



00 87101

DE
DE
IN

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 00057101 00000000 Folios: 59
Fecha (DD): 2000-12-21 15:50:53
Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTE
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

DATOS DEL SOLICITANTE

(71) Nombres y Apellidos o Razón Social ASTRAZENECA AB, sociedad existente y organizada de conformidad con las leyes de Suecia.

No. de Identificación

Representante Legal (Persona Jurídica) JOSE ANTONIO LLORED A

País de Domicilio Suecia

Departamento o Estado

Dirección S-151 85 Södertälje, Suecia.

Ciudad Södertälje.

Teléfono 46 8 553 260 00

(74) DATOS DEL REPRESENTANTE LEGAL

Nombre JOSE ANTONIO LLORED A

Dirección y Domicilio Calle 72 No. 5-83 Piso 6, Santafé de Bogotá, Colombia

Ciudad Bogotá Teléfono 326 42 70

DATOS DEL INVENTOR

(72) Nombre del Inventor(es) Vernon Alford, Thomas Michael Bare, Dean Gordon Brown, Megan Murphy, Rebecca Ann Urbanek, Wenhua Xiao y Frances Marie McLaren.

Identificación El primero, tercero, cuarto, quinto y sexto inventor reside en: AstraZeneca 1800 Concord Pike P.O. Box 15437 Wilmington DE 19850-5437.

Dirección el segundo inventor reside en: 1057 Windy Knoll Road West Chester Pennsylvania 19382, Estados Unidos de America

Ciudad Teléfono 46 8 553 260 00

DATOS DE LA PATENTE DE INVENCION

(54) Título de la Invención "MÉTODO Y COMPOSICIÓN PARA EL TRATAMIENTO DEL DOLOR"

PRIORIDAD REIVINDICADA SI ☒ NO ☐ TIPO DE PRIORIDAD ANDINA ☒ UNIONISTA ☐
D.486

(33) País US (32) Fecha 23-12-99 (31) No. Solicitud 60/171.906
US 29-09-00 60/236.835

Para Publicar a los ☒ 6 meses ☐ 12 meses ☐ 18 meses a partir de la fecha de la presente Solicitud

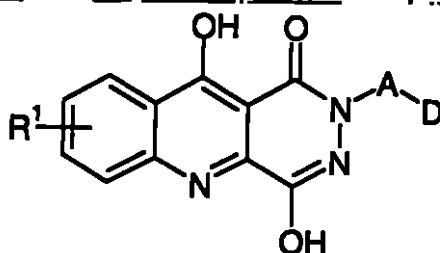
23 JUN. 2001

(51) CLASIFICACION INTERNACIONAL

A61K 31/4745

RESUMEN CON EL OBJETO Y LA FINALIDAD DE LA INVENCION

Se revela un método para el tratamiento del dolor que comprende la administración de una cantidad efectiva para mejorar el dolor de cualquier compuesto de acuerdo con el diagrama estructural I:



donde: A, D y R1 son como se definen en la especificación. También se revelan composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad efectiva para mejorar el dolor de un compuesto de acuerdo con el diagrama estructural I.

ANEXOS DE LA SOLICITUD

- | | |
|--|-------------------------------------|
| Certificado de Existencia y Representación Legal cuando el solicitante sea Persona Jurídica | ☐ |
| El documento de representación legal debidamente otorgado, o mención de su protocolización ante la S.I.C. | ☐ |
| Recibo de la tasa respectiva \$608.000,00 | ☒ |
| Recibo de la tasa por concepto de excedente de palabras en la publicación | ☐ |
| Si se reivindica prioridad Andina: | |
| Copia dela primera solicitud | ☐ |
| Traducción oficial | ☐ |
| Si se reivindica prioridad Unionista: | |
| Copia certificada de la primera solicitud: | ☐ |
| Nota: Debe presentarse dentro de los cuatro (4) meses, contados a partir de la fecha de radicación de la solicitud posterior | |
| Traducción Simple | ☐ |
| Capítulo descriptivo | ☒ |
| Dibujos, planos necesarios | ☐ |
| Capítulo reivindicatorio | ☒ |
| Tarjeta archivo propietarios según formato | ☒ |
| Tarjeta archivo temático según formato | ☒ |
| Extracto para publicación según formato | ☒ |
| Arte final 12 x 12 cms. y 6x6 cms | ☐ |
| Otros Documentos | ☐ |
| Nota: Anexo información sobre la fuente normativa de reciprocidad | ☒ |

SOLICITO LA CONCESIÓN DE LA PATENTE DE INVENCION Y DECLARO QUE LA INVENCION ES NUEVA Y DE MI PROPIEDAD

FIRMA

NOMBRE JOSE ANTONIO FLOREDA

C.C. 17.159.681 de Bogotá TP No. 10.784



2

Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

NIT : 800176089-2

SUPERINDUSTRIA Y COMERCIO
Radicación : 00097101 00000000

Folios: 39

Fecha (UND): 2000-12-21 15:50:53

Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONESRECIBO OFICIAL DE CAJA : 77,020
FECHA : DICIEMBRE 18 DE 2000

***** CONSIGNACION *****

DEPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	SUCURSAL	CUENTA	Nº. PAGO	Vr. PAGO
JOSE LLOREDA CAMACHO & COCONSIGNACION		BANCO POPULAR	BOGOTA	050-00110-6	2537890	11,326,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
1		TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	608,000.00
		TOTAL :	\$ 600,000.00

SON: SEISCIENTOS OCHO MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL EXPEDIENTE No. _____

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 350 5220
e-mail: Info@sic.gov.co
www.sic.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia

ANEXO

Atentamente manifiesto a usted que la fuente normativa de la reciprocidad de la cual se deriva el derecho del solicitante para reivindicar prioridad en el presente caso, se encuentra:

- a) En el Artículo 2 del Anexo 1C, Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio, del Acuerdo por el cual se establece la "Organización Mundial de Comercio (OMC)" suscrito en Marruecos el 15 de abril de 1994. Este acuerdo fue aprobado por el Congreso de Colombia mediante Ley 170 de 1994 y por la Corte Constitucional Colombiana mediante Sentencia C-137-95 de 28 de marzo de 1995, y entró en vigencia en nuestro país el 30 de abril de 1995, 30 días después de su ratificación.

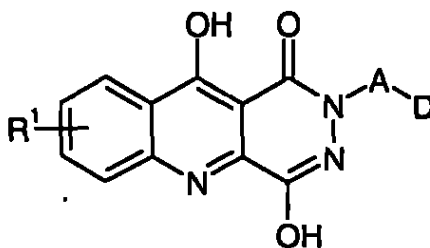
Dicho Artículo establece que en lo que respecta a las partes II, III y IV del Acuerdo (referidas a la existencia, alcance y ejercicio de los derechos de propiedad intelectual, entre otros) los Miembros cumplirán los artículos 1 a 12 y el Artículo 19 del Convenio de París —el Artículo que establezca la prioridad de las patentes de invención es el Artículo 4—

- b) En el Artículo 4 del mencionado Anexo 1C, Aspectos de los Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio, del Acuerdo por el cual se establece la Organización Mundial de Comercio (OMC), el cual consagra el "Trato de la nación más favorecida" para los países Miembros del mismo.
 - c) En el Artículo 4 del Convenio de París, del cual ya era parte Colombia en el momento en que se presentó la solicitud cuyas prioridades ahora reivindico, con lo cual se cumple la reciprocidad exigida en el Artículo 9 de la Decisión 486 del Acuerdo de Cartagena para con solicitudes provenientes del País Miembro del Acuerdo de Cartagena.
-

TITULO: MÉTODO Y COMPOSICIÓN PARA EL TRATAMIENTO DEL DOLOR

Resumen: Objeto y Finalidad de la Invención

Se revela un método para el tratamiento del dolor que comprende la administración de una cantidad efectiva para mejorar el dolor de cualquier compuesto de acuerdo con el diagrama estructural I:



I

donde: A, D y R¹ son como se definen en la especificación. También se revelan composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad efectiva para mejorar el dolor de un compuesto de acuerdo con el diagrama estructural I.

MÉTODO Y COMPOSICIÓN PARA EL TRATAMIENTO DEL DOLOR

Campo de la Invención

Esta invención se relaciona con el tratamiento o prevención del dolor o nocicepción.

Técnica Relacionada

El dolor es una experiencia sensorial distinta a las sensaciones del tacto, presión, calor y frío. Es con frecuencia descrito por quienes lo sufren en términos de una sensación radiante, embotada, doliente, picante, cortante, o ardiente y en general se considera que incluye tanto la sensación original como y la sensación de reacción. Este rango de sensaciones, así como también la variación en la percepción del dolor por parte de individuos distintos, hace que la definición precisa del dolor sea difícil, sin embargo, muchos individuos sufren de dolor severo y continuo.

El dolor que es causado por daño de las estructuras neurales se manifiesta con frecuencia como una supersensibilidad neural o hiperalgesia y se conoce como dolor "neuropático". El dolor puede también ser "causado" por la estimulación de receptores nociceptivos y transmitido por rutas neurales intactas, tal dolor es llamado dolor "nociceptivo".

2

El nivel de estimulación al cual el dolor se hace notorio es referido como el "umbral de dolor." Los analgésicos son agentes farmacéuticos que alivian el dolor al elevar el umbral de dolor sin una pérdida de la conciencia. Después de la administración de un fármaco analgésico se requiere un estímulo de mayor intensidad o se requiere una mayor duración antes de que se experimente dolor. En un individuo que sufre de hiperalgesia un medicamento analgésico puede tener un efecto anti-hiperalgésico. En contraste a los analgésicos, agentes tales como los anestésicos locales bloquean la transmisión en las fibras nerviosas periféricas bloqueando así la conciencia del dolor. Los anestésicos generales, por otro lado, reducen la conciencia del dolor al producir una pérdida de la conciencia.

Se ha reportado que los antagonistas Tachykinin inducen antinocicepción en animales, lo que se cree que es análogo a la analgesia en el hombre (Maggi et al, J. Auton. Pharmacol. (1993) 13, 23-93). En particular, los antagonistas no-péptidos del receptor NK-1 se ha demostrado que producen tal analgesia. Por ejemplo, el antagonista de receptor NK-1 RP 67,580 produjo analgesia con potencia comparable a la de la morfina (Garret et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1993) 88, 10208-10212).

Los analgésicos opioides son una clase bien establecida de agentes analgésicos con acción similar a la morfina. Los analgésicos opioides sintéticos y semi-sintéticos son derivados de cinco clases de compuestos químicos: fenantrenos; fenilheptilaminas; fenilpiperidinas; morfinanos; y benzomorfanos. Farmacológicamente estos compuestos tienen diversas actividades, de modo que algunos son agonistas fuertes de los receptores opioides (p.e. -morfina); otros son agonistas moderados o suaves (p.e. codeína); otros exhiben además actividad mezclada agonista-antagonista (p.e. nalbufina); y aún otros son agonistas parciales (p.e. nalorfina). Aunque un agonista opioide parcial tal como la nalorfina, (el análogo N-alquil de la morfina) antagonizará

7

A

los efectos analgésicos de la morfina, si se da solo puede ser un potente analgésico en sí mismo.

De todos los analgésicos opioides, la morfina se mantiene como el más ampliamente usado, pero, además de sus propiedades terapéuticas, tiene ciertas fallas que incluyen depresión respiratoria, disminución de la movilidad gastrointestinal (resultando en constipación), náusea y vómito. La tolerancia y la dependencia física también limitan los usos clínicos de los compuestos opioides.

La aspirina y otros compuestos salicilatos son frecuentemente usados en el tratamiento para interrumpir la amplificación del proceso inflamatorio en las enfermedades reumatóideas y la artritis y alivian temporalmente el dolor. Otros compuestos fármacos usados para estos propósitos incluyen derivados de ácido fenilpropiónico tales como Ibuprofen y Naproxen, Sulindac, fenil butazona, corticosteroides, antimalarios tal como cloroquina y sulfato hidróxicloroquina, y fenomatos (J. Hosp Pharm., 36:622 (Mayo 1979)). Estos compuestos, sin embargo, no son efectivos para el dolor neuropático.

Las terapias disponibles para el dolor tienen también problemas. Algunos agentes terapéuticos requieren un uso prolongado antes de que se experimente un efecto por parte del paciente. Otros medicamentos existentes tienen serios efectos colaterales en ciertos pacientes, y los sujetos deben ser cuidadosamente monitoreados para asegurar que los efectos colaterales no sean indebidamente amenazadores. La mayoría de los fármacos existentes proporcionan solamente alivio temporal del dolor y deben tomarse consistentemente diaria o semanalmente. Con el progreso de la enfermedad la cantidad de la medicación necesaria para aliviar el dolor con frecuencia aumenta, creciendo así el potencial para los efectos laterales adversos.

Los receptores NMDA se definen por el enlace de N-metil-D-aspartato (NMDA) que comprende un complejo de receptor/ canal iónico con varios enlaces de dominio diferentes identificados. El NMDA en sí mismo es una molécula estructuralmente similar al glutamato (Glu) que enlaza en la posición de enlace del glutamato y es altamente selectivo y potente para activar el receptor NMDA (Watkins (1987), Olney (1989)).

