente aceptable" es una sal de ácido o base que se considera generalmente en la técnica por ser adecuada para la utilización en el contacto con los tejidos de seres humanos o animales sin una toxicidad excesiva, irritación, respuesta alérgica,

u otro problema o complicación, proporcional con una proporción razonable de beneficio/riesgo. Los expertos en la materia entenderán una amplia variedad de sales de adición farmacéuticamente aceptables no tóxicas, incluyendo sales minerales y sales de ácidos orgánicos de residuos básicos, tales como aminas, así como sales de álcalis o sales orgánicas de residuos ácidos, tales como ácidos carboxílicos. Entre las sales farmacéuticas específicas se incluyen, pero no se limitan a, sales de ácidos, tales como clorhídrico, fosfórico, bromhídrico, málico, glicólico, fumárico, sulfúrico, sulfámico, sulfínico, sulfanílico, fórmico, toluenosulfónico, mtanosulfónico, etanodisulfónico, 2-hidroxiethylsulfónico, oxálico, isetiónico, nítrico, benzoico, 2-acetoxibenzoico, cítrico, tartárico, láctico, esteárico, salicílico, glutámico, ascórbico, pamoico, succínico, fumárico, maleico, propiónico, hidroximaleico, yodhídrico, fenilacético, alcanico, tal como acético, $\text{HOOC}-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$, donde n es 0-4, y similar. De forma similar, entre los cationes farmacéuticamente aceptables se incluyen, pero no se limitan a, sodio, potasio, calcio, aluminio, litio y amonio. Los expertos en la materia reconocerán sales farmacéuticamente aceptables adicionales para los compuestos proporcionados en la presente invención, incluyendo las enumeradas en *Remington's Pharmaceutical Sciences* 17th ed. Mack Publishing Company, Easton, PA, página 1418 (1985). Por consiguiente, la presente descripción debería interpretarse que incluye todas las sales farmacéuticamente aceptables de los compuestos específicamente descritos.

Una gran variedad de procedimientos sintéticos están disponibles para la preparación de sales farmacéuticamente aceptables. En general, una sal farmacéuticamente aceptable se puede sintetizar a partir de un compuesto parental que contiene un grupo básico o ácido mediante cualquier procedimiento químico convencional. Brevemente, dichas sales se pueden preparar reaccionando las formas ácidas o básicas libres de estos compuestos con una cantidad estequiométrica de la base o el ácido apropiado en agua o en un disolvente orgánico, o en una mezcla de los dos; generalmente, se prefieren medios no acuosos, tales como éter, acetato de etilo, etanol, isopropanol, o acetonitrilo.

Los profármacos de los compuestos proporcionados en la presente invención se pueden preparar modificando grupos funcionales presentes en los compuestos de manera que las modificaciones se dividen de los compuestos parentales. Entre los profármacos se incluyen compuestos en los que los grupos hidroxilo, amino o sulfhidrilo se unen a cualquier grupo que, cuando se administran a un sujeto mamífero, se divide para formar un grupo hidroxilo, amino o sulfhidrilo libres, respectivamente. Entre los ejemplos de profármacos se incluyen, pero no se limitan a, derivados acetato, formiato y benzoato de grupos alcohol y amino funcionales de los compuestos proporcionados en la presente invención. Entre los profármacos preferidos se incluyen derivados acilados. Los expertos en la materia reconocerán varios procedimientos sintéticos que se pueden utilizar para preparar a profármacos de los compuestos proporcionados en la presente invención.

Los compuestos se pueden radiomarcarse llevando a cabo sus síntesis utilizando precursores que comprenden por lo menos un átomo que es un radioisótopo. Dicho(s) radioisótopo(s) se selecciona(n) preferiblemente de entre carbono (por ejemplo, ^{14}C), hidrógeno (por ejemplo, ^3H), azufre (por ejemplo, ^{35}S) o yodo (por ejemplo, ^{125}I). La síntesis de dichos compuestos radiomarcados se puede realizar convenientemente mediante un suministrador de radioisótopos que se especializa en síntesis habitual de compuestos sonda radiomarcados, tal como Amersham Corporation, Arlington Heights, IL; Cambridge isotope Laboratories, Inc. Andover, MA; SRI Internacional, Menlo Park, CA; Wizard Laboratories, West Sacramento, CA; ChemSyn Laboratories, Lexena, KS; American Radiolabeled Chemicals, Inc., St. Louis, MO; y Moravek Biochemicals Inc., Brea, CA. Convenientemente, también se preparan catalíticamente compuestos marcados con tritio a través del intercambio catalizado por platino en ácido acético tritiado, intercambio catalizado por ácido en ácido trifluoroacético tritiado o intercambio catalizado de manera heterogénea con gas tritio. Dichas preparaciones se pueden llevar a cabo también convenientemente como un radiomarcado habitual por uno de los suministradores enumerados anteriormente utilizando el compuesto como sustrato. Además, ciertos precursores se pueden someter a intercambio de tritio-halógeno con gas tritio, reducción con gas tritio de enlaces insaturados, o reducción utilizando borohidruro de sodio, según sea apropiado. Los compuestos radiomarcados con ^{14}C de la presente invención se pueden preparar utilizando oxalato de dietilo radiomarcado con ^{14}C (AMERICAN RADIOLABELED CHEMICALS, St. Louis, MO, catálogo no. ARC-1127) como material de partida para la síntesis resumida en el Esquema I.

Composiciones farmacéuticas

La presente invención también proporciona composiciones farmacéuticas que comprenden por lo menos un compuesto proporcionado en la presente, junto con por lo menos un portador o excipiente fisiológicamente aceptable. Dichos compuestos se pueden utilizar para tratar trastornos sensibles a la modulación de receptores GABA_A (por ejemplo, tratamiento de la ansiedad, depresión, trastornos del sueño o alteración cognitiva mediante la modulación de receptores GABA_A). Las composiciones farmacéuticas pueden comprender, por ejemplo, agua, tampones (por ejemplo, solución salina tamponada neutra o solución salina tamponada de fosfato), etanol, aceite mineral, aceite vegetal, dimetilsulfóxido, carbohidratos (por ejemplo, glucosa, manosa, sacarosa o dextranos), manitol, proteínas, adyuvantes, polipéptidos o aminoácidos, tales como glicina, antioxidantes, agentes quelantes, tales como EDTA o glutatión y/o conservantes. Las composiciones farmacéuticas preferidas se formulan para la administración oral a humanos u otros animales (por ejemplo, animales de compañía tales como perros). Si se desea, se pueden incluir también otros principios activos, tales como agentes de SNC.

Los compuestos farmacéuticos se pueden formular para cualquier forma de administración adecuada, incluyendo, por ejemplo, administración tópica, oral, nasal, rectal o parenteral. El término parenteral tal y como se utiliza en la presente invención incluye la inyección subcutánea, intradérmica, intravascular, (por ejemplo, intravenosa), intramuscular, espinal, intracraneal, intratecal e intraperitoneal, así como cualquier técnica de inyección o infusión similar. En

ciertas realizaciones, se prefieren composiciones en una forma adecuada para el uso oral. Entre dichas formas se incluyen, por ejemplo, comprimidos, tabletas, pastillas, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsión, cápsulas duras o blandas, o jarabes o elixires. En aún otras realizaciones, las composiciones de la presente invención se pueden formular como un liofilizado.

Las composiciones destinadas al uso oral pueden comprender además uno o más componentes, tales como agentes endulzantes, agentes aromatizantes, agentes colorantes y agentes de conservación con el fin de proporcionar preparaciones atractivas y apetecibles. Los comprimidos contienen el ingrediente activo mezclado con excipientes fisiológicamente aceptables que son adecuados para la fabricación de comprimidos. Entre dichos excipientes se incluyen, por ejemplo, diluyentes inertes (por ejemplo, carbonato cálcico, carbonato sódico, lactosa, fosfato cálcico o fosfato sódico), agentes granulantes y disgregantes (por ejemplo, almidón de maíz o ácido algínico), agentes aglutinantes (por ejemplo, almidón, gelatina o acacia) y agentes lubricantes (por ejemplo, estearato magnésico, ácido esteárico o talco). Los comprimidos pueden estar no cubiertos o pueden estar cubiertos mediante técnicas conocidas para retrasar la desintegración y la absorción en el tracto gastrointestinal y proporcionar así una acción controlada durante un periodo de tiempo más largo. Por ejemplo, se puede utilizar material de retraso en el tiempo, tal como monoestearato de glicerilo o diestearato de glicerilo.

Las formulaciones para el uso oral también se pueden presentar como cápsulas de gelatina dura en las que el principio activo está mezclado con un diluyente sólido inerte (por ejemplo, carbonato cálcico, fosfato cálcico o caolín), o como cápsulas de gelatina blanda en las que el principio activo está mezclado con agua o un medio oleoso (por ejemplo, aceite de cacahuete, parafina líquida o aceite de oliva).

Las suspensiones acuosas comprenden los materiales activos mezclados con uno o más excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes son agentes de suspensión (por ejemplo, carboximetilcelulosa sódica, metilcelulosa, hidropropilmetilcelulosa, alginato sódico, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma acacia); y agentes de dispersión o humectantes (por ejemplo, fosfatidos naturales, tales como lecitina, productos de condensación de un óxido de alquileno con ácidos grasos, tales como estearato de polioxietileno, productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, tales como heptadecaetilenoxicetanol, productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y un hexitol, tal como monoestearato de polioxietilensorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, tales como monooleato de polietilensorbitano). Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo, etil, o n-propil p-hidroxi benzoato, uno o más agentes colorantes, uno o más agentes aromatizantes, y uno o más agentes endulzantes, tales como sacarosa o sacarina.