Se conocen muchos compuestos que enlazan en la posición de enlace NMDA/Glu (por ejemplo CPP, DCPP-eno, CGP 40116, CGP 37849, CGS 19755, NPC 12626, NPC 17742, D-AP5, D-AP7, CGP 39551, CGP-43487, MDL- 100,452, LY-274614, LY-233536, y LY233053). Otros compuestos, referidos como antagonistas no-competitivos NMDA, enlazan en otras posiciones en el complejo receptor NMDA (ejemplos son fenciclidina, dizocilpina, cetamina, tiletamina, SNC 1102, dextrometorfan, memantina, ácido quinurénico, CNQX, DNQX, 6,7-DCQX, 6,7- DCHQC, R(+)-HA-966, ácido 7-cloro-quinurénico, 5,7-DCKA, ácido 5-yodo-7-cloro- quinurénico, MDL- 28,469, MDL- 100,748, MDL-29,951, L-689,560, L-687,414, ACPC, ACPCM, ACPCE, arcaina, dietilentriamina, 1,10-diaminodecano, 1,12-diaminododecano, ifenprodil, y SL- 82.0715). Estos compuestos han sido revisados extensamente por Rogawski (1992) y Massieu et. al., (1993), y los artículos están citados aquí.

Además de su función fisiológica, el glutamato (Glu) puede ser neurotóxico. La neurotoxicidad del Glu es referida como "excitotoxicidad" porque la acción neurotóxica del Glu, así como sus acciones benéficas, está mediada por un proceso excitatorio (Olney (1990); Choi (1992)). Normalmente, cuando el Glu es liberado en un receptor sináptico, enlaza solo transientemente y es luego removido rápidamente del receptor por un proceso que lo transporta de regreso en la célula. Bajo ciertas condiciones anormales, incluyendo embolia, epilepsia y trauma del SNC, la ingesta de Glu falla y el Glu se acumula

en el receptor resultando en una excitación persistente de la actividad electroquímica lo que conduce a la muerte de las neuronas que tienen los receptores Glu. Muchas neuronas en el SNC tienen receptores Glu, de modo que la excitotoxicidad puede causar enorme cantidad de daño del SNC.

Pueden ocurrir lesiones agudas por excitotoxicidad como resultado de eventos isquémicos, eventos hipóxicos, trauma cerebral o de la médula espinal, ciertos tipos de envenenamiento por alimentos que involucren un veneno excitotóxico tal como ácido domóico, y degeneración neuronal generada por ataques, lo que puede resultar de la actividad epiléptica convulsional persistente (estado epiléptico). Una gran cantidad de evidencia ha implicado el receptor NMDA como un subtipo de receptor a través del cual el Glu genera una cantidad substancial de lesiones del SNC, y está bien establecido que los antagonistas NMDA son efectivos para proteger las neuronas del SNC contra la degeneración excitotóxica en estos síndromes agudos lesiones en el SNC (Choi (1988); Olney (1990)).

Además del daño neuronal causado por ataques agudos, la activación excesiva de los receptores Glu pueden también contribuir a procesos neurodegenerativos más graduales conduciendo a la muerte celular en varias enfermedades crónicas neurodegenerativas, incluyendo enfermedad de Alzheimer, esclerosis amiotrófica lateral, demencia por SIDA, enfermedad de Parkinson y enfermedad de Huntington (Olney (1990)). Generalmente se considera que los antagonistas NMDA pueden ser útiles en el manejo terapéutico de tales enfermedades crónicas.

En los 80s se descubrió que el PCP (también conocido como "polvo angel") actuaba como un "punto de reconocimiento de PCP" dentro del canal iónico del receptor NMDA Glu. El PCP actúa como un antagonista no-competitivo que bloquea el flujo de iones a través del

7

canal iónico NMDA. Más recientemente ha sido evidente que los fármacos que actúan en la posición PCP como antagonistas no competitivos NMDA son susceptibles a presentar efectos colaterales psicotomiméticos. Además, ahora se reconoce que ciertos antagonistas competitivos y no competitivos NMDA pueden causar efectos patomorfológicos similares en el cerebro de la rata (Olney et. al., (1991); Hargreaves et. al., (1993)). Tales compuestos tienen también efectos psicotomiméticos en humanos (Kristensen et. al., (1992); Herrling (1994); Grotta (1994)).

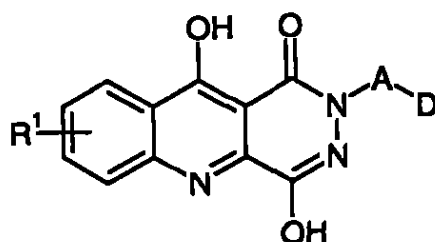
El sitio de enlace de la glicina del complejo del receptor NMDA es distinguible de los sitios de enlace de Glu y PCP. También, recientemente se ha descubierto que los receptores NMDA ocurren como varios subtipos que se caracterizan por tener propiedades diferenciales del sitio de enlace de la glicina del receptor. Muchos compuestos que enlazan en el sitio de la glicina del receptor NMDA, útiles para el tratamiento de la embolia y las condiciones neurodegenerativas, han sido descritas en las Patentes de los Estados Unidos 5,604,227; 5,733,910; 5,599,814; 5,593,133; 5,744,471; 5,837,705 y 6,103,721.

Resumen de la invención

Ahora se ha descubierto que ciertos compuestos que exhiben la propiedad de enlazar el sitio glicina del receptor NMDA tienen utilidad para el mejoramiento de dolor y particularmente para el mejoramiento del dolor neuropático.

Por lo tanto, la invención proporciona un método para el tratamiento del dolor que comprende la administración de una cantidad

efectiva para mejorar el dolor de cualquier compuesto de acuerdo con el diagrama estructural I;

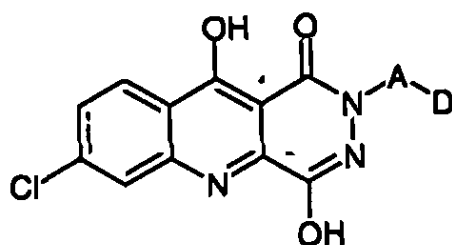


I

donde: A es $(CH_2)_n$ donde n tiene un valor seleccionado entre 0, 1, 2, 3 o 4; D es seleccionado entre una porción heteroaril de 5- o 6-miembros o un derivado benz- del mismo, que tiene 1, 2 o 3 átomos del anillo seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre, y R¹ es halo.

En realizaciones particulares de la invención el método comprende administración de cantidades efectivas para mejorar el dolor de un compuesto de acuerdo con el diagrama estructural I donde: D es seleccionado entre piridil, quinolil, pirazinil, piradizinil, furanil, benz[b]furanil, imidazolil, oxazolil, tienil, benz[b]tienil y tiazolil.

En más realizaciones particulares de la invención el método comprende la administración de una cantidad efectiva para mejorar el dolor de un compuesto de acuerdo con el diagrama estructural II donde:



II.

8

Aún otras más realizaciones particulares de la invención son aquellas donde el método comprende tratamiento con un compuesto de acuerdo con el diagrama estructural II y D es seleccionado entre piridil, quinolil, pirazinil, piradizinil, furanil, benz[b]furanil, imidazolil, oxazolil, tienil, benz[b]tienil y tiazolil.

Todavía más realizaciones particulares de la invención son aquellas donde el método comprende tratamiento con un compuesto ejemplo específicamente revelado aquí.

Aún otros aspectos de la invención son composiciones farmacéuticas que contienen un compuesto de acuerdo con el diagrama estructural I; el uso de compuestos de acuerdo con el diagrama estructural I para la preparación de medicamentos y composiciones farmacéuticas, y un método que comprende enlazar un compuesto de la invención al sitio glicina del receptor NMDA de un animal de sangre caliente, tal como un ser humano, de modo que inhiba benéficamente la actividad del receptor NMDA.

Descripción Detallada de la Invención

Los compuestos de la invención son aquellos dentro del alcance de la descripción genérica y particularmente aquellos compuestos ejemplificados de aquí en adelante.

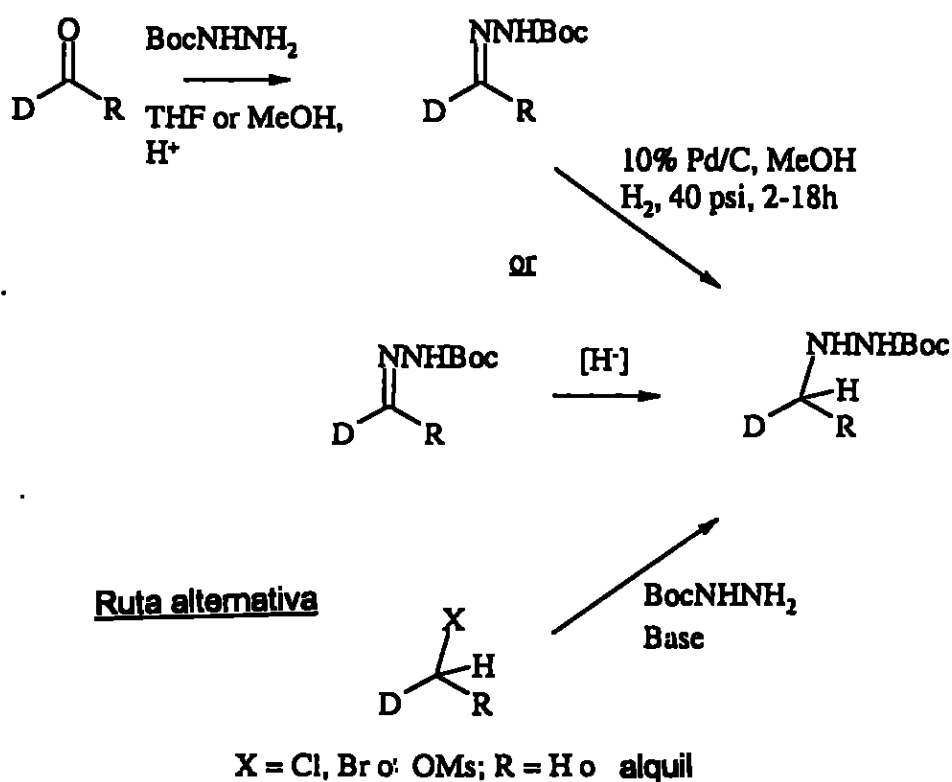
Sales farmacéuticamente aceptables adecuadas de los compuestos de la invención incluyen sales de adición ácida tales como metanosulfonato, fumarato, clorhidrato, bromhidrato, citrato, tris(hidroximetil) aminometano, malato y sales formadas con ácido fosfórico y ácido sulfúrico. En otras realizaciones, sales adecuadas son

16

las sales básicas tales como sales alcalino metálicas, por ejemplo de sodio, sales metálicas alcalino térreas, por ejemplo de calcio o magnesio, sales orgánicas amino por ejemplo trietilamina, morfolina, *N*-metilpiperidina, *N*-etilpiperidina, procaina, dibencilamina, colina, *N,N*-dibenciletilamina o amino ácidos tal como lisina.

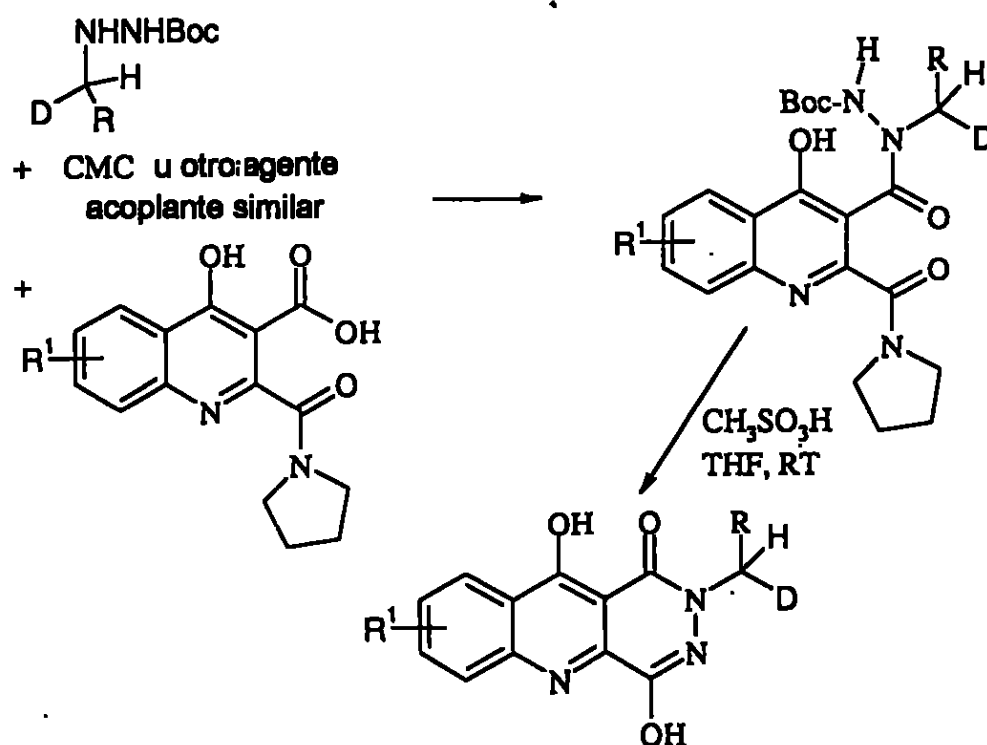
Otro aspecto de la invención es un proceso para hacer los compuestos de la invención, proceso que comprende los siguientes pasos:

a) Preparación de una hidrazina BOC-protegida de acuerdo con uno de los procedimientos mostrados en el siguiente esquema:



1*

b) Acoplamiento de dicha hidrazina Boc-prottegida y ciclación del producto de acuerdo con el proceso del siguiente esquema para formar un compuesto de acuerdo con el diagrama estructural I:



En donde:

CMC es 1-ciclohexil-3-(2-morfolinoetil)carbodiimida meto-p-toluenosulfonato;

el grupo "R/H/D" es la porción "-A-D" del diagrama estructural I;
y a lo largo del proceso de aquí en adelante:

R¹ es como se definió para el diagrama estructural I.