Las suspensiones oleosas se pueden formular mediante la suspensión de los principios activos en un aceite vegetal (por ejemplo, aceite de maní, aceite de oliva, aceite de sésamo o aceite de coco) o en un aceite mineral, tal como parafina líquida. Las suspensiones oleosas pueden contener un agente espesante, tal como cera de abeja, parafina dura o cetil alcohol. Los agentes endulzantes tales como aquellos establecidos anteriormente, y/o los agentes aromatizantes se pueden añadir para proporcionar preparaciones orales apetecibles. Dichas suspensiones se pueden conservar mediante la adición de un antioxidante, tal como ácido ascórbico.

Los polvos o gránulos dispersables adecuados para la preparación de una suspensión acuosa mediante la adición de agua proporcionan el principio activo mezclado con un agente dispersante o humectante, una agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes adecuados y los agentes de suspensión se ejemplifican mediante los mencionados anteriormente. También pueden estar presentes excipientes adicionales, tales como agentes endulzantes, aromatizantes y colorantes.

Las composiciones farmacéuticas también pueden estar en forma de emulsiones de aceite en agua. La fase oleosa puede ser un aceite vegetal (por ejemplo, aceite de oliva o aceite de maní) o un aceite mineral (por ejemplo, parafina líquida) o mezclas de los mismos. Los agentes emulsionantes adecuados pueden ser gomas naturales (por ejemplo, goma acacia o goma tragacanto), fosfatidos naturales (por ejemplo, soja, lecitina, y ésteres o ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol), anhídridos (por ejemplo, monooleato de sorbitano) y productos de condensación de ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol con óxido de etileno (por ejemplo, monooleato de polioxietilensorbitano). Las emulsiones también pueden contener agentes endulzantes y/o aromatizantes.

Los jarabes y elixires se pueden formular con agentes endulzantes, tales como glicerol, propilenglicol, sorbitol o sacarosa. Dichas formulaciones también pueden comprender uno o más demulcentes, conservantes, agentes aromatizantes y/o agentes colorantes.

Una composición farmacéutica se puede preparar como una suspensión acuosa u oleaginosa inyectable estéril. El compuesto, dependiendo del vehículo y concentración utilizados, se puede suspender o disolver en el vehículo. Dicha composición se puede formular según la técnica conocida utilizando agentes dispersantes, humectantes y/o agentes de suspensión adecuados, tales como los mencionados anteriormente. Entre los vehículos y disolventes aceptables que se pueden utilizar están el agua, 1,3-butanodiol, solución de Ringer y solución isotónica de cloruro sódico. Además, se pueden utilizar aceites estériles fijados como disolvente o medio de suspensión. Para este objetivo, se puede utilizar cualquier aceite fijado suave, incluyendo mono- o diglicéridos sintéticos. Además, los ácidos grasos, tales como ácido oleico, son útiles en la preparación de composiciones inyectables, y adyuvantes, tales como agentes anestésicos, conservantes y/o agentes tampón, se pueden disolver en el vehículo.

Las composiciones farmacéuticas también se pueden preparar en forma de supositorios (por ejemplo, para administración rectal). Dichas composiciones se pueden preparar mezclando el fármaco con un excipiente no irritante adecuado que es sólido a temperatura ambiente, pero líquido a la temperatura rectal y, por lo tanto, se fundirá en el recto para liberar el fármaco. Entre los excipientes adecuados se incluyen, por ejemplo, manteca de cacao y polietilenglicoles.

Para la administración en animales no humanos, la composición también se puede añadir a alimento o agua de bebida de animales. Puede ser conveniente formular composiciones en alimento o agua de bebida de animales, de manera que el animal ingiere una cantidad apropiada de la composición junto con su dieta. También puede ser conveniente presentar la composición como una premezcla para la adición a alimento o agua de bebida.

Las composiciones farmacéuticas se pueden formular como formulaciones de liberación controlada (es decir, una formulación, tal como una cápsula que realiza una liberación lenta del compuesto tras la administración). Dichas formulaciones se pueden preparar generalmente utilizando tecnología bien conocida y administrarse mediante, por ejemplo, implantación oral, rectal o subcutánea o mediante implantación en el sitio diana deseado. Los portadores para utilizar en dichas formulaciones son biocompatibles, y pueden ser biodegradables; preferiblemente, la formulación proporciona un nivel relativamente constante de liberación de compuesto activo. La cantidad de compuesto contenido en la formulación de liberación controlada depende del sitio de implantación, la velocidad y la duración esperada de liberación y la naturaleza de la condición a tratar o prevenir.

Los compuestos proporcionados en la presente invención se presentan generalmente en una composición farmacéutica en una cantidad terapéuticamente eficaz. Una cantidad terapéuticamente eficaz es una cantidad que da lugar a un beneficio perceptible en el paciente, tal como una disminución de los síntomas de un trastorno del SNC. Una concentración preferida es la suficiente para inhibir la unión del ligando de receptor GABA_A al receptor GABA_A *in vitro*. Se prefiere composiciones que proporcionan niveles de dosificación que varían de aproximadamente 0,1 mg a aproximadamente 140 mg por kilogramo de peso corporal por día (aproximadamente de 0,5 mg a aproximadamente 7 g por paciente humano por día). La cantidad de principio activo que se puede combinar con los materiales portadores para producir una forma de dosis única variará dependiendo del huésped tratado y el modo concreto de administración. Las formas de unidades de dosificación contendrán generalmente entre aproximadamente 1 mg hasta aproximadamente 500 mg de un principio activo. Sin embargo, se entenderá que la dosis óptima para cualquier paciente particular dependerá de una variedad de factores, incluyendo la actividad del compuesto específico empleado; la edad, el peso corporal, la salud general, sexo y dieta del paciente; el tiempo y la ruta de administración; la velocidad de excreción; cualquier tratamiento simultáneo, tal como una combinación de fármacos; y el tipo y gravedad de la enfermedad particular sometida a tratamiento. Las dosis óptimas se pueden establecer utilizando pruebas rutinarias y procedimientos que son bien conocidos en la técnica.

Las composiciones farmacéuticas se pueden envasar para tratar un trastorno del SNC, tal como ansiedad, depresión, trastorno del sueño, trastorno del déficit de atención o demencia de Alzheimer. Las preparaciones farmacéuticas envasadas incluyen un recipiente que contiene una cantidad terapéuticamente eficaz de por lo menos un compuesto tal y como se ha descrito en la presente invención e instrucciones (por ejemplo, etiquetado) que indican que la composición contenida se va a utilizar para tratar el trastorno del SNC.

Procedimientos de utilización

En ciertos aspectos, los compuestos de la presente invención son útiles en procedimientos para inhibir el desarrollo de un trastorno del SNC. En otras palabras, los procedimientos terapéuticos proporcionados en la presente invención se pueden utilizar para tratar un trastorno, o se pueden utilizar para prevenir o retrasar la aparición de dicha enfermedad en un paciente que no padece un trastorno del SNC detectable. Los trastornos del SNC se describen con más detalle a continuación, y se pueden diagnosticar y monitorizar utilizando criterios que se han establecido en la técnica. Alternativamente, o adicionalmente, los compuestos proporcionados en la presente invención se pueden administrar a un paciente para mejorar la memoria a corto plazo. Entre los pacientes se incluyen humanos, animales de compañía domesticados (mascotas, tales como perros) y animales de ganado, con las pautas de dosificación y tratamiento tal y como se ha descrito anteriormente.

La frecuencia de dosificación puede variar dependiendo del compuesto utilizado y la enfermedad concreta a tratar o prevenir. En general, para el tratamiento de la mayoría de trastornos, se prefiere una pauta de dosificación de 4 veces diarias o menos. Para el tratamiento de los trastornos del sueño es deseable una dosis única que alcance rápidamente las concentraciones eficaces. Los pacientes se pueden monitorizar generalmente por su eficacia terapéutica utilizando ensayos adecuados para la condición a tratar o prevenir, que serán familiares para los expertos en la materia.

Los compuestos proporcionados en la presente invención se pueden utilizar para tratar pacientes que necesitan dicho tratamiento, en una cantidad suficiente para alterar los síntomas de un trastorno de SNC. Los compuestos que actúan como agonistas en los subtipos de receptores $\alpha_2\beta_3\gamma_2$ y $\alpha_3\beta_3\gamma_2$ son particularmente útiles en el tratamiento de trastornos de ansiedad, tales como el trastorno por pánico, trastorno compulsivo obsesivo, y trastorno de ansiedad generalizado; trastornos por estrés, incluyendo estrés post-traumático, y trastornos por estrés agudo. Los compuestos que actúan como agonistas en los subtipos de receptores $\alpha_2\beta_3\gamma_2$ y $\alpha_3\beta_3\gamma_2$ son también útiles en el tratamiento de trastornos depresivos o bipolares y en el tratamiento de trastornos del sueño. Los compuestos que actúan como agonistas inversos en el subtipo de receptor $\alpha_3\beta_3\gamma_2$ o subtipos de receptores $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ y $\alpha_5\beta_3\gamma_2$ son particularmente útiles en el tratamiento