Para usar el compuesto de la invención o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo para el tratamiento terapéutico, el cual puede incluir el tratamiento profiláctico del dolor en mamíferos, que pueden ser humanos, el compuesto puede ser formulado de acuerdo con la práctica farmacéutica estándar como una composición farmacéutica.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas que contienen un compuesto de la invención pueden ser administradas en las formas convencionales, por ejemplo por administración oral, tópica, parenteral, bucal, nasal, vaginal o rectal o por inhalación. Para estos propósitos un compuesto de la invención puede ser formulado por medios conocidos en el arte en forma de, por ejemplo, tabletas cápsulas, soluciones acuosas o oleosas, suspensiones, emulsiones, cremas, ungüentos, geles, aerosoles nasales, supositorios, polvos finamente divididos o aerosoles para inhalación, y para uso parenteral (incluyendo intravenoso, intramuscular o infusión) soluciones o suspensiones acuosas u oleosas estériles o emulsiones estériles. Una ruta preferida de administración es oralmente por tableta o cápsula.

Además de un compuesto de la presente invención, una composición farmacéutica de esta invención puede también contener uno o más agentes farmacológicamente activos, o dicha composición farmacéutica puede ser simultánea o secuencialmente co-administrada con uno u otros agentes farmacológicamente activos.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención normalmente serán administradas de modo que el sujeto reciba una dosis diaria efectiva para calmar el dolor. La dosis diaria puede darse en dosis divididas según sea necesario, la cantidad precisa del compuesto recibida y la ruta de administración dependen del peso, edad y sexo del paciente a ser tratado y de la condición de enfermedad

a ser tratada de acuerdo con los principios conocidos en el arte. Un régimen de dosificación preferido es una vez diaria.

Una realización adicional de la invención proporciona una composición farmacéutica que contiene un compuesto de la invención como se definió aquí o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en asociación con un aditivo farmacéuticamente aceptable tal como un excipiente o portador.

Aún otra realización adicional de la invención proporciona el uso del compuesto de la invención, o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo, en la manufactura de un medicamento útil para enlazar al sitio glicina del receptor NMDA en un animal de sangre caliente tal como un ser humano.

Otra realización adicional de la invención proporciona un método de enlazar el compuesto de la invención al sitio glicina del receptor NMDA de un animal de sangre caliente, tal como un ser humano, en necesidad de tratamiento del dolor, método que comprende la administración a dicho animal de una cantidad efectiva de un compuesto del diagrama estructural I o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

Definiciones:

Cuando se usa aquí el término "alquil" incluye los grupos alquil de cadena recta y ramificada pero la referencia a grupos alquil individuales tal como "propil" se refiere a la porción de cadena recta.

Cuando se usa aquí el término "halo" significa flúor, cloro, bromo y yodo.

14

Cuando se usa aquí el término "aril" significa un anillo de carbonos no saturado o un derivado benz- del mismo. Particularmente, aril significa fenil, naftil o bifenil. Más particularmente aril significa fenil.

Cuando se usa aquí el término "heteroaril" o " anillo heteroaril" significa, a menos que se especifique otra cosa, un anillo monocíclico-, bicíclico- o tricíclico- de 5-14 miembros, que es no saturado o parcialmente no saturado, con hasta cinco heteroátomos en el anillo seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre donde un grupo $-CH_2-$ puede ser opcionalmente reemplazado por un $-C(O)-$, y un átomo de nitrógeno en el anillo puede ser opcionalmente oxidado para formar el N-óxido. Ejemplos de tales heteroarilos incluyen tienil, furil, piranil, pirrolil, imidazolil, pirazolil, tiazolil, oxazolil, isoxazolil, piridil, piridil-N-óxido, oxopiridil, oxoquinolil, pirimidinil, pirazinil, oxopirazinil, piridazinil, indolinil, benzofuranil, benzimidazolil, benzotiazolil, quinolil, isoquinolinil, quinazolinil, xantenil, quinoxalinil, indazolil, benzofuranil y cinolinil.

Cuando se usa aquí el término "heterociclil" o " anillo heterocíclico " significa, a menos que se especifique otra cosa, un anillo mono- o bicíclico- de 5-14 miembros, que está totalmente saturado, con hasta cinco heteroátomos del anillo seleccionados entre nitrógeno, oxígeno y azufre donde un grupo $-CH_2-$ puede ser opcionalmente reemplazado por un $-C(O)-$. Ejemplos de tales heterociclilos incluyen morfolinil, pirrolidinil, imidazolidinil, pirazolidinil, piperidinil, piperazinil, homopiperidinil, homopiperazinil y quinucidinil.

Cuando se usa aquí, donde sustituyentes opcionales son seleccionados entre "uno o más" grupos debe entenderse que estos abarcan los compuestos donde todos los sustituyentes son escogidos entre uno de los grupos especificados y los compuestos donde los

substituyentes son escogidos entre más de uno de los grupos especificados.

Generalmente en los métodos, procesos y ejemplos descritos aquí:

Las concentraciones se realizaron por evaporación rotaria *in vacuo*;

Las operaciones se realizaron a temperatura ambiente, que está en el rango 18-26 °C y bajo una atmósfera de nitrógeno;

La cromatografía de columna (por el procedimiento flash) se realizó en sílica Merck Kieselgel (Art. 9385) a menos que se indique otra cosa;

Los productos se dan para ilustración solamente y no son necesariamente el máximo obtenible; la estructura de los productos finales de la fórmula I fueron generalmente confirmados por RMN y las técnicas de espectros de masa, se determinaron espectros de resonancia magnética de protones en DMSO- d_6 a menos que se indique otra cosa, usando un espectrómetro Varian Gemini 2000 operando en un campo de fuerza de 300 MHz; los desplazamientos químicos son reportan en partes por millón campo bajo de tetrametilsilano como estándar interno (escala δ) y los múltiples máximos son mostrados así: s, singlete; bs, singlete amplio; d, doblete; AB o dd, doblete de dobletes; t, triplete, dt, doble de tripletes, m, multiplete; bm, multiplete amplio; los datos de espectros de masa por bombardeo rápido de átomos (FAB) se obtuvieron usando un espectrómetro Platform (suministrado por Micromass) corrido en electroatomización y, donde fuera apropiado, se tomaron datos de iones positivos o datos de iones negativos, en esta solicitud, se citan $(M+H)^+$; los datos IR se obtuvieron con un Nicolet Avatar 360 FT-IR;

Los intermedios en general no se caracterizaron totalmente y la pureza en general se evaluó por espectros de masa (EM) o por análisis RMN.

Las siguientes abreviaciones y definiciones cuando se usan, tienen los significados, que siguen:

CDCl₃	es cloroformo deuterado;
CMC	es 1-ciclohexil-3-(2-morfolinoetil)carbodiimida meto-<i>p</i>-toluenosulfonato;
DMC	es diclorometano;
DCU	es díciclohexil urea;
DHC	es 1,3-díciclohexilcarbodiimida;
DMAp	es 4-(dimetilamino)piridina;
DMF	es N,N-dimetilformamida;
DMSO	es dimetilsulfóxido;
m/s	es espectroscopía de masa;
NMP	es N-metilpirrolidinona;
RMN	es resonancia magnética nuclear;
p.o.	es <i>per os</i>,
THF	es tetrahidrofuran, y
t.i.d.	es tres veces diarias.

Los ejemplos y pruebas descritos aquí se entenderán para ilustrar mas no para limitar la invención.

17

Ejemplos:**Ejemplo 1: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(4-piridilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-dionametanosulfonato.****(*tert*-Butoxi)-N-[(4-piridilmetil)aminolcarboxamida.**

A una solución en agitación de *tert*-butilcarbazato (174 g, 1.36 mol) y DMF seco (400 mL) bajo nitrógeno se agregó trietilamina (108 mL, 0.78 mol) seguido por clorhidrato de 4-picolil cloruro (40.0 g, 0.243 mol). La mezcla de reacción luego se calentó a 75 °C por 5 horas y se dejó enfriar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con agua (2 L) y la mezcla resultante se extrajo con acetato de etilo (4 x 500 mL). Los extractos de acetato de etilo combinados se concentraron bajo presión reducida y el residuo se disolvió en éter dietilo (1 L). La solución resultante se lavó sucesivamente con agua (3 x 400 mL) y salmuera (400 mL) y luego se secó sobre Na₂SO₄. El Na₂SO₄ se filtró y el filtrado se concentró bajo presión reducida para dar un aceite ámbar (130.4 g). Este producto se purificó por cromatografía flash en sílica gel eluyendo con hexano:acetato de etilo (1:1) para dar el compuesto del título como una espuma sólida blanquecina (24.46 g, 45%).

¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.36 (s, 9H); 3.90 (d, 2H, J = 4.0 Hz); 5.04 (d, 1H, J = 4.0 Hz); 7.34 (d, 1H, J = 4.5 Hz); 8.48 (d, 1H, J = 4.5 Hz).

Dimetil 7-cloro-4-hidroxiquinolina-2,3-dicarboxilato:

Una mezcla en agitación de metil 2-amino-4-clorobenzoato (2.50 g, 13.5 mmol) y dimetil acetilendicarboxilato (2.05 g, 14.4 mmol) en

tert-butanol (22 ml) se sometió a reflujo por 7 horas bajo una atmósfera de nitrógeno. Después de agregar adicional dimetil acetileno-dicarboxilato (1.16 g, 8.13 mmol) y sometiendo a reflujo por otras 2.5 horas, la mezcla de reacción se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agregó *tert*-butoxido de potasio (1.56 g, 13.9 mmol) en una porción. Se formó un precipitado y la mezcla resultante se sometió a reflujo por 1.5 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y se filtró para separar los sólidos, que se lavaron con *tert*-butanol y eter dietilo. Los sólidos se disolvieron en agua y se acidificaron con ácido sulfúrico 1 N para formar un precipitado. La mezcla resultante se extrajo con DCM y los extractos combinados se lavaron con salmuera y agua, se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron para dar un sólido verde. La recristalización de este material a partir de metanol produjo el compuesto del título (1.15 g, 47%) como un sólido blanquecino.

pf 232-233 °C; EM (CI):296 (M+H). Análisis para C₁₃H₁₀ClNO₅:
Calculado: C, 52.81; H, 3.41; N, 4.74; Encontrado: C, 52.75; H, 3.47; N, 4.69.

Acido 3-carbometoxi-7-cloro-4-hidroxiquinolina-2-carboxílico:

A una suspensión en agitación de dimetil 7-cloro-4-hidroxiquinolina-2,3-dicarboxilato (1.0 g, 3.38 mmol) en agua (20 mL) se agregó una solución acuosa de hidróxido de sodio (0.27 g, 6.75 mmol). Después de la adición, la suspensión se disolvió. La mezcla de reacción se calentó a 60 °C por 1 hora. Después de este tiempo la reacción se enfrió a temperatura ambiente y se acidificó con ácido clorhídrico concentrado. El producto luego se extrajo en eter dietilo y acetato de etilo. Los extractos orgánicos se secaron sobre MgSO₄, se filtraron y se concentraron *in vacuo* para producir el compuesto del título como un sólido (900 mg). Este material se purificó por recristalización empleando un sistema co-solvente de acetato de

18

etilo/hexano para producir el compuesto del título (571 mg, 60%) como un sólido blanco.

pf 296 °C (dec); EM (CI) = 238 (M+H). Análisis para $C_{12}H_8NO_5Cl \cdot 0.45 CH_3CO_2CH_2CH_3 \cdot 0.10 H_2O$: Calculado: C, 51.30; H, 3.68; N 4.34, Encontrado: C, 51.28; H, 3.62; N 3.97 1H RMN 8.22 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.92 (d, J = 1.8 Hz, 1H), 7.28 (dd, J = 8.7, 1.8 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H).

3-Carbometoxi-2-pirrolidinocarbamida-7-cloro-4-hidroxiquinolina:

A una suspensión de ácido 3-carbometoxi-7-cloro-4-hidroxiquinolina-2- carboxílico (2.25 g, 8.0 mmol) en THF (20 mL) a temperatura ambiente bajo una atmósfera de N_2 se agregó DHC (1.65 g, 8.0 mmol) y pirrolidina (0.596 g, 8.4 mmol). La reacción se agitó a temperatura ambiente por 15 horas después de ese tiempo el sub-producto urea se removió vía filtración. El producto deseado se purificó vía cromatografía flash de columna empleando metanol al 5% en cloroformo para producir el compuesto del título (2.52 g, 94.3%) como un sólido dorado.

pf = 215 °C; EM (CI): 335 (M+H). 300 MHz 1H RMN (DMSO- d_6): δ 8.12 (d, J = 8.7 Hz, 1H), 7.60 (d, 1H, J = 1.8 Hz), 7.47 (dd, 1H, J = 8.8, 2.0 Hz), 3.69 (s, 3H), 3.40-3.49 (m, 2H), 3.27-3.33 (m, 2H), 1.80-1.96 (m, 4H).

Acido 7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil)hidroquinolina-3-carboxílico:

A una suspensión de 3-carbometoxi-2-pirrolidinocarbamida-7-cloro-4-hidroxi quinolina (2.52g, 7.5 mmol) en agua desionizada (40 mL) se agregó por gotas una solución (20 mL) de hidróxido de potasio acuoso (882 mg, 15.75 mmol). Después de que se completó la adición, la reacción se calentó a 60 °C. Después de 3 horas, la reacción se filtró para remover una pequeña cantidad de material insoluble. El filtrado luego se acidificó a pH = 1 lo que produjo un precipitado blanco. El sólido se aisló por filtración al vacío, se lavó con agua, y se secó a 30 °C *in vacuo* por 16 horas. Esto produjo el compuesto del título (1.5 g, 64%) como un sólido blanco.

pf = 225-8 °C; EM (CI): 321 (M+H). 300 MHz ¹H RMN (DMSO-*d*₆): δ 8.28 (d, J = 8.8 Hz, 1H), 7.77 (s, 1H), 7.64 (d, 1H, J = 8.7), 3.52-3.57 (m, 2H), 3.17-3.19 (m, 2H), 1.83-1.98 (m, 4H).

N-[(*tert*-butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil)(3-hidroquinolil)]-N-(4-piridilmetil)carboxamida.

A una mezcla en agitación de ácido 7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil) hidroquinolina-3- carboxílico (24.29 g, 75.73 mmol) y THF seco (1175 mL) bajo nitrógeno se agregó CMC (50.55 g, 119.34 mmol) en porciones (35 g seguido por 15.55 g después de 10 min.). Después de agitar la mezcla de reacción por 20 minutos adicionales, se agregó rápidamente una solución de (*tert*-butoxi)-N-[(4-piridilmetil)amino]carboxamida (22.0 g, 98.5 mmol) y THF (580 mL) y la mezcla se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se filtró y la torta filtrada se lavó con DCM (300 mL). El filtrado y las lavaduras se combinaron y se agregó DCM adicional (800 mL). La solución

21

resultante se lavó con agua (2 x 500 mL) y luego se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se concentró bajo presión reducida para dar 28.90 g de una espuma amarilla. Esta espuma se trató con éter dietilo (800 mL) y la mezcla resultante se agitó y luego se filtró. La torta filtrada se secó a 45 °C *in vacuo* para dar el compuesto deseado (24.3 g, 61 %) como un polvo amarillo.

7-Cloro-4-hidroxi-2-(4-piridilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona metanosulfonato.

A una mezcla en agitación de N-[(*terc*-butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil)(3-hidroquinolil)]-N-(4-piridilmetil) carboxamida (24.0 g, 45.62 mmol) y THF seco (960 mL) bajo nitrógeno se agregó ácido metanosulfónico (120 mL, 177.7 g, 1.85 moles) todo de una vez. La mezcla se agitó durante la noche y luego se filtró para separar los sólidos. Los sólidos colectados se lavaron sucesivamente con THF (2 x 100 mL), metanol (2 x 50 mL), y éter dietilo (100 mL). La torta filtrada (13.4 g) luego se suspendió en metanol (250 mL) y la mezcla resultante (250 mL) y la mezcla resultante se sonicó por 20 minutos y luego se filtró. Los sólidos colectados se lavaron con metanol (2 x 100 mL) y éter dietilo (100 mL) y luego se secaron a 45 °C *in vacuo* para dar el compuesto del título (12.1 g, 59%) como un polvo amarillo.

p.f. > 250 °C. ^1H RMN (300 MHz, $\text{DMSO}-d_6$): δ 2.32 (s, 3H), 5.36 (s, 2H); 7.49 (dd, 1H, $J = 8.1$ Hz, $J = 2.1$ Hz); 7.86 (d, 1H, $J = 6.6$ Hz); 8.06 (d, 1H, $J = 2.1$ Hz); 8.12 (d, 1H, $J = 8.1$ Hz); 8.82 (d, 1H, $J = 6.6$ Hz); 12.6 (br s, 1H); 12.84 (br s, 1H). Calc'd- para $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{ClN}_4\text{O}_3 \cdot \text{CH}_3\text{SO}_3\text{H} \cdot 0.8 \text{H}_2\text{O}$: C, 46.47; H, 3.60; N, 12.04
Encontrado: C, 46.39; H, 3.65; N, 11.98.

Ejemplo 2: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(3-piridilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1, 10-diona metanosulfonato.

(*tert*-Butoxi)-N-(3-piridilmetil)aminocarboxamida.

A una solución en agitación de *tert*-butilcarbazato (203.6 g, 1.54 mol) y DMF seco (300 mL) bajo nitrógeno se agregó trietilamina (128 mL, 0.92 mol) seguido por clorhidrato de 3-picolil cloruro (50.0 g, 0.30 mol) como una mezcla en DMF (300 mL). La mezcla de reacción se calentó a 75 °C por 3 horas, se enfrió a temperatura ambiente, y se diluyó con agua (2.4 L). La mezcla resultante se extrajo con éter dietilo (3 x 800). La capa acuosa se saturó con sal y se extrajo con éter dietilo (3 x 800 mL). Los extractos combinados se lavaron con agua (1 x 1 L), salmuera (1 x 1 L) y luego se secaron sobre Na₂SO₄. El Na₂SO₄ se filtró y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El producto se purificó por cromatografía flash en sílica gel eluyendo con éter dietilo para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (23.3 g, 34%).

¹H RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.36 (s, 9H); 3.88 (d, 2H, J = 4.0 Hz); 4.96 (d, 1H, J = 4.0 Hz); 7.33 (dd, 1H, J = 7.7 Hz, J = 4.8 Hz); 7.71 (d, 1H, J = 7.7 Hz); 7.44 (d, 1H, J = 4.7 Hz); 8.49 (s, 1H).

N-[(*tert*-butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinil carbonil)hidroquinolil]-N-(3-piridilmetil)carboxamida.

A una mezcla en agitación de ácido 7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil) hidroquinolina-3- carboxílico, Ejemplo 1, (20 g, 62.4 mmol) y THF (800 mL) bajo nitrógeno se agregó CMC (40.0 g, 94.4 mmol). Una solución de (*tert*-butoxi)-N-[(3-piridilmetil)amino] carboxamida (20.9 g, 93.6 mmol) y se agregó rápidamente THF (450 mL) y la mezcla se agitó durante la noche. La mezcla de reacción se

23

filtró y la torta filtrada se lavó con THF. La torta filtrada se mezcló con DCM y se filtró. Los filtrados se combinaron y bajo presión reducida. El residuo se disolvió en DCM, se secó sobre Na_2SO_4 , se filtró y se evaporó bajo presión reducida para dar una espuma.

La espuma se agitó con eter dietilo (200 mL) y se filtró. La torta filtrada se sonicó con eter dietilo (200 mL), se filtró, se lavó con eter dietilo y se secó a 40 °C *in vacuo* para dar el compuesto del título como un polvo blanquecino (32.8 g, 100%).

7-Cloro-4-hidroxi-2-(3-piridilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino
[4,5-b]quinolina-1,10-diona metanosulfonato.

A una solución en agitación de N-[(*terc*-butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil)(3-hidroquinolil)]-N-(3-piridilmetil) carboxamida (32.8 g, mol) y THF (1 L) bajo nitrógeno se agregó ácido metanosulfónico (150 mL, 222 g, 2.31 moles) por 10 minutos. La mezcla se agitó durante la noche y luego se filtró para separar los sólidos. Los sólidos colectados se lavaron con THF. La torta filtrada se suspendió en metanol, se sonicó (30 minutos) y se filtró. Los sólidos se resuspendieron en metanol, se sonicaron (30 minutos) y se filtraron. Los sólidos colectados se lavaron con metanol y luego se secaron a 100 °C *in vacuo* para dar el compuesto del título (19.4 g, 66%) como un sólido blanco.

p.f. > 300 °C. ^1H RMN (300 MHz, DMSO-d_6): δ 2.33 (s, 3H); 5.29 (s, 2H); 7.46 (dd, 1H, J = 9.0 Hz, J = 2.1 Hz); 7.94 (dd, 1H, J = 9.0 Hz, J = 5.6 Hz); 8.04 (d, 1H, J = 1.8 Hz); 8.16 (d, 1H J = 8.7 Hz); 8.37 (d, 1H, J = 8.1 Hz); 8.82 (d, 1H J = 4.8 Hz); 8.89 (s, 1H). Calculado para $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{ClN}_4\text{O}_3 \cdot \text{CH}_3\text{SO}_3\text{H} \cdot \text{H}_2\text{O}$: C, 46.11; H, 3.66; N, 11.95 Encontrado: C, 46.34; H, 3.61; N, 11.94.

Ejemplo 3: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(2-piridilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona metanosulfonato.

(*tert*-Butoxi)-N-[(2-piridilmetil)aminolcarboxamida.

A una solución en agitación de *tert*-butilcarbazato (174 g, 1.53 mol) y DMF seco (400 mL) bajo nitrógeno se agregó trietilamina (130 mL, 0.94 mol) seguido por clorhidrato de 2-picolil cloruro (54.0 g, 0.33 mol). La mezcla de reacción se dejó agitar a temperatura ambiente por 1 hora, luego se calentó a 70 °C por 3 horas y se dejó enfriar a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con mezcla de acetato de etilo/eter dietilo 1:1 y se lavó con salmuera y se extrajo. La capa acuosa se monitoreó por TLC (eluyente: 100% eter dietilo) y se extrajo varias veces con acetato de etilo (200 mL) hasta que no se observó más producto. Los extractos orgánicos combinados se lavaron con salmuera, se secaron sobre Na₂SO₄ y se filtraron. El filtrado se concentró bajo presión reducida para dar un aceite ambar (~100 g) que se cristalizó. El material se trituró con eter dietilo/hexanos 1:1, se filtró y se secó bajo presión reducida para producir el compuesto del título como un sólido blanquecino (35.4 g, 45% de rendimiento)

¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.38 (s, 9H); 3.96 (d, 2H, J = 4.0 Hz); 4.98 (d, 1H, J = 4.0 Hz); 7.24 (dd, 1H, J = 7.8 Hz, J = 7.8 Hz); 7.48 (d, 1H); 7.74 (dd, 1H, J = 7.5 Hz, J = 7.8 Hz); 8.32 (s, br, 1H); 8.47 (d, 1H, J = 4.8 Hz).

N-[(*tert*-butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-pirrolidinil carbonil](3- hidroquinolil)]-N-(2-piridilmetil)carboxamida.

A una mezcla en agitación de ácido 7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil) hidroquinolina-3- carboxílico, Ejemplo 1, (17.5 g, 54.7 mmol) y THF seco (900 mL) bajo nitrógeno se agregó CMC (35.7

g, 81.2 mmol) en porciones (25.0 g seguido por 10.7 g después de 10 minutos). Después de agitar la mezcla de reacción por una hora adicional, una solución de (*tert*-butoxi)-N-[(2-piridilmetil)amino] carboxamida (16.5 g, 73.9 mmol) y se agregó THF (400 mL) y la mezcla se agitó vigorosamente durante la noche. La reacción se monitoreó por TLC (10% metanol/DCM) y se determinó que estaba completa. Para separar los sólidos precipitados, la mezcla de reacción se filtró y los sólidos colectados se lavaron con THF. El filtrado y lavaduras se combinaron y se concentró *in vacuo*. La torta filtrada se suspendió en bicarbonato acuoso y salmuera soluciones y se extrajo con DCM (3 x 300 mL). Estos extractos se combinaron con los extractos orgánicos concentrados previamente y se lavaron con bicarbonato, salmuera (3x) y se secaron sobre Na₂SO₄. El Na₂SO₄ se filtró y el filtrado se concentró bajo presión reducida para producir un residuo que se purificó por cromatografía flash en sílica gel eluyendo con *iso*-propanol/cloroformo al 5%. Después de concentración de las fracciones deseadas *in vacuo* el compuesto del título se aisló como un polvo dorado pálido (24.3 g, 61% de rendimiento).

7-Cloro-4-hidroxi-2-(2-piridilmetil)-1,2,5,10-tetrahidro
piridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona metanosulfonato.

A una mezcla en agitación de N-[(*tert*-butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil)(3-hidroquinolil)]-N-(2-piridilmetil) carboxamida (24.0 g, 0.045 mol) y THF seco (800 mL) bajo nitrógeno se agregó ácido metanosulfónico (100 mL, 148 g, 1.54 moles) todo de una vez. La mezcla se agitó durante la noche y luego se filtró para separar los sólidos. Los sólidos colectados se lavaron sucesivamente con THF (2 x 100 mL) y eter dietilo (2 x 100 mL). La torta filtrada (15.8 g) luego se suspendió en metanol (250 mL) y la mezcla resultante se sonicó por 30 minutos y luego se filtró. Los sólidos colectados se lavaron con metanol (2 x 100 mL) y eter dietilo (100 mL) y luego se secaron a 35 °C

in vacuo para dar el compuesto del título (12.1 g, 59%) como un polvo anaranjado.

p.f. >300 °C. ¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.33 (s, 3H), 5.35 (s, 2H); 7.46 (d, 1H, J = 8.7 Hz); 7.64 (d, 1H, J = 7.8 Hz); 7.68 (dd, 1H, J = 4.8 Hz, J = 6.6 Hz); 8.02 (s, 1H); 8.14 (d, 1H, J = 8.7 Hz); 8.19 (dd, 1H, J = 6.6 Hz, J = 7.8 Hz); 8.73 (d, 1H, J = 4.8 Hz); 10.06 (s, br, 1H); 12.84 (s, br, 1H). Calculado para C₁₇H₁₁ClN₄O₃•CH₃SO₃H: C, 47.95; H, 3.35; N, 12.43 Encontrado: C, 47.93; H, 3.42; N, 12.01.

Ejemplo 4: 7-Cloro-4-hidroxi-2-benzo[d]furan-2-ilmetil-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona.

N-(1-aza-2-benzo[d]furan-2-ilvinil)(terc-butoxi)carboxamida.