- de trastornos cognitivos, incluyendo aquellos resultantes del Síndrome de Down, enfermedades neurodegenerativas, tales como la enfermedad de Alzheimer y la enfermedad de Parkinson, y la demencia relacionada con la apoplejía. Los compuestos de la invención que actúan como agonistas inversos en el $\alpha_5\beta_3\gamma_2$ son particularmente útiles en el tratamiento de trastornos cognitivos a través de la mejora de memoria, y particularmente memoria a corto plazo, en
- 5 pacientes con la memoria alterada. Los compuestos que actúan como agonistas en el subtipo de receptor $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ son útiles en el tratamiento de trastornos convulsivos, tales como la epilepsia. Los compuestos que actúan como antagonistas en el sitio de benzodiazepina son útiles en la inversión del efecto de la sobredosis de benzodiazepina y en el tratamiento de la adicción a alcohol y drogas.
- 10 Entre los trastornos del SNC que se pueden tratar utilizando compuestos y composiciones proporcionados en la presente invención se incluyen:
- Depresión*, por ejemplo, depresión, depresión atípica, trastorno bipolar, fase depresiva del trastorno bipolar.
- 15 *Ansiedad*, por ejemplo, trastorno de ansiedad general (GAD), agorafobia, trastorno por pánico +/- agorafobia, fobia social, fobia específica, trastorno por estrés post-traumático, trastorno compulsivo obsesivo (OCD), distimia, trastornos de adaptación con alteración de humor y ansiedad, trastorno de ansiedad por separación, trastorno de estrés agudo por ansiedad anticipatorio, trastornos de adaptación, ciclotimia.
- 20 *Trastornos del sueño*, por ejemplo, trastornos del sueño que incluyen insomnio primario, trastorno de sueño del ritmo circadiano, disomnia NOS, parasomnias, que incluyen trastorno por pesadillas, trastorno por terror en el sueño, trastornos del sueño secundarios a la depresión y/o ansiedad u otros trastornos mentales, trastorno del sueño inducido por sustancias
- 25 *Trastornos cognitivos*, por ejemplo, alteración de la cognición, enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson, discapacidad cognitiva leve (MCI), declive cognitivo relacionado con la edad (ARCD), apoplejía, daño cerebral traumático, demencia asociada al SIDA, y demencia asociada con la depresión, ansiedad y psicosis (incluyendo esquizofrenia y trastornos alucinatorios).
- 30 *Trastornos del déficit de atención*, por ejemplo, trastorno del déficit de atención (ADD) y trastorno del déficit de atención e hiperactividad (ADHD).
- Trastornos en el habla*, por ejemplo, tic motor, tartamudeo clónico, disfluencia, bloqueo del habla, disartria, síndrome de Tourette y logospasmo.
- 35 Los compuestos y composiciones proporcionados en la presente invención también se pueden utilizar para mejorar la memoria a corto plazo (memoria de trabajo) en un paciente. Una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto para mejorar la pérdida de memoria a corto plazo es una cantidad suficiente para dar lugar a una mejora estadísticamente significativa en cualquier prueba estándar de la función de memoria a corto plazo, incluyendo la prueba de repetición de dígitos directos y el aprendizaje por memorización en serie. Por ejemplo, dicha prueba se puede diseñar para evaluar la capacidad de un paciente para recordar palabras o letras. Alternativamente, se puede utilizar una evaluación neurofísica más completa para valorar la función de memoria a corto plazo. A los pacientes tratados con el fin de mejorar la memoria a corto plazo se les puede, aunque no necesariamente, haber diagnosticado la alteración de la memoria o considerar que están predispuestos al desarrollo de dicha alteración.
- 40 Los compuestos de la presente invención son útiles en procedimientos para potenciar la acción (o efecto terapéutico) de otro/s agente/s de SNC. Dichos procedimientos comprenden la administración de una cantidad eficaz de un compuesto proporcionado en la presente invención combinado con otro agente de SNC. Entre los agentes de SNC se incluyen, pero no se limitan a los siguientes: para la ansiedad, agonistas y antagonistas de receptor de serotonina (por ejemplo, 5-HT_{1A}); para la ansiedad y la depresión, antagonistas del receptor de neuroquinina o antagonistas del receptor del factor de liberación de corticotropina (CRF₁); para trastornos del sueño, agonistas del receptor de melatonina; y para trastornos neurodegenerativos, tales como la demencia de Alzheimer, agonistas nicotínicos, agentes muscarínicos, inhibidores de acetilcolinesterasa y agonistas de receptor de dopamina. En realizaciones preferidas, la presente invención proporciona un procedimiento de potenciación de la actividad antidepresiva de inhibidores de recaptación de serotonina (SSRIs) selectivos mediante la administración de una cantidad eficaz de un compuesto agonista de GABA de la presente invención combinado con un SSRI. Una cantidad eficaz de un compuesto es una cantidad suficiente para dar lugar a un cambio detectable en los síntomas del paciente, cuando se compara con un paciente tratado con el otro agente de SNC solo.
- 45 La administración por combinación se pueden llevar a acabo de forma análoga a la descrita en Da-Rocha, *et al.*, *J. Psychopharmacology* (1997) 11(3): 211-218; Smith, *et al.*, *Am. J. Psychiatry* (1998) 155(10): 1339-45; o Le, *et al.*, *Alcohol and Alcoholism* (1996) 31 (supl.):127-132. Véase también los Nos. de Publicación Internacional PCT WO 99/47142; WO 99/47171; WO 99/47131; y WO 99/37303.
- 50 La presente invención también se refiere a procedimientos para inhibir la unión de compuestos de benzodiazepina, tales como Ro 15-1788 o GABA, a los receptores GABA_A. Dichos procedimientos implican el contacto de un compuesto proporcionado en la presente invención con células que expresan el receptor GABA_A, donde el compuesto está presente en una cantidad suficiente para inhibir la unión de benzodiazepina o la unión de GABA a receptores GABA_A.
- 55
- 60
- 65

in vitro. Este procedimiento incluye la inhibición de la unión de compuestos de benzodiazepina a receptores GABA_A *in vivo* (por ejemplo, en un paciente al que se ha suministrado una cantidad de un compuesto proporcionado en la presente invención que sería suficiente para inhibir la unión de compuestos de benzodiazepina o GABA a receptores GABA_A *in vitro*). En una realización, dichos procedimientos son útiles en el tratamiento de la sobredosis de fármaco de benzodiazepina. La cantidad de un compuesto que sería suficiente para inhibir la unión de un compuesto de benzodiazepina al receptor GABA_A se puede determinar fácilmente a través de un ensayo de unión a receptor GABA_A, tal como el ensayo descrito en el Ejemplo 3.

En aspectos diferentes, la presente invención proporciona una variedad de utilidades *in vitro* de los compuestos proporcionados en la presente invención. Por ejemplo, dichos compuestos se pueden utilizar como sondas para la detección y localización de receptores GABA_A, en muestras, tales como secciones de tejido, como controles positivos en ensayos de la actividad del receptor, como estándares y reactivos para determinar la capacidad de un agente candidato para unirse a receptor GABA_A, o como radiostreadores para la imagen de la tomografía de emisión de positrones (PET) o para tomografía computerizada por emisión de fotón único (SPECT). Dichos ensayos se pueden utilizar para caracterizar los receptores GABA_A en sujetos vivos. Dichos compuestos también son útiles como estándares y reactivos en la determinación de la capacidad de un potencial producto farmacéutico de unirse al receptor GABA_A.

En los procedimientos para determinar la presencia o ausencia de receptor GABA_A en una muestra, se pueden incubar una muestra con compuesto tal y como se proporciona en la presente invención en condiciones que permiten la unión del compuesto al receptor GABA_A. A continuación, se detecta la cantidad de compuesto unido a receptor GABA_A en la muestra. Por ejemplo, se puede marcar un compuesto utilizando cualquier técnica conocida (por ejemplo, radiomarcado con un radionúcleo, tal como tritio, tal y como se ha descrito en la presente invención). Un tiempo de incubación adecuado se puede determinar generalmente mediante el ensayo del nivel de unión que tiene lugar durante un periodo de tiempo. Tras la incubación, se elimina el compuesto no unido, y se detecta el compuesto unido utilizando cualquier procedimiento para la marca utilizada (por ejemplo, autoradiografía o recuento por centelleo para compuestos radiomarcados; se pueden utilizar procedimientos espectroscópicos para detectar grupos luminiscentes y grupos fluorescentes). Como control, una muestra emparejada ("matched") se puede poner en contacto simultáneamente con compuesto radiomarcado y una cantidad mayor de compuesto no marcado. A continuación, el compuesto marcado no unido y no marcado se eliminan de la misma manera, y se detecta la marca unida. Una mayor cantidad de marca detectable en la muestra de prueba que en el control indica la presencia de receptor de capsaicina en la muestra. Los ensayos de detección, incluyendo la autoradiografía del receptor (mapeo del receptor) de receptores GABA en células cultivadas o muestras de tejido se pueden realizar tal y como se describe por Kuhar en las secciones 8.1.1 a 8.1.9 de *Current Protocols in Pharmacology* (1998) John Wiley and Sons, Nueva Cork.

Por ejemplo, los compuestos proporcionados en la presente invención se pueden utilizar para detectar receptores GABA_A en muestras de células o tejidos. Esto se puede realizar mediante la preparación de un conjunto de muestras de tejido o células emparejadas, por lo menos una de ellas se prepara como una muestra experimental y por lo menos una de ellas se prepara como una muestra de control. La muestra experimental se prepara mediante el contacto (en condiciones que permiten la unión de RO15-1788 a receptores GABA_A en muestras de células y tejidos) por lo menos una de las muestras de tejido o células emparejadas que no han estado en contacto previamente con ningún compuesto proporcionado en la presente invención, con una solución experimental que comprende una preparación detectablemente marcada del compuesto seleccionado en la primera concentración molar medida. La muestra de control se prepara de la misma manera que la muestra experimental y también contiene una preparación no marcada del mismo compuesto a una concentración molar superior.

A continuación, las muestras experimentales y de control se lavan para eliminar el compuesto detectablemente marcado no unido. La cantidad de compuesto detectablemente marcado unido restante se mide a continuación y se compara la cantidad de compuesto detectablemente marcado en las muestras experimentales y de control. Una comparación que indica la detección de una cantidad superior de marca detectable en por lo menos una muestra experimental lavada que la detectada en cualquiera de las muestras de control demuestra la presencia de receptor GABA_A en la muestra experimental.