A una solución de benzofuran-2-carboxaldehído (5.0 g, 34 mmol) en THF (200 mL) se agregó *terc*-butil carbazato (4.5 g, 34 mmol) seguido por HCl concentrado (10 gotas) a temperatura ambiente con agitación. Esta reacción se agitó 24 h, en después de ese tiempo el THF se removió *in vacuo* y el sólido resultante se trituroó con hexanos y se filtró para producir el compuesto del título (9 g, 100 %) como un sólido blanco.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆): δ 11.12 (br s, 1H); 8.02 (s, 1H); 7.67 (d, J = 7.6 Hz, 1H); 7.62 (d, J = 8.5 Hz, 1H); 7.37 (dd, J = 7.6, 7.6 Hz, 1H); 7.27 (dd, J = 7.6, 7.6 Hz, 1H); 7.21 (s, 1H); 1.48 (s, 9H).

N-[(benzo[d]furan-2-ilmetil)amino](terc-butoxi)carboxamida.

A una solución de N-(1-aza-2-benzo[d]furan-2-ilvinil)(terc-butoxi)carboxamida (4.0 g, 15 mmol) en metanol (75 mL) se agregó

27

cianoborohidruro de sodio (7.2 g, 115 mmol) y ácido acético (10 mL). Esta mezcla se calentó a 65 °C por 4 h. Análisis TLC (hexanos:acetato de etilo, 1:1) mostró que había aún material de inicio, y se agregó cianoborohidruro de sodio adicional (ca. 2 g). Después de 2 horas más, no había más material de inicio y la reacción se enfrió a temperatura ambiente y el metanol se removió *in vacuo*. El residuo se disolvió en acetato de etilo y se lavó sucesivamente con NaHCO₃ saturado acuoso, agua y salmuera y luego se secó sobre Na₂SO₄. La mezcla se filtró y se concentró para dar el compuesto del título (3.4 g, 13 mmol, 85%) como un sólido blanco que se usó en el siguiente paso sin purificación adicional.

¹H RMN (300 MHz, DMSO-d₆): δ 8.36 (s, 1H); 7.57 (d, *J* = 7.0 Hz, 1H); 7.51 (d, *J* = 7.7 Hz, 1H); 7.22 (m, 2H); 6.74 (s, 1H); 5.01 (br s, 1H); 4.00 (s, 2H); 1.37 (s, 9H).

N-((N-(benzo[d]furan-2-ilmetil))[7-cloro-4-oxo-2-pirrolidinil]carbonil)(3-hidroquinolil)carbonilamino) (terc-butoxi)carboxamida.

A una mezcla en agitación de ácido 7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil) hidroquinolina-3- carboxílico, Ejemplo 1, (4.1 g, 13 mmol) en THF (75 mL) se agregó 1-ciclohexil-3-(2- morfolinoetil)-carbodiimida meto-*p*-toluenosulfonato (10.8 g, 26 mmol). A esta mezcla amarillo canario agitada se agregó con agitación una solución de N-[(benzo[d]furan-2-ilmetil)amino] (terc-butoxi)carboxamida (3.3 g, 13 mmol) y N,N-dimetilaminopiridina (230 mg, 1.9 mmol) en THF (25 mL). La mezcla resultante se sometió a reflujo bajo N₂ por 4 h, luego se enfrió y se filtró. El filtrado se concentró para dar una espuma sólida amarilla, que se cromatografió en sílica gel (metanol al 10% en CH₂Cl₂) para producir el compuesto del título como un sólido amarillo pálido. Este material se usó en el paso siguiente sin caracterización.

7-Cloro-4-hidroxi-2-benzo[d]furan-2-ilmetil-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona.

A una mezcla de N-{N-(benzo[d]furan-2-ilmetil)[7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinil-carbonil)(3-hidroquinolil)]-carbonilamino} (terc-butoxi) carboxamida (6.2 g, 11 mmol) en THF (150 mL) se agregó una solución de ácido metanosulfónico a temperatura ambiente (29 mL, 44 mmol) en THF (70 mL). Esta solución se agitó durante la noche, después de ese tiempo se agregó agua (~500 mL) para inducir la precipitación del producto. Un sólido color crema se colectó y se jugó con agua y eter dietilo. Este material se secó a 30 °C a 500 mTorr (66.65 Pa) durante la noche para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 12.74 (br s, 1H); 11.96 (br s, 1H); 8.15 (d, J = 8.8 Hz, 1H); 8.04 (d, J = 1.6 Hz, 1H); 7.59 (d, J = 7.7 Hz, 1H); 7.53 (d, J = 8.1 Hz, 1H); 7.44 (dd, J = 2.0, 8.9 Hz, 1H); 7.25 (m, 2H); 6.84 (s, 1H); 5.27 (s, 2H). Calculado para C₂₀H₁₂N₃O₄Cl·0.1H₂O·0.3CH₃SO₃H: C, 57.45; H, 3.18; N, 9.90; Encontrado: C, 57.61; H, 3.20; N, 9.91.

Ejemplo 5: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(quinolin-4-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona.

El compuesto del título se sintetizó por el método del Ejemplo 4 usando quinolina-4- carboxaldehído como el material de inicio.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆) δ 12.87 (br s, 1 H); 12.10 (br s, 1 H); 9.16 (d, J = 5.4 Hz, 1 H); 8.61 (d, J = 8.4 Hz, 1 H); 8.30 (d, J = 8.4 Hz, 1 H); 8.19-8.15 (m, 2H); 8.08 (d, J = 1.8 Hz, 1 H); 8.01 (dd, J = 7.5, 7.8 Hz, 1 H); 7.74 (d, J = 5.4 Hz, 1 H); 7.47 (dd, J = 1.8, 8.7 Hz, 1 H); 5.84 (s, 1 H).

Ejemplo 6: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(pirazin-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona metanosulfonato.

2-Clorometilpirazina.

2-Metilpirazina (1.0 mL, 22 mmol) en tetracloruro de carbono (80 mL) se trató con *N*-clorosuccinimida (4.27g, 31,5 mmol) y peróxido de benzoilo (0.26 g, 1 mmol). La mezcla se calentó a reflujo por 7 horas, y luego se enfrió a temperatura ambiente. Los sólidos se filtraron a través de tierra diatomácea y se lavaron con DCM. El filtrado se lavó con tiosulfato de sodio acuoso (sat., 1x), bicarbonato de sodio acuoso (sat., 1x), agua (1x), y cloruro de sodio acuoso (sat., 1x). La capa orgánica que contenía de 5-10% del material a,a,- desclorinado se secó sobre Na₂SO₄, se filtró, se concentró bajo presión reducida, y se usó directamente en la siguiente reacción.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 4.88 (s, 2H), 8.65-8.68 (m, 2H); 8.85 (s, 1H).

(*tert*-Butoxi)-N-[(pirazin-2-ilmetil)amino]carboxamida.

A una solución en agitación de 2-clorometilpirazina (1.2 g, 93 mmol) y DMF seco (16 mL) se agregó *tert*-butilcarbazato (6.3 g, 48 mmol) y trietilamina (2.6 mL, 19 mmol) bajo nitrógeno. La mezcla de reacción luego se calentó a 75 °C por 17 horas y se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se diluyó con agua y se extrajo con eter dietilo (5x). Los extractos de eter combinados se lavaron con salmuera y se secaron sobre Na₂SO₄. El Na₂SO₄ se filtró y el filtrado se concentró bajo presión reducida para dar un aceite carmelito (1 g). El aceite se sometió a cromatografía flash (sílica gel,

30

gradiente 2-5% de metanol en DCM) para dar el compuesto del título como un sólido ceroso carnalito (1.64 g, 79%).

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6 , TFA shake): δ 1.44 (s, 9H); 4.53 (s, 2H); 8.71-8.78 (m, 2H); 8.81 (s, 1H).

N-[(*tert*-butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-pirrolidinil carbonil](3-hidroquinolil)-N-(pirazin-2-ilmetil)carboxamida.

A una mezcla en agitación de ácido 7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil) hidroquinolina-3- carboxílico, Ejemplo 1, (2.3 g, 7.2 mmol) y THF seco (100 mL) bajo nitrógeno se agregó CMC (4.56 g, 10.8 mmol). Después de agitar 20 minutos, la mezcla de reacción se trató con una solución de (*tert*-butoxi)-N-[(pirazin-2-ilmetil)amino] carboxamida (1.6 g, 7.1 mmol) y DMAP (46 mg, 0.4 mmol) en THF (10 mL). La mezcla de reacción se agitó a reflujo por 2 días y se enfrió a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se filtró y la torta filtrada se lavó con THF. Los filtrados y las lavaduras combinadas se concentraron para dar una espuma carnalita (4.9 g). La espuma se sometió a cromatografía flash (sílica gel, metanol/DCM al 2%) para dar el compuesto del título (3.1 g, 82%).

7-Cloro-4-hidroxi-2-pirazin-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidro piridezino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona metanosulfonato.

A una mezcla en agitación de N-[(*tert*-butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil)(3-hidroquinolil)]-N-(pirazin-2-ilmetil) carboxamida (3.1 g, 5.9 mmol) y THF seco (100 mL) bajo nitrógeno se agregó ácido metanosulfónico (13.5 mL, 0.21 mol). La mezcla se agitó durante la noche, se filtró, y el sólido recogido se lavó con THF. El sólido se trató con metanol y la mezcla se sonicó por 1 h. El sólido se

631

colectó otra vez por filtración, se lavó con metanol, y se secó a 50 °C *in vacuo* para dar el compuesto del título (2.0 g, 80%) como un polvo blanco.

p.f. 235-245 °C. RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 2.38 (CH₃CO₂H, s, 3H), 5.27 (s, 2H); 7.44 (dd, 1H, J = 1.8, 8.7 Hz); 8.04 (d, 1H, J = 1.8 Hz); 8.14 (d, 1H, J = 8.7 Hz); 8.58 (dd, 2H, J = 2.4, 7.5 Hz); 8.63 (s, 1H). Calculado para C₁₆H₁₀ClNSO₃•CH₃SO₃H•H₂O: C, 43.46; H, 3.43; N, 14.90. Encontrado: C, 43.28; H, 3.34; N, 15.17.

Ejemplo 7: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(5-isoxazolino)metil-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona.

Ester *terc*-butil de ácido *N'*-isoxazol-5-ilmetil-hidrazina carboxílico.

A mezcla de 5-bromometil-isoxazol (1.62 g, 10 mmol), *terc*-butilcarbazato (5.29 g, 40 mmol) y carbonato de sodio (2.76 g, 20 mmol) en DMF (25 mL) se calentó a 80 °C bajo una atmósfera de nitrógeno por 6 horas. La mezcla se enfrió y se dividió entre acetato de etilo (100 mL) y agua (200 mL). La capa orgánica se lavó con salmuera (3 x 50 mL) y se secó sobre MgSO₄. El solvente se removió por evaporación rotaria. El DMF residual y el exceso de *terc*-butilcarbazato se removieron por destilación al vacío (50 mTorr (6.67 Pa), 80 °C). El residuo se sometió a cromatografía (sílica gel, acetato de etilo/hexano 1/1) para dar el compuesto del título como un sólido blanco (1.01 g, 49%).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.38 (s, 9H); 4.01 (s, 2H); 5.13 (bs, 1H); 6.38 (s, 1H); 8.38 (s, 1H); 8.48 (s, 1H).

Ester *tert*-butil de ácido *N'*-[7-cloro-4-hidroxi-2-(pirrolidina-1-carbonil)-quinolina-3-carboxil]-*N'*-isoxazol-5-ilmetil-hidrazina carboxílico.

A una mezcla en agitación de ácido 7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil)hidro quinolina-3- carboxílico, Ejemplo 1, (1.51 g, 4.7 mmol) en THF (50 mL) se agregó CMC (4.24 g, 10 mmol) y la reacción se agitó por cinco minutos. A esta mezcla se agregó una solución de ester *tert*-butil del ácido *N'*-isoxazol-5-ilmetil-hidrazinacarboxílico (1.0 g, 4.7 mmol) y DMAP (0.06 g, 0.5 mmol) en THF (10 mL). La mezcla se calentó a reflujo por 1.5 horas luego se dejó reposar a temperatura ambiente por 16 horas. Los sólidos se filtraron y se lavaron con DCM (2 x 50 mL). El filtrado combinado se evaporó hasta sequedad por evaporación rotaria. El sólido residual se sometió a cromatografía (sílica gel, 1/9 metanol/DCM) para dar el compuesto del título como una espuma blanquecina (2.09 g, 86%). EM (CI) *m/z* 514/516.

7-Cloro-4-hidroxi-2-(5-isoxazolino)metil-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona.

A una solución de ester *tert*-butil de ácido *N'*-[7-cloro-4-hidroxi-2-(pirrolidina-1-carbonil) -quinolina-3-carboxil]-*N'*-isoxazol-5-ilmetil-hidrazina carboxílico (1.0 g, 1.94 mmol) en THF (50 mL) se agregó ácido metanosulfónico (5.2 mL). Después de 18 horas el solvente se removió por evaporación rotaria y el producto se precipitó por adición de agua (100 mL). El sólido se colectó por filtración al vacío y se lavó con agua (2 x 50 mL) luego se secó *in vacuo* (500 mTorr, 30 °C) por 16 horas. El sólido se suspendió en eter dietilo (45 mL) y metanol (5 mL) y se sonicó por 10 minutos. El sólido se colectó por filtración al vacío, se lavó con eter dietilo (2 x 30 mL), y se secó *in vacuo* (500 mTorr, 30 °C) por 18 horas. Esto dió el compuesto del título como un sólido amarillo (0.54 g, 81 %).

33

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 5.27 (s, 2H); 6.44 (s, 1H); 7.45 (dd, 1H, $J_o=8.7$ M, $J_m=1.8$ Hz); 8.03 (d, 1H, $J_m=1.8$ Hz); 8.15 (d, 1H, $J_o=8.7$ Hz); 8.53 (s, 1H, $J_m=1.8$ Hz); 11.99 (s, 1H); 12.82 (s, 1H).
 Calculado para $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{ClN}_4\text{O}_4 \cdot 0.4 \text{ H}_2\text{O}$: C, 51.20; H, 2.81; N, 15.92;
 Encontrado: C, 51.48-51.33; H, 2.79-2.77; N, 15.60-15.57.

Ejemplo 8: 7-Cloro-4-hidroxi-2-pirimidin-2-ilmetil)-1.2.5.10-tetrahidropiridazino[4.5-b]quinolina-1.10-diona.

El compuesto del título se sintetizó por el método del Ejemplo 7 usando 4- clorometilpirimidina, preparado como e descrito por Barnes, J. H., et al *Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther.* 1988, 23, 211-216, como el material de inicio.

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.77 (br s, 1H); 9.12 (d, $J = 1.2$ Hz, 1 H); 8.74 (d, $J = 5.4$ Hz, 1 H); 8.15 (d, $J = 8.4$ Hz, 1 H); 8.05 (d, $J = 1.8$ Hz, 1 H); 7.45 (dd, $J = 2.1, 8.7$ Hz, 1 H); 7.40 (d, $J = 5.1$ Hz, 1 H); 5.20 (s, 2 H).

Ejemplo 9: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(furan-2-ilmetil)-1.2.5.10-tetrahidropiridazino[4.5-b]quinolina-1.10-diona.

N-1-aza-2-(2-furanil)vinil)(terc-butoxi)carboxamida.

A una mezcla en agitación de terc-butilcarbazato (131.5 g, 0.99 mol) en hexano (1000 mL) se agregó 2-furaldehído (91.9 g, 0.95 mol). La mezcla se sometió a reflujo por 2.5 h, y luego se enfrió a temperatura ambiente. El sólido dorado resultante se filtró, se secó y se usó sin purificación adicional en la siguiente reacción (200 g, 99%).

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 1.52 (s, 9H); 6.45 (dd, 1H, $J = 3.3, 1.2$ Hz); 6.71 (d, 1H, $J = 3.3$ Hz); 7.47 (d, 1H, $J = 1.2$ Hz); 7.91 (s, 1H).

(*tert*-Butoxi)-N-[(2-furanilmetil)amino]carboxamida.

Un balón de tres cuellos, fondo redondo, de un litro se equipó con un embudo de adición, una entrada de nitrógeno y un agitador mecánico superior. El aparato se secó *in vacuo* y lavó con un corriente estable de gas nitrógeno. El balón se cargó con hidruro de litio y aluminio (7.75 g, 0.20 mol) y THF (30 mL). N-1-Aza-2-(2-furanil)vinil)(*tert*-butoxi)carboxamida (20 g, 0.095 mol) se disolvió en THF (250 mL) y luego se agregó lentamente a la suspensión de hidruro de litio y aluminio por un período de 30 minutos. Cualquier material residual que quedara en el embudo de adición se lavó en el balón por enjuague con THF (2 x 30 mL). La reacción se agitó durante la noche, se enfrió con un baño de hielo y luego se apagó cuidadosamente con una solución de Na₂SO₄ saturado acuoso. La mezcla resultante se filtró y los sólidos colectados se lavaron con THF. El filtrado combinado y las lavaduras se concentraron en un aceite, que se agitó por 18 horas con hexanos (ca. 600 mL). La mezcla resultante se filtró y el filtrado se concentró para dar el material deseado como un aceite amarillo (10.0 g, 50%).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.46 (s, 9H); 3.99 (d, 2H, J = 4.9 Hz); 4.21 (br s, 1H); 6.17 (br s, 1H); 6.24 (d, 1H, J = 3.0 Hz); 6.32 (dd, 1H, J = 3.0, 1.2 Hz); 7.38 (d, 1H, J = 1.2 Hz).

(+/-)-N-[(*tert*-Butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinil carbonil)(3-hidroquinolil)-N-(2-furanilmetil)carboxamida.

A una mezcla en agitación de ácido 7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil) hidroquinolina-3- carboxílico, Ejemplo 1, (26.99 g, 84.3 mmol) en THF (1300 mL) se agregó di-*iso*-propilcarbodiimida

(13.94 g, 110 mmol) y la reacción se agitó por diez minutos. A esta mezcla se agregó por gotas una solución de (*terc*-butoxi)-N-[(2-furanilmetil)amino] carboxamida (22.9 g, 103 mmol) en THF (200 mL). Después de agitar la reacción por 18 horas, se concentró *in vacuo* en un alquitrán carnemito que se trituró con cloroformo. La mezcla resultante se filtró, se lavó con cloroformo y se secó. Este material se usó sin purificación adicional en la siguiente reacción (masa del material aproximadamente 30 g).

7-Cloro-4-hidroxi-2-(2-furanilmetil)-1,2,5,10-tetrahidro
piridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona.

A una solución en agitación de (+/-)-N-[(*terc*-butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil)(3-hidroquinolil)-N-(2-furanil metil)carboxamida (29.00 g, 56.3 mmol) en THF (1000 mL) se agregó ácido metanosulfónico (118 mL) y la reacción se agitó por 18 horas a temperatura ambiente. La mezcla de reacción se vació en 3 litros de agua helada y la mezcla resultante se filtró para dar un sólido blanquecino. Este material se disolvió en THF caliente (ca. 1 litro) y luego se concentró a medio volumen. La mezcla resultante se vació en agua helada (2 litros) y después de veinte minutos la mezcla se filtró. El material colectado se secó para dar el compuesto del título como un sólido blanco (14.4 g, 74%; p.f. >265 °C).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 5.08 (s, 2H); 6.37 (d, 1H, J = 3.0 Hz); 6.42 (dd, 1H, J = 3.0, 1.5 Hz); 7.43 (d, 1H, J = 7.8 Hz); 7.54 (s, 1H); 8.00 (d, 1H, J = 1.5 Hz); 8.14 (d, 1H, J = 8.7 Hz). Calculado para C₁₆H₁₀ClN₃O₄: C, 55.91; H, 2.93; N, 12.23 Encontrado: C, 56.10; H, 2.98; N, 12.03.

Ejemplo 10: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(furan-3-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona.

N-1-Aza-2-(3-furil)vinil)(*tert*-butoxi)carboxamida.

A una solución de furan-3-carboxaldehído (2.0 g, 21 mmol) en THF (100 mL) se agregó *tert*-butil carbazato (2.8 g, 21 mmol) y HCl conc. (5 gotas). Esta solución se agitó por 6 h y se concentró. El sólido resultante se trituró con hexanos para producir el compuesto del título (4.2 g, 20 mmol, 97%) como un sólido color durazno.

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): 10.77 (br s, 1H); 8.02 (s, 1H); 7.94 (s, 1H); 7.71 (dd, $J = 1.5, 1.5$ Hz, 1H); 6.77 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H); 1.45 (s, 9H).

(*tert*-Butoxi)-N-[(3-furilmetil)amino]carboxamida.

A una solución de N-1-aza-2-(3-furil)vinil)(*tert*-butoxi)carboxamida (2.0 g, 9.5 mmol) en metanol (50 mL) se agregó cianoborohidruro de sodio (3.0 g, 48 mmol) y ácido acético (6 mL). Esta solución se calentó a 65 °C por 1 h. La mezcla luego se enfrió a temperatura ambiente, se apagó con agua y el metanol se removió *in vacuo*. El residuo se tomó en acetato de etilo y se juagó con bicarbonato de sodio saturado, agua y salmuera y luego se secó sobre Na_2SO_4 . Esto se filtró y se concentró y el residuo se purificó por cromatografía en sílica gel (hexanos:acetato de etilo 4:1) para producir el compuesto del título (930 mg, 4.4 mmol, 46%) como un aceite transparente.

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 8.26 (br s, 1H); 7.58 (dd, $J = 1.5, 1.5$ Hz, 1H); 7.53 (s, 1H); 6.42 (d, $J = 1.2$ Hz, 1H); 4.64 (br s, 1H); 3.69 (s, 2H); 1.39 (s, 9H).

21

(*tert*-Butoxi)-N-([7-cloro-4-oxo-2-pirrolidinilcarbonil](3-hidroquinolil))-N-3-(furilmetil)carbonilamino}carboxamida.

A una mezcla en agitación de ácido 7-cloro-4-oxo-2-pirrolidinilcarbonil) hidro quinolina-3- carboxílico, Ejemplo 1, (1.4 g, 4.4 mmol) en THF (25 mL) se agregó CMC (3.7 g, 8.8 mmol). A esta mezcla amarillo canario en agitación se agregó una solución de (*tert*-butoxi)-N-[(3- furilmetil)amino] carboxamida (930 mg, 4.4 mmol) y N,N-dimetilaminopiridina (80 mg, 660 μ mol) en THF (20 mL) con agitación. La mezcla resultante se sometió a reflujo bajo N₂ por 3 h, luego se enfrió y se filtró. El filtrado se concentró para dar una espuma sólida amarilla, que se cromatografió en sílica gel (metanol al 10% -CH₂Cl₂) para producir el compuesto del título (2.1 g, 4.1 mmol, 93%) como un sólido amarillo pálido. Este material se usó directamente en el paso siguiente.

7-Cloro-4-hidroxi-2-(furan-3-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidro piridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona.

A una mezcla de (*tert*-butoxi)-N-[[7-Cloro-4-oxo-2-(pirrolidinil carbonil)(3-hidroquinolil))-N-3-furilmetil) carbonilamino} carboxamida (1.4 g, 2.8 mmol) en THF (30 mL) se agregó una solución de ácido metanosulfónico a temperatura ambiente (7.2 mL, 110 mmol) en THF (25 mL). Esta solución se agitó durante la noche, después de ese tiempo se agregó agua para inducir la precipitación del producto. El sólido se colectó, se jugó con agua y eter dietilo y se sonicó por 15 min en 50 mL de una solución de metanol al 10% en eter dietilo. El sólido resultante amarillo se colectó, se jugó con eter dietilo y se secó a 30 °C y 50 mTorr (6.65 Pa) por 3 h para producir el compuesto del título (750 mg, 2.1 mmol, 75 %) como un sólido amarillo pálido.

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6): δ 12,63 (br s, 1H); 11.91 (s, 1H); 8.13 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); 8.02 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H); 7.65 (s, 1 H); 7.61 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H); 7.43 (dd, $J = 1.8, 8.7$ Hz, 1H); 6.46 (s, 1H) 4.92 (s, 2H).
Calculado por $\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_3\text{O}_4\text{Cl}\cdot 0.1 \text{ H}_2\text{O}$: C, 55.62; H, 2.98; N, 12.16;
Encontrado: C, 55.67; H, 3.15; N, 11.77.

Ejemplo 11: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(tien-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona.

El compuesto del título se sintetizó por el método del Ejemplo 4 usando tiofeno-2-carboxaldehído como el material de inicio.

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.71 (br s, 1H); 11.91 (s, 1H); 8.14 (d, $J = 8.7$ Hz, 1H); 8.02 (s, 1H); 7.42-7.45 (m, 2H); 7.10 (d, $J = 3.0$ Hz, 1 H); 6.98 (dd, $J = 3.6, 5.1$ Hz, 1 H); 5.23 (s, 2H).

Ejemplo 12: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(tien-3-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona.

El compuesto del título se sintetizó por el método del Ejemplo 4 usando tiofeno-3-carboxaldehído como el material de inicio.

RMN ^1H (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.64 (br s, 1 H); 11,92 (br s, 1H); 8.14 (d, $J = 8.7$, 1 H); 8.02 (d, $J = 1.5$ Hz, 1 H); 7.48-7.54 (m, 1 H); 7.43 (dd, $J = 1.2, 8.7$, 1 H); 7.37 (s, 1 H); 7.08 (d, $J = 4.5$ Hz, 1 H); 5.08 (s, 2 H).

Ejemplo 13: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(benzo[b]tien-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona.

Benzo[b]tiopleno-2-carbaldehído.

A una solución de benzo[b]tiofeno (10 g, 74.5 mmol) en THF seco (12 mL) a -78 °C se agregó 65 mL de n-butil litio 1.6M en hexanos. Diez minutos más tarde DMT (23 mL, 298 mmol) se agregó. La reacción se calentó a temperatura ambiente y luego se sometió a reflujo por 3 horas. El THF se evaporó y el residuo se vació en HCl 1 N y hielo. La solución ácida se extrajo con éter dietilo (2x). El extracto de éter combinado se lavó con HCl 1 N (3x), NaHCO₃ saturado (1x), salmuera (1x), y luego se secó con MgSO₄. El MgSO₄ se filtró y el filtrado se concentró en un aceite que se trató con NaHSO₃. El sólido que se formó se colectó, se trató con NaHCO₃ acuoso, luego se extrajo con DCM. La solución DCM se secó sobre MgSO₄ y se evaporaron para dar el compuesto del título como un aceite amarillo (3.2 g, 26% de rendimiento).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 7.44 (dd, 1H, J = 6.9, 7.2 Hz); 7.51 (dd, 1H, J = 6.9, 8.1 Hz); 7.91 (d, 1H, J = 8.1 Hz); 7.95 (d, 1H, J = 7.8 Hz); 8.04 (s, 1H); 10.12 (s, 1H).

(*tert*-Butoxi)-N-(1-aza-2-benzo[b]tien-2-ilvinil)carboxamida.

A una solución en agitación de benzo[b]tiofeno-2-carbaldehído (3.2 g, 19.7 mmol) y *tert*-butilcarbazato (2.6 g, 19.7 mmol) en etanol (20 mL) se agregó 3 gotas de HCl concentrado. Después de 30 minutos la mezcla se filtró, el sólido se lavó con éter dietilo, y se secó *in vacuo* para dar el compuesto del título (3.8 g, 70% de rendimiento).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1.54 (s, 9H); 7.30 - 7.36 (m, 2H); 7.40 (s, 1H); 7.71 - 7.74 (m, 1H); 7.78-7.81 (m, 1H); 7.89 (s, 1H); 8.31 (br s, 1H).