El compuesto detectablemente marcado utilizado en este procedimiento se puede marcar con una marca radioactiva o una marca directa o indirectamente luminiscente. Cuando se utilizan secciones de tejidos en este procedimiento y el compuesto detectablemente marcado está radiomarcado, el compuesto marcado, unido, se puede detectar autoradiográficamente para generar un autoradiograma. La cantidad de marca detectable en una muestra de control o experimental se puede medir mediante la observación de los autoradiogramas y la comparación de la densidad de exposición de los autoradiogramas.

Los compuestos proporcionados en la presente invención también se pueden utilizar en una variedad de procedimientos de cultivo celular y de separación celular bien conocidos. Por ejemplo, los compuestos se pueden unir a la superficie interior de una placa de cultivo de tejido u otro soporte de cultivo celular para la utilización en la inmovilización de células que expresan receptores GABA_A para cribados, ensayos y crecimiento en el cultivo. Dicha unión se pueden realizar mediante cualquier técnica adecuada, tal como los procedimientos descritos anteriormente, así como otras técnicas estándar. Los compuestos también se pueden utilizar para facilitar la identificación celular y separación *in vitro*, permitiendo la selección de células que expresan un receptor GABA_A. Preferiblemente, el compuesto o compuestos para utilizar en dichos procedimientos se marcan tal y como se indica en la presente invención.

En una realización, un compuesto unido a un marcador fluorescente, tal como fluoresceína, se pone en contacto con las células, que a continuación se analizan mediante separación de células activadas por fluorescencia (FACS).

En otros aspectos, se proporcionan procedimientos para modular la unión de ligando a un receptor GABA_A *in vitro* o *in vivo*, que comprenden poner en contacto un receptor GABA_A con una cantidad suficiente de un compuesto proporcionado en la presente invención, en condiciones adecuadas para la unión del ligando al receptor. El receptor GABA_A puede estar presente en solución, en una preparación de células cultivadas o aisladas o en un paciente. Preferiblemente, el receptor GABA_A está presente en el cerebro de un mamífero. En general, la cantidad de compuesto en contacto con el receptor debería ser suficiente para modular la unión del ligando al receptor GABA_A *in vitro* en, por ejemplo, un ensayo de unión tal y como se describe en el Ejemplo 3.

En la presente invención también se proporcionan procedimientos para alterar la actividad de transducción de señal de receptor GABA_A celular (particularmente la conductancia del ión cloruro), mediante el contacto de receptor GABA_A, *in vitro* o *in vivo*, con una cantidad suficiente de un compuesto tal y como se ha descrito anteriormente, en condiciones adecuadas para la unión de ligando al receptor. El receptor GABA_A puede estar presente en solución, en una preparación de células cultivadas o aisladas o en un paciente, y la cantidad de compuesto puede ser una cantidad que sería suficiente para alterar la actividad de transducción de señal de receptores GABA_A *in vitro*. En general, la cantidad de compuesto en contacto con el receptor debería ser suficiente para modular la unión del ligando al receptor GABA_A *in vitro* en, por ejemplo, un ensayo de unión tal y como se describe en el Ejemplo 3. Un efecto en la actividad de transducción de señal se puede evaluar como una alteración en la electrofisiología de las células utilizando técnicas estándar. Si el receptor está presente en un animal, una alteración en la electrofisiología de la célula se puede detectar como un cambio en el cambio de comportamiento de alimentación del animal. La cantidad de un compuesto que sería suficiente para alterar la actividad de transducción de señal de receptores GABA_A se puede determinar mediante el ensayo de transducción de señal de receptor GABA_A, tal como el ensayo descrito en el Ejemplo 4. Las células que expresan los receptores GABA_A *in vivo* pueden ser, pero no se limitan a, células neuronales o células cerebrales. Dichas células pueden estar en contacto con compuestos de la presente invención mediante el contacto con un fluido corporal que contiene el compuesto, por ejemplo, mediante el contacto con fluido cerebrospinal. La alteración de la actividad de transducción de señal de receptores GABA_A *in vitro* se puede determinar a partir de un cambio detectable en la electrofisiología de células que expresan receptores GABA_A, cuando dichas células están en contacto con un compuesto de la presente invención en presencia de GABA.

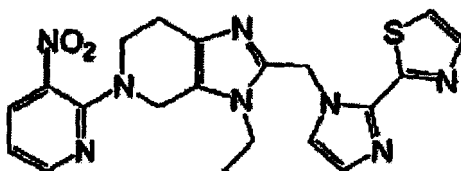
El registro intracelular o registro de pinzamiento zonal ("patch-clamp") se pueden utilizar para cuantificar cambios en la electrofisiología de células. Un cambio reproducible en el comportamiento de un animal al que se ha suministrado un compuesto de la presente invención también se puede utilizar para indicar que han tenido lugar cambios en la electrofisiología de las células del animal que expresan receptores GABA_A.

Los siguientes Ejemplos se ofrecen a modo de ilustración y no a modo de limitación. A menos que se especifique lo contrario todos los reactivos y disolventes son de grado comercial estándar y se utilizan sin purificación adicional. Los materiales de partida y varios intermedios se pueden obtener de fuentes comerciales, preparados a partir de compuestos orgánicos disponibles comercialmente, o preparados utilizando procedimientos sintéticos bien conocidos.

Ejemplos

Ejemplo 1

3-etil-5-(3-nitro-piridin-2-il)-2-(2-tiazol-2-il-imidazol-1-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidro-3H-imidazo[4,5-c] piridina (Compuesto 1)



Etapa 1: Una mezcla de diclorhidrato de 4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c] piridina (2,0 g, 12,5 mmol; preparado esencialmente tal y como se describe por Habermehl, E., *Heterocycles* 5:127,133 (1976)), 2-cloro-3-nitropiridina (1,7 g, 11,25 mmol) y K₂CO₃ (5,2 g, 37,5 mmol) en 25 ml de DMF se calienta a 50°C durante 4 horas y, a continuación, se deja enfriar hasta temperatura ambiente. A continuación, la mezcla se divide entre acetato de etilo y agua y se separan las capas. La fase acuosa se extrae posteriormente con acetato de etilo y los extractos orgánicos combinados se secan sobre Na₂SO₄, se filtra y se extraen los disolventes a presión reducida. La cromatografía en columna del residuo en gel de sílice (5% de MeOH en CH₂Cl₂ como eluyente) produce 5-(3-nitro-piridin-2-il)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c] piridina como un sólido amarillo (1,5 g). ¹H RMN δ (CDCl₃): 8,34 (d, 1H), 8,16 (dd, 1H), 7,53 (s, 1H), 6,74 (q, 1H), 4,31 (s, 2H), 3,94 (t, 2H) y 2,91 (t, 2H). MS: 246,3 (m+1).

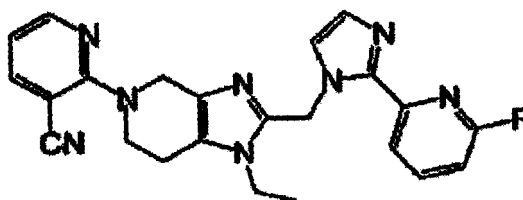
Etapa 2: A una solución de 5-(3-nitro-piridin-2-il)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c] piridina (400 mg, 1,63 mmol) en 10 ml de THF se añade NaH al 40% en aceite mineral (146 mg, 2,45 mmol). Después de agitar la mezcla durante 20 minutos, se añade yodoetano (760 mg, 4,89 mmol). La mezcla resultante se calienta a 50°C durante 3 horas y se deja enfriar hasta temperatura ambiente. La mezcla se divide entre acetato de etilo y agua y se separan las capas. La fase acuosa se extrae posteriormente con acetato de etilo y los extractos orgánicos combinados se secan sobre Na₂SO₄, se filtra y se extraen los disolventes a presión reducida. La cromatografía en columna del residuo en gel de sílice (5% de MeOH en CH₂Cl₂ como eluyente) produce una mezcla 4:1 de 1-etil-5-(3-nitro-piridin-2-il)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c] piridina y 3-etil-5-(3-nitro-piridin-2-il)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c] piridina (289 mg).

Etapa 3: Se calienta en un tubo sellado a 150°C y durante toda la noche una mezcla de 1-etil-5-(3-nitro-piridin-2-il)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c] piridina y 3-etil-5-(3-nitro-piridin-2-il)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c] piridina en formaldehído al 37% (5 ml). La mezcla se deja enfriar hasta temperatura ambiente y se evapora a presión reducida. El residuo resultante se divide entre acetato de etilo y agua y se separan las capas. La fase acuosa se extrae posteriormente con acetato de etilo y los extractos orgánicos combinados se secan sobre Na₂SO₄, se filtra y se extraen los disolventes a presión reducida. La cromatografía en columna del residuo en gel de sílice (5% de MeOH en CH₂Cl₂ como eluyente) produce [1-etil-5-(3-nitro-piridin-2-il)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il]-metanol (80 mg). ¹H RMN δ (CDCl₃): 8,33 (d, 1H), 8,15 (dd, 1H), 6,73 (q, 1H), 4,64 (s, 2H), 4,22 (s, 2H), 3,90-3,98 (m, 4H), 2,82 (t, 2H) y 1,36 (t, 3H). MS: 304,2 (m+1).

Etapa 4: Una solución de [1-etil-5-(3-nitro-piridin-2-il)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c]piridin-2-il]-metanol (40 mg) en SOCl₂ 1 M en CH₂Cl₂ (5 ml) se agita a temperatura ambiente durante 1 hora y, a continuación, se evapora a presión reducida. Una mezcla del residuo resultante, 2-tiazol-2-il-imidazol (20 mg; preparado tal y como se describe en el Ejemplo 2) y K₂CO₃ (90 mg) en 1 ml de DMF se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla se divide entre acetato de etilo y agua y se separan las capas. La fase acuosa se extrae posteriormente con acetato de etilo y los extractos orgánicos combinados se secan sobre Na₂SO₄, se filtra y se extraen los disolventes a presión reducida. La cromatografía en columna del residuo en gel de sílice (10% de MeOH en CH₂Cl₂ como eluyente) produce 3-etil-5-(3-nitro-piridin-2-il)-2-(2-tiazol-2-il-imidazol-1-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidro-3H-imidazo[4,5-c]piridina (16 mg). ¹H RMN (CDCl₃) δ: 8,33 (d, 1H), 8,18 (dd, 1H), 7,84 (d, 1H), 7,37 (d, 1H), 7,14 (s, 1H), 7,09 (s, 1H), 6,73 (q, 1H), 4,64 (s, 2H), 4,22 (s, 2H), 3,90-3,98 (m, 4H), 2,82 (t, 2H) y 1,36 (t, 3H).

Ejemplo 2

2-[1-etil-2-(6-fluoro-piridin-2-il)-imidazol-1-ilmetil]-1,4,6,7-tetrahidro-imidazo[4,5-c]piridin-5-il]-nicotinonitrilo (Compuesto 2)

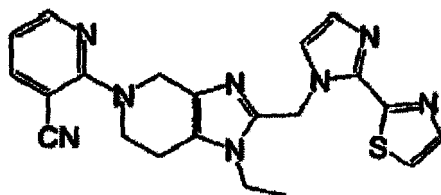


Etapa 1: El 2-(1-etil-2-hidroximetil-3,4,6,7-tetrahidroimidazo[4,5-c]piridin-5-il)-nicotinonitrilo se prepara según los procedimientos de las Etapas 1-3 anteriores. ¹H RMN (CDCl₃) δ: 8,40 (d, 1H), 7,78 (dd, 1H), 6,70 (m, 1H), 4,60-4,70 (m, 4H), 4,00 (m, 4H), 2,85 (t, 2H) y 1,38 (t, 3H).

Etapa 2: Una solución de 2-(1-etil-2-hidroximetil-3,4,6,7-tetrahidroimidazo[4,5-c]piridin-5-il)-nicotinonitrilo (40 mg) en SOCl₂ 1 M en CH₂Cl₂ (5 ml) se agita a temperatura ambiente durante 1 hora y, a continuación, se evapora a presión reducida. Una mezcla del residuo resultante, 2-(6-fluoro-piridin-2-il)-imidazol (25 mg; preparado tal y como se describe en el Ejemplo 2) y K₂CO₃ (100 mg) en 1 ml de DMF se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. La mezcla se divide entre acetato de etilo y agua y se separan las capas. La fase acuosa se extrae posteriormente con acetato de etilo y los extractos orgánicos combinados se secan sobre Na₂SO₄, se filtra y se extraen los disolventes a presión reducida. La cromatografía en columna del residuo en gel de sílice (10% de MeOH en CH₂Cl₂ como eluyente) produce 2-[1-etil-2-(6-fluoro-piridin-2-il)-imidazol-1-ilmetil]-1,4,6,7-tetrahidro-imidazo[4,5-c]piridin-5-il]-nicotinonitrilo (15 mg). ¹H RMN (CDCl₃) δ: 8,38 (d, 1H), 8,18 (dd, 1H), 7,90 (q, 1H), 7,78 (d, 1H), 7,20 (s, 1H), 7,05 (s, 1H), 6,90 (dd, 1H), 6,75 (m, 1H), 6,05 (s, 2H), 4,70 (s, 2H), 4,02 (m, 4H), 2,85 (t, 2H), 1,05 (t, 3H).

Ejemplo 3

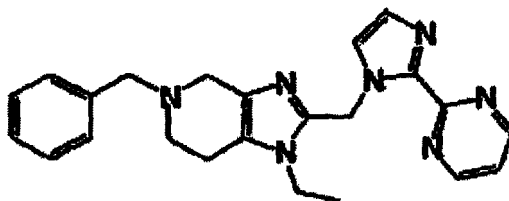
2-[1-etil-2-(2-tiazol-2-il-imidazol-1-ilmetil)-1,4,6,7-tetrahidro-imidazo[4,5-c]piridin-5-il]-nicotinonitrilo (Compuesto 3)



Se prepara el 2-[1-etil-2-(2-tiazol-2-il-imidazol-1-ilmetil)-1,4,6,7-tetrahidro-imidazo[4,5-c]piridin-5-il]-nicotinonitrilo según el procedimiento del Ejemplo 1B. ^1H RMN (CDCl_3) δ : 8,31 (d, 1H), 7,85 (d, 1H), 7,78 (m, 2H), 7,38 (d, 1H), 7,16 (s, 1H), 7,09 (s, 1H), 6,70 (m, 1H), 6,10 (s, 2H), 4,71 (s, 2H), 4,03 (t, 2H), 3,90 (q, 2H), 2,84 (t, 2H), 0,96 (t, 3H).

Ejemplo 4

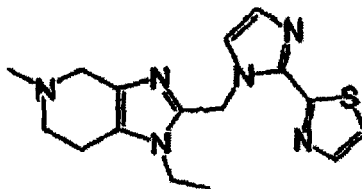
5-bencil-1-etil-2-(2-pirimidin-2-il-imidazol-1-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c]piridina (Compuesto 4)



Se pone a reflujo en un tubo sellado y durante toda la noche una mezcla de 1-etil-2-(2-pirimidin-2-il-imidazol-1-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]piridina (100 mg, preparada tal y como se describe en el Ejemplo 2) y bromuro de bencilo (42 mg) en 5 ml de acetona y, a continuación, se deja enfriar. El disolvente se decanta y se añaden 10 ml de MeOH al residuo. La solución resultante se transfiere a un matraz de 25 ml, se añade NaBH_4 en exceso a la solución. A continuación, la mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante aproximadamente 1 hora, se trata con 5 ml de una solución de HCl 1 N y se evapora. El residuo se basifica con una solución de NaOH 1N y se extrae con CH_2Cl_2 . El extracto orgánico se seca sobre Na_2SO_4 , se filtra y los disolventes se eliminan a presión reducida. La cromatografía en columna del residuo en gel de sílice (10% de MeOH en CH_2Cl_2 como eluyente) produce 5-bencil-1-etil-2-(2-pirimidin-2-il-imidazol-1-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c]piridina (50 mg). ^1H RMN (CDCl_3) δ : 8,85 (d, 1H), 7,20-7,40 (m, 8H), 7,10 (s, 1H), 6,05 (s, 2H), 3,80 (q, 2H), 3,70 (s, 2H), 3,55 (s, 2H), 2,78 (t, 2H), 2,58 (t, 2H), 0,96 (t, 3H).

Ejemplo 5

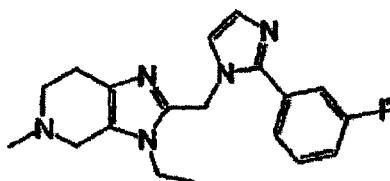
1-etil-5-metil-2-(2-tiazol-2-il-imidazol-1-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c]piridina (Compuesto 5)



A una solución de 1-etil-2-(2-tiazol-2-il-imidazol-1-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]piridina (58 mg, 0,187 mmol, preparada tal y como se describe en el Ejemplo 2) en acetona se añade yodometano (0,013 ml, ligeramente superior a un equivalente). La solución resultante se agita a 56°C en un tubo sellado hasta que la TLC indica la desaparición del material de partida y la formación de una mancha en la línea base. A continuación, se evapora la acetona y el residuo se disuelve en metanol y se trata con NaBH_4 en exceso. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante 3 horas y, a continuación, se trata con acetona para neutralizar el exceso de NaBH_4 . Después de la adición de NaOH acuoso 0,1 M, la mezcla se agita vigorosamente durante 5 minutos y, a continuación, se extrae tres veces con CH_2Cl_2 . Los extractos combinados se secan sobre K_2CO_3 y, a continuación, se concentran. El residuo se purifica mediante TLC, que se desarrolla con CHCl_3 -MeOH 15:1 (+0,5% de Et_3N). Rendimiento: 11 mg (18%). ^1H RMN (400 MHz, CDCl_3) 7,84 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 7,36 (d, $J = 3,2$ Hz, 1H), 7,10 (s, 1H), 7,08 (s, 1H), 6,06 (s, 2H), 3,82 (q, $J = 7,2$ Hz, 2H), 3,51 (s, 2H), 2,76 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 2,63 (t, $J = 5,6$ Hz, 2H), 2,52 (s, 3H), 0,92 (t, $J = 7,2$ Hz, 3H) ppm. MS por electrospray: m/z 329 $[\text{M}+1]$.

Ejemplo 6

3-etil-2-[2-(3-fluoro-fenil)-imidazol-1-ilmetil]-5-metil-4,5,6,7-tetrahidro-3H-imidazo[4,5-c]piridina (Compuesto 6)



A una mezcla de 3-etil-2-[2-(3-fluoro-fenil)-imidazol-1-ilmetil]-3H-imidazo[4,5-c]piridina (95 mg, 0,29 mmol, preparada tal y como se describe en el Ejemplo 2), yoduro de metilo (84 mg, 0,59 mmol) y acetona (8 ml) se calienta a 60°C durante 3 horas. La mezcla se enfría hasta temperatura ambiente y se concentra al vacío. El residuo se disuelve en etanol (8 ml), se trata poco a poco con borohidruro sódico (27 mg; 0,73 mmol), y se agita a temperatura ambiente durante 16 horas.

Se añade agua (2 ml), la mezcla se acidifica con HCl 2N, y se agita a temperatura ambiente durante 1 hora. A continuación, la mezcla se basifica con NaOH 2N, se extrae con diclorometano (3 x 80 ml), los extractos se lavan con agua (1 x 50 ml) y solución saturada de cloruro sódico (1 x 50 ml), se secan sobre sulfato de magnesio, y se concentran al vacío para obtener un goma amarilla. La purificación mediante una cromatografía preparativa en capa fina sobre gel de sílice, eluyendo con 10% de metanol en diclorometano, produce 3-etil-2-[2-(3-fluoro-fenil)-imidazol-1-ilmetil]-5-metil-4,5,6,7-tetrahidro-3H-imidazo[4,5-c]piridina como un aceite marrón claro (13 mg). LRMS calculado 339,41, hallado 340,2 (MH+).