(*tert*-Butoxi)-N-[(benzo[*b*]tien-2-ilmetil)amino]carboxamida.

A una mezcla de (*tert*-butoxi)-N-(1-aza-2-benzo[*b*]tien-2-ilvinil)carboxamida (1.8 g., 6.5 mmol) en THF (6 mL) se agregó cianoborohidruro de sodio (0.75 g, 11.9 mmol). Una solución de ácido *p*-tolueno sulfónico (1.86g, 9.8 mmol) en THF (6 mL) se agregó por gotas. Después de agitar durante la noche, la reacción se diluyó con acetato de etilo y se lavó con saturado NaHCO₃ (1x) y saturado NaCl (1x). La solución de acetato de etilo se secó sobre K₂CO₃. El K₂CO₃ se filtró y el filtrado se concentró bajo presión reducida. El resultante sólido se trató con NaHCO₃ saturado durante la noche y se extrajo con DCM. La solución DCM se secó sobre Na₂SO₄. El Na₂SO₄ se filtró y el filtrado se concentró para dar el compuesto del título como un sólido blanco (1.7 g, 76% de rendimiento).

RMN ¹H (300 MHz, CDCl₃): δ 1.44 (s, 9H); 4.68 (s, 2H); 7.36 - 7.45 (m, 2H); 7.45 (s, 1H); 7.78 - 7.86 (m, 2H).

Ester *tert*-butil de ácido N'-Benzo[*b*]tien-2-ilmetil-N'-17-clor-4-oxo-2-(pirrolidina-1-carbonil)-1,4-dihidroquinolina-3-carbonil]hidrazina carboxílico.

A una mezcla en agitación de ácido 7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil) hidroquinolina-3- carboxílico, Ejemplo 1, (1.59 g, 5.0 mmol) y THF seco (60 mL) bajo nitrógeno se agregó CMC (3.19 g, 7.0 mmol). Esto seguido por una solución de (*tert*-butoxi)-N-[(benzo[*b*]tien-2-il metil)amino]carboxamida (1.37 g, 5.0 mmol) y dimetilaminopiridina (27.8 mg, 0.21 mmol) en THF (15 mL). La reacción se calentó a reflujo durante la noche y la mezcla se filtró. El filtrado concentrado se purificó

41

por cromatografía (MeOH/CH₂Cl₂, 5/95, v/v) para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (771 mg, 24% de rendimiento).

7-Cloro-4-hidroxi-2-(benzo[b]tien-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona.

A una mezcla en agitación de ester *terc*-butil de ácido N'-benzo[b]tien-2-ilmetil-N'-[7-clor-4-oxo-2-(pirrolidina-1-carbonil)-1,4-dihidroquinolina-3-carbonil] hidrazinacarboxílico (760 mg, 1.3 mmol) y THF seco (16 mL) a 0 °C bajo nitrógeno se agregó ácido metanosulfónico (3.0 mL, 4.44 g, 46.2 mmol). Después de agitar durante la noche, el THF se evaporó y el residuo se enfrió en un baño de hielo. Se agregó agua y el precipitado resultante se colectó, se sonicó con metanol, y se secó *in vacuo* para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (470 mg, 88% de rendimiento), p.f. > 300 °C.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 5.38 (s, 2H); 7.30 - 7.38 (m, 2H); 7.40 (s, 1H); 7.44 (d, 1H, J = 8.7 Hz); 7.90 (d, 1H, J = 7.2 Hz); 7.82 (d, 1H, 7.2 Hz); 8.06 (s, 1H); 8.15 (d, 1H, J = 8.7 Hz). Calculado para C₂₀H₁₂ClN₃O₃S: C, 58.61; H, 2.95; N, 10.25. Encontrado: C, 58.42; H, 3.19; N, 10.20.

Ejemplo 14: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(1,3-tiazol-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona.

(terc-Butoxi)-N-[(1,3-tiazol-2-il metil)amino]carboxamida.

A una solución en agitación de tiazol-2-carbaldehído (0.95 g, 8.42 mmol) y *terc*-butilcarbazato (1.17 g, 8.87 mmol) en etanol (15 mL) se agregó 1.10 mL de ácido acético glacial, seguido por

cianoborohidruro de sodio (2.18 g, 34.7 mmol). La mezcla de reacción se calentó a 50 °C y se agitó por 72 horas. La reacción se apagó con NaOH 2 N (30 mL) y la solución resultante se extrajo con acetato de etilo (3 x 30 mL). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con salmuera (40 mL), luego se secaron sobre Na₂SO₄. El Na₂SO₄ se filtró y el filtrado se purificó por cromatografía (acetato de etilo:DCM, 25:75, v:v) en sílica gel para dar el compuesto del título, (0.62 g, 32% de rendimiento) como un sólido blanquecino.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.38 (s, 9H); 4.15 (d, 2H, J = 3.9 Hz); 5.34 (d, 1H, J = 3.9 Hz); 7.63 (d, 1H, J = 3.3 Hz); 7.70 (d, 1H, J = 3.3 Hz); 8.42 (br s, 1H).

N-[(*terc*-Butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-pirrolidinil carbonil](hidroquinolil)-N-(1,3-tiazol-2-ilmetil)carboxamida.

A una mezcla en agitación de ácido 7-cloro-4-oxo-2-pirrolidinilcarbonil) hidroquinolina-3- carboxílico, Ejemplo 1, (0.90 g, 2.80 mmol) y THF seco (60 mL) bajo nitrógeno se agregó CMC (1.45 g, 3.42 mmol). Esto seguido por una solución de (*terc*-butoxi)-N-[(1,3-tiazol-2-ilmetil)amino] carboxamida (0.5 g, 2.20 mmol) y dimetilamino piridina (79.1 mg, 0.65 mmol) en THF (15 mL). La reacción se calentó a reflujo durante la noche y, después de enfriar, la mezcla de reacción se filtró. El filtrado concentrado se purificó por cromatografía (MeOH:CH₂Cl₂, 5:95, v:v) por sílica gel para dar el compuesto del título como un sólido amarillo (0.97 g, 83% de rendimiento).

7-Cloro-4-hidroxi-2-(1,3-tiazol-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona.

A una mezcla en agitación de N-[(*tert*-butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-(pirrolidinilcarbonil)(3-hidroquinolil)]-N-(1,3-tiazol-2-ilmetil)carboxamida (760 mg, 1.3 mmol) y THF seco (40 mL) a 0 °C bajo nitrógeno se agregó ácido metanosulfónico (5.4 mL, 7.99 g, 83.2 mmol). Después de agitar durante la noche, el THF se evaporó y el residuo se enfrió en un baño de hielo. Se agregó agua y el precipitado resultante se colectó, se sonicó con metanol. El sólido se colectó por filtración por succión y se secó *in vacuo* para dar el compuesto del título como un sólido blanquecino (648 mg, 78% de rendimiento), *mp* > 300 °C.

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 5.38 (s, 2H); 7.45 (d, 1H, *J* = 8.7 Hz); 7.70 (d, 1H, *J* = 3.3); 7.76 (d, 1H, *J* = 3.3 Hz); 8.04 (s, 1H); 8.15 (d, 1H, 8.7 Hz), Calculado para C₁₅H₁₀ClN₄O₃S•H₂O•H₃CSO₃H: C, 40.38; H, 3.39; N, 11.77. Encontrado: C, 40.63; H, 2.98, N, 11.39.

Ejemplo 15: 7-Cloro-4-hidroxi-2-(imidazol-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona.

N-(1-Aza-2-imidazol-2-ilvinil)(*tert*-butoxi)carboxamida.

2-Imidazolcarboxaldehído (10.2 g, 106 mmol) se disolvió en THF. A esto se agregó *tert*-butilcarbazato, seguido por dos gotas de ácido clorhídrico concentrado. La reacción se agitó durante la noche, se concentró y se trituró con hexanos para dar el compuesto del título como un sólido blanco (22 g, 99%).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 1.47 (s, 9H); 7.08 (s, 2H); 7.92 (s, 1H); 10.93 (br s, 1H); 12.58 (br s, 1H).

(*tert*-Butoxi)-N-[(imidazol-2-ilmetil)amino]carboxamida.

Una mezcla de paladio sobre carbono al 10% (0.50 g) y N-(1-aza-2-imidazol-2-ilvinil)(*terc*-butoxi)carboxamida (3.0 g, 14.0 mmol) en metanol (40 mL) y ácido clorhídrico concentrado (1.15 mL, 14.0 mmol) se hidrogenó (40 psi = 275.792 Pa) a temperatura ambiente por 18 horas. La reacción se filtró a través de tierra diatomácea y el filtrado se evaporaron bajo presión reducida para dar un aceite. El aceite se neutralizó por adición de hidróxido de sodio (5 N, 2.8 mL) y luego se diluyó con acetato de etilo (80 mL). La capa de acetato de etilo se lavó con agua (1 x 20 mL) y cloruro de sodio (sat. acuoso, 1 x 20 mL) y luego se secó sobre Na₂SO₄. El acetato de etilo se removió para dar el compuesto del título como un aceite (2.42 g, 80%).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-d₆): δ 1.36 (s, 9H); 3.84 (d, 2H, J = 4.2 Hz); 4.82 (br s, 1H); 6.91 (s, 2H); 8.25 (br s, 1H); 11.84 (br s, 1H).

N-[(*terc*-Butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2-(pirolidinil carbonil)(3-hidroquinolil)-N-(imidazol-2-ilmetil)carboxamida.

Una mezcla de ácido 7-cloro-4-oxo-2-(pirolidinilcarbonil) hidro quinolina-3- carboxílico, Ejemplo 1, (2.42 g, 7.54 mmol), (*terc*-butoxi)-N-[(imidazol-2-ilmetil)amino]carboxamida (2.0 g, 9.43 mmol), y CMC (4.14 g, 9.80 mmol) en THF (50 mL, seco) se sometió a reflujo por 18 horas. La reacción se filtró y los sólidos se colectaron. Los sólidos se lavaron con agua y luego con eter dietilo. Este material se secó *in vacuo* para dar el compuesto del título como un sólido blanco (1.0 g, 25%).

7-Cloro-4-hidroxi-2-(imidazol-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidro piridazino[4, b]quinolina-1,10-diona.

45

A una solución en agitación de N-[(*terc*-butoxi)carbonilamino][7-cloro-4-oxo-2- (pirrolidinilcarbonil)(3-hidroquinolil)-N-(imidazol-2-ilmetil) carboxamida (1.0 g, 1.94 mmol) en THF (30 mL) se agregó ácido metanosulfónico (5 mL) y la reacción se agitó durante la noche. Los volátiles se removieron *in vacuo* y al aceite residual se agregó eter dietilo (200 mL). La mezcla se agitó por 10 minutos y luego se dejó separar en dos capas, una capa de eter y una capa de aceite carnalito. El eter se decantó y al aceite carnalito se agregó agua (5 mL). Después de un tiempo corto, se formó un precipitado y se colectó por filtración al vacío . El precipitado se lavó con eter dietilo (3 x 20 mL) y luego se sonicó en 20 mL de eter dietilo/ alcohol metílico 10/1 por quince minutos. El material se filtró, se lavó con eter dietilo y se secó *in vacuo* para dar el compuesto del título (0.24 g, 25%).

RMN ¹H (300 MHz, DMSO-*d*₆): δ 2.31 (CH₃SO₃H); 5.41 (s, 2H); 7.42 (d, 1H, J = 8.7 Hz); 7.67 (s, 2H); 7.99 (s, 1H); 8.15 (d, 1H, J = 8.7 Hz); 12.7 (br s, 1H); 11.98 (br s); 12.93 (br s, 1H); 14.28 (br s, 1H).
Calculado para C₁₅H₁₀ClN₄O₃•1.6CH₃SO₃H: C, 40.08; H, 3.32; N, 14.08; Encontrado: C, 40.37; H, 3.12; N, 14.34.

Pruebas de Función Biológica

Prueba A: Inhibición de enlace de [³H]-MDL105,519:

El enlace de los compuestos en el sitio glicina del receptor NMDA puede evaluarse midiendo la capacidad de los compuestos de prueba para inhibir el enlace del MDL105,519 titulado a las membranas de cerebro que lleven el receptor.

Membranas de Cerebro de Rata: Se usaron membranas de cerebro de rata en los experimentos que se obtuvieron en Analytical Biological Services Inc., y se prepararon substancialmente de acuerdo con el método de B.M. Baron *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 250,162

(1989). Brevemente, se homogenizó tejido de cerebro fresco incluyendo corteza cerebral e hipocampo de ratas macho Sprague Dawley en sucrosa 0.32 M y se centrifugó a baja velocidad para separar las membranas celulares de los otros componentes celulares. Las membranas luego se lavaron 3 veces usando agua desionizada, seguido por tratamiento con 0.04% Triton X-100. Finalmente las membranas se lavaron seis veces en bufer Tris citrato 50 mM, pH 7.4, y se congelaron a -80 °C hasta que se usaron.