Ejemplo 7

Preparación de intermedios representativos

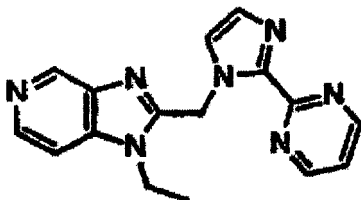
Este Ejemplo ilustra la síntesis de ciertos compuestos utilizados en la síntesis de los compuestos descritos anteriormente.

En general, los intermedios se pueden sintetizar utilizando procedimientos conocidos en la técnica. Por ejemplo, los siguientes intermedios se sintetizan tal y como se ha descrito en WO 02/50062:

Compuesto	Estructura	WO02/50062 Ejemplo que ilustra la síntesis
2-tiazol-2-il-imidazol		23
2-(6-fluoro-piridin-2-il)-imidazol		16
3-fluoro-(1H-imidazol-2-il)benceno		20

Otros intermedios útiles se pueden preparar tal y como se indica a continuación.

Ejemplo 8

1-etil-2-(2-pirimidin-2-il-imidazol-1-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]piridina

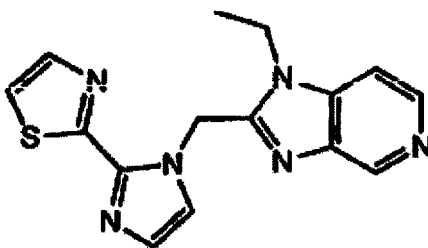
1. Éster metílico del ácido (2-pirimidin-2-il-imidazol-1-il)-acético

A una suspensión de clorhidrato de 2-(1H-imidazol-2-il)-pirimidina (1,4 g, 7,7 mmol) en THF (50 ml) se añade NaH al 40% en aceite mineral (675 mg, 15,4 mmol), la mezcla se agita a temperatura ambiente durante una hora, y se añade éster metílico del ácido bromoacético (1,3 g, 8,4 mmol). La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente durante toda la noche. Después de añadir una solución acuosa de NH₄Cl (50 ml), la mezcla se extrae con acetato de etilo (20 ml x 6) y CH₂Cl₂ (10 ml x 6). Los extractos orgánicos se combinan, se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran. El residuo resultante se purifica en una columna de gel de sílice con CH₂Cl₂/MeOH/NH₄OH 100:10:1 como eluyente para producir el compuesto del título (650 mg).

2. Etil-2-(2-pirimidin-2-il-imidazol-1-ilmetil)-1H-imidazo [4,5-c]piridina

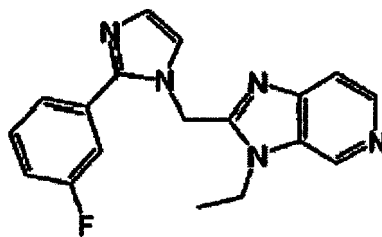
A una solución de N⁴-etil-piridina-3,4-diamina (Justus Liebigs Ann. Chem. (1935) 518, 274-287) (125 mg, 0,9 mmol) en diclorometano (10 ml) se añade una solución de AlMe₃ en tolueno (2 M, 1,37 ml) gota a gota en nitrógeno. Después de la adición, la mezcla se agita a temperatura ambiente durante una hora y se añade de golpe éster metílico del ácido (2-pirimidin-2-il-imidazol-1-il)-acético (100 mg, 0,45 mmol). La mezcla de reacción se calienta con agitación a 80°C durante 2 días. Después de enfriarse, la mezcla se neutraliza con 5 ml de agua, 2 gotas de NaOH 5 N y se extrae con CH₂Cl₂ (10 ml x 5). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran. El residuo se disuelve en 10 ml de ácido acético y la mezcla resultante se calienta a 100°C durante toda la noche. Después de eliminar el ácido acético al vacío, el residuo se basifica con una solución saturada de NaHCO₃ y se extrae con CH₂Cl₂ (10 ml x 5). Los extractos orgánicos combinados se secan sobre Na₂SO₄ y se concentran. El residuo se purifica en una columna de gel de sílice con CH₂Cl₂/MeOH 10:1 como eluyente para obtener el compuesto del título (40 mg). ¹H RMN (CDCl₃) δ: 9,09 (s, 1H), 8,85 (d, 2H), 8,46 (d, 1H), 7,26-7,30 (m, 3H), 7,16 (1H), 6,39 (s, 2H), 4,25 (q, 2H), 1,15 (t, 3H).

Ejemplo 9

1-etil-2-(2-tiazol-2-il-imidazol-1-ilmetil)-1H-imidazo[4,5-c]piridina

El compuesto del título se prepara a partir de N⁴-etil-piridina-3,4-diamina y éster metílico del ácido (2-tiazol-2-il-imidazol-1-il)-acético siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 8. ¹H RMN (CDCl₃) δ: 9,08 (s, 1H), 8,43 (d, 1H), 7,85 (d, 1H), 7,38 (d, 1H), 7,38-7,26 (m, 1H), 7,17 (s, 1H), 7,14 (s, 1H), 6,35 (s, 2H), 4,25 (q, 2H), 1,11 (t, 3H). MS por electrospray: m/z 311 [M + 1].

Ejemplo 10

3-etil-2-[2-(3-fluoro-fenil)-imidazol-1-ilmetil]-3H-imidazo[4,5-c]piridina

1. Preparación de 3-cloro-4-nitro-piridina-1-óxido

Se añadió H₂O₂ acuoso al 30% (60 ml) gota a gota a una solución agitada magnéticamente de 3-cloro-piridina (12 g, 105 mmol) en anhídrido acético (60 ml) en condiciones frías (0 a 10°C). La mezcla resultante se deja calentar lentamente hasta temperatura ambiente y se agita durante toda la noche. La mezcla de reacción se neutraliza con agua (50 ml), se diluye con tolueno y se concentra para obtener N-óxido crudo como un aceite que se utiliza sin purificación adicional.

Se añade H₂SO₄ fumante (25 ml) gota a gota a una solución de 3-cloro-piridina-1-óxido crudo en H₂SO₄ concentrado (25 ml) con enfriamiento (0°C) y agitación. Se añade HNO₃ (fumante, 90%, 60 ml) con precaución a la mezcla anterior con el cuidado de mantener la compensación de cualquier exotermia bajo control y, a continuación, se deja calentar lentamente hasta temperatura ambiente. A continuación, la mezcla resultante se calienta a 120°C durante 4 horas con agitación, se enfría y se vierte sobre agua enfriada con hielo y se extrae con CHCl₃. La fase orgánica combinada se lava sucesivamente con una solución acuosa saturada de NaHCO₃, agua, solución saturada de cloruro sódico, se seca sobre Na₂SO₄, y se concentra al vacío para obtener 3-cloro-4-nitro-piridina-1-óxido como un sólido amarillo (10 g); ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 8,31 (d, J = 1,5 Hz, 1H), 8,13 (dd, J = 1,5, 5,4 Hz, 1H), 7,95 (d, J = 7,2 Hz, 1H).

2. Preparación de 3-etilamino-4-nitro-piridina-1-óxido

Se suspende K₂CO₃ anhidro (19 g, 144,5 mmol) en una solución de 3-cloro-4-nitro-piridina-1-óxido (10 g, 57,8 mmol) en acetonitrilo anhidro (100 ml). Se añade dietilamina en exceso (2,0 M) en THF a la suspensión anterior con enfriamiento en baño de hielo. Tras completar la adición de etilamina, la mezcla de reacción se deja calentar hasta temperatura ambiente y se agita durante toda la noche. La mezcla de reacción se filtra para eliminar el K₂CO₃ y el filtrado se evapora a presión reducida para eliminar los disolventes volátiles. El residuo orgánico se somete a cromatografía eluyendo con 30% de EtOAc-hexanos para obtener 3-etilamino-4-nitro-piridina-1-óxido como un sólido naranja (8,2 g); ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 8,01 (d, J = 7,5 Hz, 1H), 7,91 (s, 1H), 7,8 (brs, NH), 7,44 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 3,30 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 1,39 (t, J = 7,2 Hz, 3H), m/z 184 [M+1].

3. Preparación de N³-etil-piridina-3,4-diamina

Una solución de 3-etilamino-4-nitro-piridina 1-óxido (1,5 g, 8,19 mmol), en metanol (30 ml) se hidrogena sobre Pd-C 10% (1,5 g) a 50-60 psi durante 48 horas. El catalizador se elimina mediante filtración a través de una almohadilla de ceolita y el disolvente se evapora al vacío para obtener N³-etil-piridina-3,4-diamina como un sólido blanco (1 g); ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 7,59 (s, 1H), 7,57 (d, J = 2,4 Hz, 1H), 6,56 (d, J = 5,4 Hz, 1H), 3,20 (t, J = 7,2 Hz, 2H), 1,29 (t, J = 7,2 Hz, 3H), m/z 138 [M+1].

El compuesto del título, 3-etil-2-[2-(3-fluorofenil)-1H-imidazol-1-il]metil}-3H-imidazo[4,5-c]piridina se prepara a partir de N³-etil-piridina-3,4-diamina y éster metílico del ácido (2-(3-fluorofenil)-imidazol-1-il)-acético siguiendo el procedimiento descrito en el Ejemplo 2A. ¹H RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 8,78 (s, 1H), 8,47 (d, J = 6 Hz, 1H), 7,68 (d, J = 6 Hz, 1H), 7,37-7,50 (m, 3H), 7,16-7,20 (m, 2H), 7,04 (s, 1H), 5,52 (s, 2H), 3,89 (q, J = 7 Hz, 2H), 1,08 (t, J = 7 Hz, 3H).

Ejemplo 11

Ensayo de unión de ligando

La afinidad elevada de compuestos de la presente invención por el sitio de benzodiazepina del receptor GABA_A se confirmó utilizando un ensayo de unión descrito esencialmente por Thomas y Tallman (*J. Bio. Chem.* (1981) 156:9838-9842, y *J. Neurosci.* (1983) 3:433-440).

Se diseccionó tejido cortical de rata y se homogenizó en 25 volúmenes (p/v) de Tampón A (0,05 M de tampón Tris HCl, pH 7,4 a 4°C). El homogenato de tejido se centrifugó en frío (4°C) a 20.000 x g durante 20 minutos. El sobrenadante se decantó, el pélet se rehomogeneizó en el mismo volumen de tampón y se centrifugó de nuevo a 20.000

x g. El sobrenadante de esta etapa de centrifugación se decantó y el pélet se guardó a -20°C durante toda la noche. A continuación, el pélet se descongeló y se resuspendió en 25 volúmenes de Tampón A (p/v original), se centrifugó a 20.000 x g y el sobrenadante se decantó. Esta etapa de lavado se repitió una vez más. El pélet se resuspendió finalmente en 50 volúmenes de Tampón A.

Las incubaciones contenían 100 μl de homogenato de tejido, 100 μl de radioligando, (0,5 nM $^3\text{H-Ro15-1788}$ [$^3\text{H-Flumazenil}$], actividad específica 80 Ci/mmol) y compuesto de prueba o control (ver posteriormente), y se llevó a un volumen total de 500 μl con Tampón A. Las incubaciones se llevaron a cabo durante 30 minutos a 4°C y, a continuación, se filtraron rápidamente a través de filtros Whatman GFB para separar ligando libre y unido. Los filtros se lavaron dos veces con Tampón A nuevo y se contaron en un contador de centelleo líquido. La unión no específica (control) se determina mediante el desplazamiento de $^3\text{H-Ro15-1788}$ con 10 μM de Diazepam (Research Biochemicals Internacional, Natick, MA). Los datos se recogieron por triplicado, se promediaron y se calculó para cada compuesto el porcentaje de inhibición de la unión específica total (Unión Específica Total = Total - No específica).

Se obtuvo una curva de unión por competición con hasta 11 puntos que comprenden el intervalo de concentración del compuesto entre 10^{-12} M y 10^{-5} M obtenido para cada curva mediante el procedimiento descrito anteriormente para determinar el porcentaje de inhibición. Los valores de K_i se calcularon según la ecuación de Cheng-Prusoff. Cada uno de los compuestos descritos anteriormente se ensayaron de este modo y se encontró que cada uno tenía una K_i inferior a 1 μM . Los compuestos preferidos de la presente invención muestran valores de K_i inferiores a 100 nM y los compuestos más preferidos de la presente invención muestran valores de K_i inferiores a 10 nM.

Ejemplo 12

Electrofisiología

El siguiente ensayo se utiliza para determinar si un compuesto de la presente invención actúa como un agonista, un antagonista o un agonista inverso en el sitio de benzodiazepina del receptor GABA_A .

Los ensayos se llevan a cabo esencialmente tal y como se describen en White y Gurley (NeuroReport 6:1313-1316, 1995) y White, Gurley, Hartnett, Stirling y Gregory (Receptors and Channels 3:1-5, 1995) con modificaciones. Los registros electrofisiológicos se llevan a cabo utilizando la técnica de fijación de voltaje con dos electrodos a una membrana que mantiene un potencial de -70 mV. Se aíslan enzimáticamente oocitos de *Xenopus laevis* y se inyectan con ARNc no poliadenilado mezclado en una proporción de 4:1:4 para subunidades α , β y γ , respectivamente. De las nuevas combinaciones de subunidades α , β y γ descritas en las publicaciones de White *et al.*, las combinaciones preferidas son $\alpha_1\beta_2\gamma_2$, $\alpha_2\beta_3\gamma_2$, $\alpha_3\beta_3\gamma_2$ y $\alpha_5\beta_3\gamma_2$. Preferiblemente, todos los ARNcs de las subunidades de cada combinación son clones humanos o son clones de rata. La secuencia de cada una de estas subunidades clonadas está disponible en el GENBANK, por ejemplo, α_1 humano, GENBANK no. de acceso X14766, α_2 humano, GENBANK no. de acceso A28100; α_3 humano, GENBANK no. de acceso A28102; α_5 humano, GENBANK no. de acceso A28104; β_2 humano, GENBANK no. de acceso M82919; β_3 humano, GENBANK no. de acceso Z20136; γ_2 humano, GENBANK no. de acceso X15376; α_1 de rata, GENBANK no. de acceso L08490, α_2 de rata, GENBANK no. de acceso L08491; α_3 de rata, GENBANK no. de acceso L08492; α_5 de rata, GENBANK no. de acceso L08494; β_2 de rata, GENBANK no. de acceso X15467; β_3 de rata, GENBANK no. de acceso X15468; y γ_2 de rata, GENBANK no. de acceso L08497. Para cada combinación de subunidades, se inyecta suficiente mensaje para cada subunidad constituyente para proporcionar amplitudes de corriente superiores a 10 nA cuando se aplica GABA 1 μM .

Los compuestos se evalúan contra una concentración de GABA que induce menos de un 10% de la corriente de GABA máxima inducible (por ejemplo, 1 μM -9 μM). Cada oocito se expone a concentraciones crecientes de un compuesto en evaluación (compuesto de prueba) con el fin de evaluar una relación concentración/efecto. La eficacia del compuesto de prueba se calcula como el cambio en el porcentaje en la amplitud de corriente; $100 \cdot ((I_c/I) - 1)$, donde I_c es la amplitud de corriente inducida por GABA observada en presencia del compuesto de prueba e I es la amplitud de corriente inducida por GABA observada en ausencia del compuesto de prueba.

La especificidad de un compuesto de prueba por el sitio de benzodiazepina se determina tras la realización de la curva concentración/efecto. Tras lavar el oocito suficientemente para eliminar el compuesto de prueba aplicado previamente, el oocito se expone a GABA + 1 μM R015-1788, seguido de la exposición a GABA + 1 μM R015-1788 + compuesto de prueba. El cambio del porcentaje debido a la adición de compuesto se calcula tal y como se ha descrito anteriormente. Cualquier cambio en el porcentaje observado en presencia de R015-1788 se resta de los cambios en el porcentaje de la amplitud de corriente observada en ausencia de 1 μM de R015-1788. Estos valores netos se utilizan para el cálculo de la eficacia promedio y los valores EC_{50} mediante procedimientos estándares. Para evaluar la eficacia promedio y los valores EC_{50} , los datos de concentración/efecto se promedian entre células y se ajustan a la ecuación logística.

Ejemplo 13

Ensayo de citotoxicidad de MDCK

Este Ejemplo ilustra la evaluación de la toxicidad del compuesto utilizando un ensayo de toxicidad de células de riñón canino Madin Darby (MDCK).

ES 2 273 008 T3

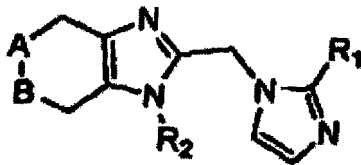
Se añade 1 μ l de compuesto de prueba a cada pocillo de una placa de 96 pocillos con la base limpia (PACKARD, Meriden, CT) para obtener una concentración final de compuesto en el ensayo de 10 micromolar, 100 micromolar o 200 micromolar. Se añade disolvente sin compuesto de prueba a los pocillos de control.

Las células MDCK, ATCC no. CCL-34 (American Type Culture Collection, Manassas, VA) se mantienen en condiciones estériles siguiendo las instrucciones de la hoja de información de producción de ATCC. Las células MDCK confluentes se tratan con tripsina, se recogen y se diluyen hasta una concentración de $0,1 \times 10^6$ células/ml con un medio (Medio Esencial Mínimo Eagle VITACELL, ATCC catálogo # 30-2003) caliente (37°C). Se añaden 100 μ l de células diluidas a cada pocillo, a excepción de cinco pocillos de control para la curva estándar que contienen 100 μ l de medio caliente sin células. A continuación, la placa se incuba a 37°C bajo un 95% de O₂ y un 5% de CO₂ durante 2 horas con agitación constante. Tras la incubación, se añaden 50 μ l de solución de lisis de células de mamífero por pocillo, los pocillos se cubren con etiquetas PACKARD TOPSEAL, y las placas se agitan a aproximadamente 700 rpm en un agitador adecuado durante 2 minutos.

Los compuestos que provocan toxicidad disminuirán la producción de ATP, en relación a células no tratadas. Generalmente se utiliza el kit de detección de ATP luminiscente ATP-LITE-M de PACKARD (Meriden, CT), producto no. 6016941 según las instrucciones del fabricante para medir la producción de ATP en células MDCK tratadas y no tratadas. Los reactivos de ATP-LITE-M de PACKARD se dejan equilibrar hasta temperatura ambiente. Una vez equilibrados, la solución de sustrato liofilizada se reconstituye en 5,5 ml de solución de tampón de sustrato (del kit). La solución estándar de ATP liofilizada se reconstituye en agua desionizada para obtener una reserva de 10 mM. Para los cinco pocillos de control, se añaden 10 μ l de estándar PACKARD diluidos en serie a cada uno de los pocillos de control para la curva estándar hasta obtener una concentración final en cada uno de los siguientes pocillos de 200 nM, 100 nM, 50 nM, 25 nM y 12,5 nM. La solución de sustrato de PACKARD (50 μ l) se añade a todos los pocillos, los cuales a continuación se cubren y las placas se agitan a aproximadamente 700 rpm en un agitador adecuado durante 2 minutos. Se pega una etiqueta PACKARD blanca en la base de cada placa y las muestras se adaptan a la oscuridad envolviendo las placas en papel de aluminio y colocándolas en la oscuridad durante 10 minutos. A continuación, se mide la luminiscencia a 22°C utilizando un contador de luminiscencia (por ejemplo, Contador de Centelleo y Luminiscencia de Microplaca PACKARD TOPCOUNT o TECAN SPECTRAFLUOR PLUS), y se calculan los niveles de ATP a partir de la curva estándar. Los niveles de ATP en las células tratadas con el compuesto o compuestos de prueba se comparan con los niveles determinados para células no tratadas. Las células tratadas con 10 μ M de un compuesto de prueba preferido muestran niveles de ATP que son por lo menos de un 80%, preferiblemente de por lo menos de un 90%, de las células no tratadas. Cuando se utiliza una concentración de 100 μ M del compuesto de prueba, las células tratadas con compuestos de prueba preferidos muestran niveles de ATP que son por lo menos de un 50%, preferiblemente de por lo menos de un 80%, de los niveles de ATP detectados en células no tratadas.