[³H]MDL105,519 (72 Ci/mmol) se compró en Amersham. MDL105,519 frío se compró en Sigma/RBI. Los ensayos de enlace se realizaron substancialmente de acuerdo con el protocolo de B.M. Baron *et al.*, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 279, 62 (1996), como sigue. En el día del experimento, las membranas de cerebro se descongelaron a temperatura ambiente y se suspendieron en bufer tris acetato 50 mM, pH 7.4 ("TAB"). Se usaron setenta y cinco micro gramos por mililitro de proteína (usando el colorante BioRad) para el enlace de competición. Los experimentos se realizaron usando placas de 96 pozos. Las membranas se incubaron con 20 µL de compuestos de varias concentraciones y [³H]MDL105,519 1.2 nM por 30 minutos a temperatura ambiente en un volumen total de 250 µL. Se determinó enlace no específico usando 100 µM de MDL105,519 no marcado. El MDL105,519 no marcado y los compuestos se disolvieron como soluciones patrones 12.5 mM en DMSO. La concentración final de DMSO en cada pozo se mantuvo por debajo de 1 %, concentración que se encontró que no alteraba los resultados de enlace. Después de la incubación, el [³H]MDL105,519 no enlazado se removió por filtración sobre placas GF/B Unifilter usando un colector Packard. Los filtros se lavaron cuatro veces con TAB helado (total de 2 mL de bufer). Las placas se secaron durante la noche a temperatura ambiente y se midió la radioactividad enlazada en un Packard TopCount después de la adición de 45 µL por pozo del MICROSCINT O.

Membranas de Cerebro Humano: Se obtuvieron membranas de Cerebro Humano en Analytical Biological Services Inc., y se realizaron ensayos como se describen para las membranas de rata.

Análisis de los Datos: Los datos se analizaron usando una hoja de cálculo Microsoft Excel y el software GraphPad Prism y la potencia de los compuestos se expresó como el K_i (nM).

Prueba B: Prueba Formalina:

La prueba Formalina evalúa los efectos inhibitorios de los compuestos administrados oralmente en comportamientos nociceptivos inducidos por la formalina en ratas (D. Dubuisson, *et al.*, *Dolor* 4, 161-174 (1977) H. Wheeler-Aceto *et al.*, *Psychopharmacology* 104, 35-44 (1991); T.J.Coderre, *et al.*, *Dolor* 54, 43-50 (1993)). En la prueba se detectaron dos fases distintas de comportamientos inducidos por la formalina. Una respuesta en la primera fase, causada por nocicepción aguda al químico nocivo (formalina) inyectado en la pata, ocurre entre cero y cinco minutos. Sigue un período de descanso de 5 a 15 min post inyección. Después del período de descanso ocurre una segunda fase de respuesta, causada por sensibilización de las neuronas centrales en la prominencia dorsal, después de 15 minutos y dura hasta 60 minutos. La sensibilización central aumenta la señal nerviosa nociva causando una barrera de dolor más fuerte a ser transmitido al cerebro. La inhibición de la respuesta de la segunda fase indica un mecanismo espinal de la acción del medicamento.

El procedimiento para la prueba de la formalina es como sigue: se colocan ratas macho en una cámara de plexiglass y se observan por 30-45 min. para observar la actividad en la línea de base. Se pre-tratan múltiples grupos de animales con cualquier vehículo o dosis diferentes de un compuesto de prueba. Los animales se dosifican 3 horas antes de la inyección de formalina en una pata trasera (bajo la piel dorsal)

con 0.05 mL de formalina estéril al 1%. El número de retracciones de la pata (respuestas) durante la primera fase (0-5 min.) y la segunda fase (20-35 min.) son medidas y registradas. La respuesta de reacción se calcula como el porcentaje de inhibición comparado con el puntuación promedio de un grupo control salino. La ED₅₀ es la dosis del compuesto que produce 50% de inhibición de respuesta nociceptiva.

% de inhibición de respuesta nociceptiva = 100 x
(número de respuestas en el grupo vehículo - número de respuestas en el grupo del compuesto) / (número de respuestas en el grupo vehículo)

Se usó la prueba t de Student para el análisis estadístico para determinar la significancia de los efectos del compuesto. Los compuestos son considerados activos con base en su capacidad para inhibir las respuestas de reacción.

Prueba C: Modelo de Dolor Neuropático (Lesión Crónica por Constricción):

La prueba de Lesión Crónica por Constricción ("CCI") modela el dolor neuropático asociado con lesiones nerviosas que pueden surgir directamente por trauma y compresión, o indirectamente en un amplio rango de enfermedades tales como infección, cáncer, condiciones metabólicas, toxinas, deficiencias nutricionales, disfunción inmunológica, y cambios musculoesqueléticos. En el modelo se produce una hiperalgesia periférica unilateral en las ratas por ligación nerviosa (G.J. Bennett, *et al. Dolor* 33, 87-107 (1988)).

Según el procedimiento, las ratas Sprague-Dawley (250-350 g) son anestesiadas con pentobarbital de sodio y se expone el nervio ciático al nivel del muslo medio por disección directa a través del biceps

femoris. Una sección del nervio (aproximadamente 7 mm), próxima a la trifurcación siática, es liberada del tejido y ligada a cuatro posiciones con sutura tipo gut crómica. La sutura es atada con aproximadamente 1 mm de espacio entre las ligaduras. La incisión es cerrada en capas y los animales se dejan recuperar. Se mide la hiperalgesia térmica usando una prueba de retiro de la pata (K. Hargreaves, *et al.*, *Dolor* 32, 77-88 (1988)). Para realizar la prueba, los animales son habituados a un piso elevado de vidrio. Una fuente de calor radiante es dirigida a la región plantar media de la pata trasera (territorio del nervio ciático) a través del piso de vidrio con un corte de 20 segundos, usado así para prevenir heridas en la piel. Se registran las latencias para el reflejo de retiro en ambas patas traseras.

Las patas lesionadas con nervios ligados muestran latencias de retiro de la pata más cortas comparadas con la no lesionada o las patas operadas simuladas. La respuesta a los compuestos de prueba es evaluada a tiempos diferentes después de la administración oral para determinar el inicio y duración del efecto del compuesto. Se practican estudios de dosis de respuesta con múltiples grupos de ratas CCI dosificadas oralmente con cualquier vehículo o con el compuesto de prueba tres veces diarias con cualquier vehículo o el compuesto de prueba por 5 días. Las latencias de retiro de la pata se miden cada día, 10 min antes y 2 o 3 hr después de la primera dosis diaria. La eficacia del compuesto se expresa como el porcentaje promedio de disminución de la hiperalgesia comparado con los animales tratados con el vehículo, calculado como sigue:

$$\frac{(\text{Media del grupo vehículo} - \text{Media del grupo compuesto}) \times 100}{(\text{Media del grupo vehículo})}$$

El análisis de los datos se realizó por múltiples medios de comparación (prueba de Dunnett) y los resultados y las potencias del compuesto son expresadas como la MED (dosis mínima efectiva) en mg/Kg/día, que produce un porcentaje de disminución (%) en la hiperalgesia que sea estadísticamente significativo.

La Tabla 1 muestra los resultados de las Pruebas A, B y C para ciertos compuestos de la invención. Cuando no se presentan datos en la tabla, fue porque la prueba no se realizó.

Tabla 1

	Prueba A KI (nM)	Prueba B Primera Fase Dosis (%Inh.)	Prueba B Segunda fase Dosis (%Inh.)	Prueba C MED (%Inh.)
Ex.1	79	70 (52%)	70 (57%)	30 (71%)
Ex.2	99	200 (74%)	200 (71%)	30 (59%)
Ex.3	146	200 (56%)	200 (46%)	30 (31%)
Ex.4	44			30 (44%)
Ex.5	371			
Ex.6	189			30 (64%)
Ex.7	39			15 (49%)
Ex.8	513			
Ex.9	61	200(56%)	200 (46%)	15 (77%)
Ex.10	24			30 (41%)
Ex.11	29			15 (-17%)
Ex.12	34			15 (17%)
Ex.13	56			15 (1%)
Ex.14	128			30 (26%)
Ex.15	103			

OTRO! Los comp. de reiv. 5 no corresponden a la fórmula I de la reiv. 1.

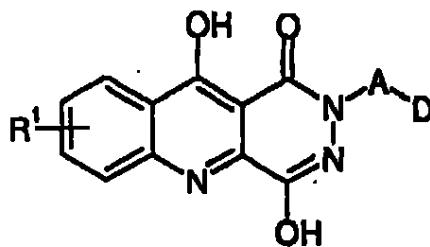
~~54~~

54

51

REIVINDICACIONES

1. Una composición farmacéutica que comprende una cantidad efectiva para mejorar el dolor de un compuesto de acuerdo con el diagrama estructural I, junto con un excipiente o diluyente farmacéuticamente aceptable;



I

donde:

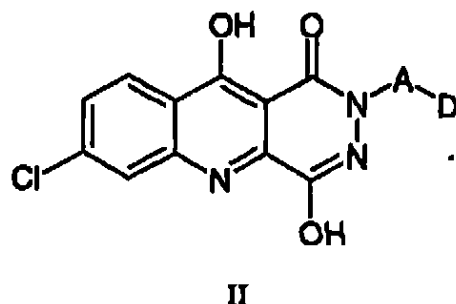
A es $(CH_2)_n$ donde n tiene un valor seleccionado entre 0, 1, 2, 3 o 4, y

D es seleccionado entre una porción heteroaril de 5- o 6- miembros o un derivado benc- del mismo, que tiene 1, 2 o 3 átomos del anillo seleccionados entre oxígeno, nitrógeno o azufre, y

R¹ es halo.

2. Una composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 1, donde D en dicho compuesto de acuerdo con el diagrama estructural I es seleccionado entre piridil, quinolil, pirazinil, piradizinil, furanil, benz[b]furanil, imidazolil, oxazolil, tienil, benz[b]tienil y tiazolil.

3. Una composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 1, que comprende un compuesto de acuerdo con el diagrama estructural II:



donde A y D son como se definieron en la Reivindicación 1.

4. Una composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 3, donde D en dicho compuesto de acuerdo con el diagrama estructural II es seleccionado entre piridil, quinolil, pirazinil, piradizinil, furanil, benz[b]furanil, imidazolil, oxazolil, tienil, benz[b]tienil y tiazolil.

5. Una composición farmacéutica de acuerdo con la Reivindicación 1, donde dicho compuesto es seleccionado entre:

7-Cloro-4-hidroxi-2-(4-piridilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino [4,5-b]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-(3-piridilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino [4,5-b]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-(2-piridilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino [4,5-b]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-benzo[d]furan-2-ilmetil-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-b]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-(quinolin-4-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-dimetilcarbamoil-2-piridin-4-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-(pirazin-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-(5-isoxazolino)metil-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-(pirimidin-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-(furan-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-(3-furilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-(tien-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-(tien-3-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-(benzo[*d*]tien-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona;

7-Cloro-4-hidroxi-2-(1,3-tiazol-2-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona; y

7-Cloro-4-hidroxi-2-(imidazol-3-ilmetil)-1,2,5,10-tetrahidropiridazino[4,5-*b*]quinolina-1,10-diona.

Folios 58 y 59.
tarjetas
Q

REQUISITOS MINIMOS PARA ADMISION A TRAMITE

PATENTE DE INVENCION ☒

MODELO DE UTILIDAD ☐

- Indicación de que se solicita la concesión de una patente (1) ☒
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud (1) ☒
- Descripción de la invención (1) ☒
- Dibujos de ser estos pertinentes (1) ☒
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas (1) ☒

COMPLETA ☒

INCOMPLETA ☐

DISEÑO INDUSTRIAL ☐

- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial. ☐
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. ☐
- Representación gráfica y fotográfica del Diseño Industrial o muestra del material que incorpora el diseño. ☐
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐

ESQUEMA DE TRAZADO ☐

- Indicación de que se solicita el registro de un Esquema de trazado. ☐
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud. ☐
- Representación gráfica del esquema de trazado ☐
- Comprobante de pago de las tasas establecidas. ☐

COMPLETA ☐

INCOMPLETA ☐


Firma Responsable

SUPERINTENDENCIA Y COMERCIO

Radicación : 00097101 00000000
Fecha (RIB): 2000-12-21 15:50:53

Folios: 59

Trámite : 002 PATENTES D 1 REGISTRO/ 411 PRESENTAC
Dependencia: 2020 DIVISION DE NUEVAS CREACIONES

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Conmutador: 334 12 21-2-3-4
Fax: 281 31 25 e-mail: info@sic.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia

2020
Bogotá, D.C.

Doctor
JOSE ANTONIO LLOREDA

REFERENCIA:	Radicación No.	00-97101
	Trámite	002
	Evento	001
	Actuación	430
	Oficio No.	0885
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le comunica que:

- Debe allegar el documento que acredita la representación, debidamente otorgado, a quien adelanta la actuación administrativa. Adicionalmente, deberá presentar el certificado de existencia y representación legal de la sociedad solicitante.

- Debe allegar copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente otorgado por el inventor al solicitante o a su causante (art. 26-k, Dec 486/2000).

* Debe aclararse la fecha de la prioridad No. 60/171.906, debido a que la declarada con la solicitud es posterior a la fecha de presentación de ésta última.

En cumplimiento del artículo 39 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, se le requiere para que dentro del término de dos (2) meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el artículo 8 de la Resolución Reglamentaria No. 210 del 15 de enero del 2001.


ALIX CARMENZA CÉSPEDES DE VERGEL
Jefe de la División de Nuevas Creaciones

29 MAR, 2001

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha _____.

Se recuerda al interesado que debe presentar, dentro de los dieciséis meses siguientes contados a partir de la fecha de presentación de las solicitudes cuya prioridad se invoca, copia de las mismas certificadas por la autoridad que las expidió y, en los casos en que haya lugar, la traducción simple del capítulo reivindicatorio. El incumplimiento de este plazo, acarreará la pérdida de la prioridad invocada.

202027/202022

Carrera 13 No. 27-00 Pisos 5, 7 y 10
Conmutador: 382 0840
Fax: 382 2695
E-mail: Info@slc.gov.co
Bogotá, D.C., Colombia