REIVINDICACIONES

1. Compuesto de fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, donde:

R_1 representa arilo o heteroarilo de 5 a 10 miembros, cada uno no sustituido o sustituido con 1 a 4 grupos seleccionados independientemente de R_5 ;

R_2 representa alquilo C_1-C_8 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , cicloalquilo C_3-C_{10} o (cicloalquil C_3-C_{10}) alquilo C_1-C_8 , cada uno no sustituido o sustituido con 1 a 3 sustituyentes seleccionados independientemente de R_5 ;

o bien:

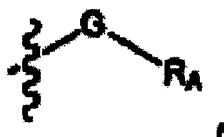
(a) A es CH_2 y B es NR_3 o CR_3R_6 ; o

(b) B es CH_2 y A es NR_3 o CR_3R_6 ;

R_3 se selecciona de entre:

(a) hidrógeno, halógeno, nitro y ciano; y

(b) grupos de fórmula:



en la que: (i) G es un enlace, alquilo C_1-C_8 , $-NH-$, $-N(R_B)-$, $-(R_B)N-O-$, $-C(=O)-$, $-C(=O)NH-$, $-C(=O)NR_B-$, $-S(O)_m-$, $-CH_2C(=O)-$, $-S(O)_mNH-$, $-S(O)_mNR_B-$, $-NHC(=O)-$, $-C(=NR_B)-$, $HC=N-$, $-NR_BC(=O)-$, $-NHS(O)_m-$ o $-NR_BS(O)-$; (ii) R_A y R_B se seleccionan independientemente de entre alquilo C_1-C_8 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 y carbociclos y heterociclos de 3 a 12 miembros, saturados, parcialmente insaturados y aromáticos que tienen 1 anillo o 2 fusionados, anillos colgantes y/o espiro, donde cada anillo está no sustituido o sustituido con 1 a 4 sustituyentes seleccionados independientemente de R_5 ; y (iii) m es 0, 1 ó 2;

con la condición de que si A o B son NR_3 , entonces R_3 no es halógeno y G no es $-NH-$, $-N(R_B)-$, $-O-$, $-NHC(=O)-$, $-NR_BC(=O)-$, $-NHS(O)_m$ o $-NR_BS(O)-$;

R_5 se selecciona independientemente cada vez de entre halógeno, hidroxilo, nitro, ciano, amino, alquilo C_1-C_8 , alcoxi C_1-C_8 , mono- y di-(alquil C_1-C_8) amino, cicloalquilo C_3-C_{10} , (cicloalquil C_3-C_{10}) alquilo, (cicloalquil C_3-C_{10}) alcoxi, heterocicloalquilo C_2-C_9 , alquenilo C_2-C_8 , alquinilo C_2-C_8 , halo alquilo (C_1-C_8), halo alcoxi (C_1-C_8), oxo, amino alquilo (C_1-C_8) y mono- y di-(alquil C_1-C_8) amino alquilo C_1-C_8 ; y

R_6 es hidrógeno o alquilo C_1-C_6 .

2. Compuesto o sal según la reivindicación 1, en los que R_1 es un arilo o heteroarilo de 5 ó 6 miembros, no sustituidos o sustituidos con 1 a 3 grupos seleccionados independientemente de R_5 .

3. Compuesto o sal según la reivindicación 2, en los que R_1 es fenilo, piridilo, pirimidilo o tiazolilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con 1 a 3 grupos seleccionados independientemente de entre halógeno, alquilo C_1-C_6 , halo alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 y halo alcoxi C_1-C_6 .

4. Compuesto o sal según la reivindicación 3, en los que R_1 es piridilo, pirimidilo o tiazolilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con 1 ó 2 halógenos.

5. Compuesto o sal según la reivindicación 1, en los que R_2 es alquilo C_1-C_6 o halo alquilo C_1-C_6 .

6. Compuesto o sal según la reivindicación 5, en los que R_2 es alquilo C_1-C_4 .

7. Compuesto o sal según la reivindicación 1, en los que R_3 se selecciona de entre hidrógeno, halógeno, alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 , halo alquilo C_1-C_6 , y carbociclos y heterociclos aromáticos de 5 a 7 miembros, donde los carbociclos y heterociclos están no sustituidos o sustituidos con 1 a 3 sustituyentes elegidos independientemente de entre halógeno, nitro, ciano, trifluorometilo y metilo.

8. Compuesto o sal según la reivindicación 7, en los que R_3 es alquilo C_1-C_4 .

9. Compuesto o sal según la reivindicación 7, en los que R_3 es fenilo, piridilo o pirimidilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con 1 ó 2 sustituyentes elegidos independientemente de entre halógeno, nitro, ciano, trifluorometilo y metilo.

10. Compuesto o sal según la reivindicación 1, en los que A o B son NR_3 .

11. Compuesto o sal según la reivindicación 1, en los que A o B son CR_3R_6 .

12. Compuesto o sal según la reivindicación 1, en los que:

R_1 es fenilo, piridilo o pirimidilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con 1 a 3 grupos seleccionados independientemente de entre halógeno, alquilo C_1-C_6 , halo alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 y halo alcoxi C_1-C_6 ;

R_2 es alquilo C_1-C_4 ;

R_3 es fenilo, piridilo o pirimidilo opcionalmente sustituidos; y

R_6 es hidrógeno.

13. Compuesto o sal según la reivindicación 1, en los que:

R_1 es tiazolilo;

R_2 es alquilo C_1-C_4 ;

R_3 es fenilo, piridilo o pirimidilo opcionalmente sustituidos; y

R_6 es hidrógeno.

14. Compuesto o sal según la reivindicación 1, en los que:

R_1 es fenilo, piridilo o pirimidilo, cada uno de los cuales está no sustituido o sustituido con 1 a 3 grupos seleccionados independientemente de entre halógeno, alquilo C_1-C_6 , halo alquilo C_1-C_6 , alcoxi C_1-C_6 y halo alcoxi C_1-C_6 ;

R_2 es alquilo C_1-C_4 ;

A o B son CR_3R_6 ; y

R_3 y R_6 se seleccionan independientemente de entre hidrógeno y metilo.

15. Compuesto según la reivindicación 1, en el que en un ensayo de unión al receptor $GABA_A$, el compuesto muestra una K_i de 1 micromolar o inferior.

16. Compuesto según la reivindicación 1, que es 3-etil-5-(3-nitro-piridin-2-il)-2-(2-tiazol-2-il-imidazol-1-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidro-3H-imidazo[4,5-c]piridina;

2-[1-etil-2-(6-fluoro-piridin-2-il)-imidazol-1-ilmetil]-1,4,6,7-tetrahidro-imidazo[4,5-c]piridin-5-il]-nicotinonitrilo;

2-[1-etil-2-(2-tiazol-2-il-imidazol-1-ilmetil)-1,4,6,7-tetrahidro-imidazo[4,5-c]piridin-5-il]-nicotinonitrilo;

5-bencil-1-etil-2-(2-pirimidin-2-il-imidazol-1-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c]piridina;

1-etil-5-metil-2-(2-tiazol-2-il-imidazol-1-ilmetil)-4,5,6,7-tetrahidro-1H-imidazo[4,5-c]piridina; o

es 3-etil-2-[2-(3-fluoro-fenil)-imidazol-1-ilmetil]-5-metil-4,5,6,7-tetrahidro-3H-imidazo[4,5-c]piridina.

17. Composición farmacéutica que comprende un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, combinado con un portador o excipiente fisiológicamente aceptable.

18. Utilización de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 o una composición farmacéutica según la reivindicación 17 en la fabricación de un medicamento destinado a potenciar un efecto terapéutico de un agente del SNC.

19. Utilización de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 o una composición farmacéutica según la reivindicación 17 para utilizar en la fabricación de un medicamento destinado a mejorar la memoria a corto plazo en un paciente.

20. Procedimiento para determinar la presencia o ausencia de receptor $GABA_A$ en una muestra, que comprende las etapas de:

(a) poner en contacto una muestra con un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16, en condiciones que permiten la unión del compuesto al receptor $GABA_A$; y

(b) detectar un nivel de compuesto unido a receptor $GABA_A$ y, a continuación, determinar la presencia o ausencia de receptor $GABA_A$ en la muestra.

21. Utilización de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 o una composición farmacéutica según la reivindicación 17, para utilizar en la fabricación de un medicamento destinado a alterar la actividad de transducción de señal de receptor $GABA_A$, que se pone en contacto con el compuesto o composición farmacéutica en una cantidad suficiente para alterar de forma detectable la electrofisiología de la célula, y alterar así la actividad de transducción de señal de receptor $GABA_A$.

22. Utilización de un compuesto según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 16 o la composición farmacéutica según la reivindicación 17, para la fabricación de un medicamento destinado al tratamiento de la ansiedad, depresión, un trastorno del sueño, un trastorno del déficit de atención o demencia de Alzheimer.